



LATVIJAS UNIVERSITĀTE
FIZIKAS UN MATEMĀTIKAS FAKULTĀTE

Kaspars Ērglis

Lokanu magnētisku stīgu īpašību un kustības
eksperimentāli pētījumi

Disertācija

Zinātniskā darba vadītājs: Andrejs Cēbers, Dr.habil.phys., prof.

Rīga, 2010

Saturs

Ievads	3
1. Literatūras apskats	5
1.1. Magnētiskie koloīdi un to īpašības	6
1.2. Magnētiskās stīgas	10
1.3. Magnetotaktiskās baktērijas	12
1.4. Lāzerpincete	15
1.5. Magnētisko stīgu iespējas mikroreoloģijā	19
2. Materiāli un eksperimentālais aprīkojums	21
2.1. Magnētisko stīgu sintēzes paņēmieni	22
2.2. Magnētiskā lauka iegūšana un mikroskops	29
3. Eksperimentu rezultāti un analīze	39
3.1. Superparamagnētisku stīgu liekuma noteikšana, to liekums atkarī- bā no jonu spēka	40
3.2. Feromagnētisku stīgu īpašības ārējā magnētiskajā laukā	46
3.2.1. Feromagnētisko stīgu nestabilitāte pēc straujas ārējā lauka virziena maiņas	48
3.2.2. Feromagnētiskas stīgas mainīgā magnētiskajā laukā	51
3.3. Magnetotaktisko baktēriju kustība ārējā magnētiskajā laukā	54
3.3.1. Nekustīgas baktērijas rotējošā laukā	59
3.3.2. Kustīgas baktērijas rotējošā laukā	63
3.4. Bakteriofāga Pf1 gela viskoelastīgās īpašības	68
3.5. Lokans magnētisks peldētājs	78
3.5.1. Superparamagnētisks peldētājs	78
3.5.2. Feromagnētisks peldētājs	82
Kopsavilkums un secinājumi	86

Izmantotā literatūra	88
Pateicības	96
Pielikums	97

Ievads

Pagājušā gadsimta otrajā pusē ar vien plašāku interesi guva šķidru magnētisku materiālu fizika. Feromagnētisku daļiņu suspensijas ir guvušas plašu pielietojumu automobiļu bremžu un transmisijas sistēmās. Ferrofluīdi, kas ir feromagnētisku nanodaļiņu koloīds, tiek izmantoti blīvju radīšanai, skaļruņu spoļu dzesēšanai, kā arī biomedicīnā. Mūsdienās arvien lielāku interesi izsauc dažādi mīksti materiāli, kuri ir radīti uz magnētisku nanodaļiņu bāzes un kuriem ir dažādas pielietošanas iespējas gan tehnikā, gan biomedicīnā. Šī iemesla dēļ pētījumu intensitāte mīkstu magnētisku materiālu jomā strauji pieaug.

Pasaules vadošajās laboratorijās tiek meklēti risinājumi, kā uzbūvēt mikroskopiskus robotus [1], kas varētu veikt medicīniska rakstura uzdevumus, piemēram, labot asinsvadus vai novadīt ārstniecībai nepieciešamās zāles tieši ārstējamajā vietā, tādā veidā pasargājot parējās šūnas no zāļu iedarbības. Šādi roboti varētu izpildīt arī citus tehniskus uzdevumus, kur nepieciešama iedarbība uz materiāliem tik mazā mērogā, kas var sasniegt pat molekulu izmērus. Enerģiju mikroskopiskās ierīces var saņemt gan pa tiešo ķīmisku reakciju veidā ar apkārtējo vidi, gan no ārpusē - ar ārējā magnētiskā vai elektriskā lauka palīdzību. Protams, šos enerģijas avotus ir iespējams kombinēt, piemēram, kustībai nepieciešamo enerģiju iegūt no apkārtējās vides, bet stūrēšanu veikt ar ārējo magnētisko lauku. Jau eksistē metodes kā pie šūnas virsmas piestiprināta mikroskopiska magnētiska daļiņa atkarībā no uzliktā ārējā magnētiskā lauka var iedarboties uz šūnas apvalka receptoriem vai aktivēt šūnas jonu kanālus [2]. Dotās metodes ir spēcīgi instrumenti šūnu funkciju un šūnu molekulāro signālu pētniecībā.

Darbā tiek meklēti risinājumi kā izgatavot noteiktus mikroskopiskus objektus un darboties ar tiem. Objekti ir izgatavoti no magnētiskām daļiņām un uz tiem var iedarboties ar ārēju magnētisko lauku. Pamata izejviela šiem materiāliem ir superparamagnētiskas un feromagnētiskas mikrodaļiņas, no kurām ir izveidotas lokanas magnētiskas stīgas. Darba galvenais uzdevums bija izpētīt, no magnētiskām daļiņām iegūtu stīgu kustību ārējā magnētiskajā laukā, un salīdzināt to ar

teorētiski izveidotajiem modeļiem.

Dzīvajā dabā jau ir sastopamas līdzīgas magnētiskas stīgas jeb filamenti, kas atrodami magnetotaktiskajās baktērijās, bet to izmēri ir daudz mazāki nekā mākslīgi iegūtajām stīgām. Tāpēc tika pētīta šādu baktēriju uzvedība rotējošā un mainīgā magnētiskajā laukā. Darbā pētītās parādības var tikt tālāk attīstītas un izmantotas jaunu tehnoloģiju radīšanai vai papildināšanai.

Uzsākot darbu tika izvirzīti sekojoši darba uzdevumi:

- Izstrādāt metodi magnētisko stīgu iegūšanai;
- Izveidot eksperimentālās iekārtas magnētisko stīgu pētīšanai;
- Izmantojot magnētiskās stīgas, izgatavot mikroskopisku pašdzenošu ierīci, jeb mākslīgu peldētāju;
- Izmantojot lāzerpinceti, noteikt peldētāja parametrus.

Apkopojot darba veikšanas laikā radušos papildus jautājumus var formulēt sekojošu vispārīgāku problēmas nostādni:

- Magnētiskās stīgas - ar ārēju magnētisko lauku lauku deformējams elastīgs objekts;
- Magnētiskās stīgas kā mikrosensori (magnētiskais lauks, liekuma atkarība no vides īpašībām, mikroreoloģija);
- Magnētiskās stīgas kā instruments (pašdzenoši mehānismi, maisītāji u.c.);
- Magnētiskās stīgas dzīvajā dabā, piemēram, magnetotaktiskajās baktērijās;
- Magnētiskās stīgas un to teorētiskie modeļi (relaksācija, pagriešanās perpendikulāri mainīgam magnētiskajam laukam).

Dotā darba ietvaros pirmo reizi tika sintezētas feromagnētiskas stīgas, to eksperimentāli pētījumi gan apstiprināja jau eksistējošus teorētiskus modeļus, gan lika izveidot jaunus modeļus, kas vairāk atbilstu eksperimentālajiem novērojumiem.

Darba pirmajā nodaļā ir īss literatūras apskats, otrajā nodaļā - izmantoto metožu un instrumentu apraksts, trešajā nodaļā - īstenoto eksperimentu apraksti un iegūto rezultātu analīze. Pielikumā pievienotas paštaisīto ierīču shēmas un eksperimentu vadības programmu kodi. Promocijas darba ietvaros ir publicēti pieci zinātniskie raksti un vairāk kā desmit konferenču tēzes.

1. nodaļa

Literatūras apskats

1.1. Magnētiskie koloīdi un to īpašības

Magnētiskie koloīdi tiek izmantoti superparamagnētisku mikrodaļiņu sintēzei, šī iemesla dēļ zemāk tiks sniegts to īss raksturojums. Magnētiskajiem koloīdiem piemīt virkne interesantu īpašību [3] - virsmas nestabilitāte izpaužas kā pīķu veidošanās, ja tai perpendikulāri ir uzlikts pietiekami stiprs magnētiskais lauks; slānīti starp diviem stikliņiem, ja tam perpendikulāri ir uzlikts ārējais magnētiskais lauks notiek labirintstruktūru veidošanās [4, 5]; iespējama arī konvekcijas nestabilitāte, kur siltumenerģiju iespējams pārvērst mehāniskajā enerģijā. Novērojamas ir arī parādības, kas saistītas ar sakārtošanās procesiem magnētisko caurumu sistēmā [6]. Par magnētiskajiem caurumiem sauc magnētiskajā šķidrumā esošus nemagnētiskus ieslēgumus, kas magnētiskā lauka iedarbībā uzvedas, it kā tiem piemistu pašiem savs magnētiskais moments, kas vērsts pretēji uzliktajam laukam. Parādības, kur novērojama rotējoša ārēja magnētiskā lauka iedarbība uz magnētiskajiem caurumiem ir aprakstītas darbos [7, 8]. Magnētiskajos koloīdos ir novērojamas arī optiskās un termo-optiskās parādības, piemēram, gaisma var atgriezeniski inducēt magnētisko klasteru veidošanos magnētiskajos koloīdos [9]. Vai arī lāzera gaismas iedarbībā izsauktās blīvuma izmaiņas ferrofluīdā izveido termiskās lēcas [10, 11]. Magnētiskajiem koloīdiem ir novērojama īpašība mainīt viskozitāti atkarībā no uzliktā magnētiskā lauka [12]. Ja uz magnētisko koloīdu darbojas ārējs rotējošs magnētiskais lauks, tad mikroskopiskā daļiņu rotācijas kustība var tikt pārnests uz makroskopiskiem mērogiem caur spriegumiem, kas rodas uz ferrofluīda brīvās virsmas [13]. Dotā parādība labi novērojama sistēmā, kas sastāv no diviem koaksiāliem cilindriem, kur starp ārējo nekustīgo cilindru un iekšējo, uz kustīgas ass nostiprināto cilindru, ir ievietots magnētiskais šķidrums [14].

Viens no koloidālas sistēmas pamatnosacījumiem ir, ka tajās esošās daļiņas nenosēžas gravitācijas spēka iedarbībā, vai arī šī nosēšanās ir ļoti lēna. Lai izpildītos šis nosacījums, nepieciešams, lai daļiņu siltumkustības ātrums būtu lielāks par nosēšanās ātrumu, ko nosaka Stoksa formula. Tādā veidā ir iespējams noteikt daļiņu izmēru augšējo robežu

$$d \leq \left(\frac{\eta^2 k_B T}{\rho_s (\Delta\rho)^2 g^2} \right)^{1/7}, \quad (1.1)$$

kur $\Delta\rho = \rho_s - \rho_f$ - cietās un šķidrās fāzes blīvumu starpība [15]. Atkarībā no šķidrums viskozitātes, šī formula dod $d_{max} \sim 10^{-3} - 10^{-4}$ cm. Kopumā ņemot,

stabilos koloīdos daļiņu izmērs ir robežās no 10^{-7} līdz 10^{-4} cm.

Termodinamiskā līdzsvarā esošu daļiņu sadalījums pēc augstuma ir pakļauts barometriskajam likumam:

$$n(z) \sim e^{-\frac{\Delta\rho Vgz}{k_B T}}, \quad (1.2)$$

kur V - daļiņas tilpums. Attiecīgi slānītis ar augstumu h , kurā var neievērot koncentrācijas gradientu ir ierobežots:

$$h < \frac{k_B T}{\Delta\rho Vg}. \quad (1.3)$$

20 nm lielām daļiņām istabas temperatūrā ar blīvumu starpību 10 g/cm^3 slāniša biezums h nepārsniedz 1 cm, taču mazākām 5 nm daļiņām, slāniša biezums, kurā var neievērot koncentrācijas gradientu sasniedz 62 cm.

Ja magnētiskas daļiņas ievieto nehomogēnā ārējā magnētiskajā laukā, tad uz daļiņām darbojas šī ārējā lauka gradienta spēks. Var novērtēt šo gradienta spēka un gravitācijas spēka attiecību. Šī attiecība nav atkarīga no daļiņu lieluma [16].

$$\frac{\text{magn.spks}}{\text{gravit.spks}} = \frac{\mu_0 M |\nabla H|}{\Delta\rho g} \quad (1.4)$$

Šeit M ir viendomēna daļiņu magnetizācija. Ievietojot formulā (1.4) tipiskus lielumus [17]: $\nabla H = 1,6 \cdot 10^6 \text{ A}\cdot\text{m}^{-2}$, $M = 4,46 \cdot 10^5 \text{ A}\cdot\text{m}^{-1}$, $T = 298 \text{ K}$, $\Delta\rho = 4300 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$ un $g = 9,8 \text{ m}\cdot\text{s}^{-2}$, iegūst attiecību 21,3. Tas nozīmē, ka pie pietiekoši liela magnētiskā lauka gradienta, attiecībā uz magnētisko daļiņu noslāņošanos, noteicošais ir magnētiskais spēks.

Apskatīsim koloīdālas viendomēna feromagnētiskas (ferimagnētiskas) daļiņas šķīdumā. Ja nav uzlikts ārējais lauks, tad šo daļiņu dipola momenti ir haotiski un šķīdumam nepiemīt magnetizācija. Uzliekot nelielu ārēju lauku, siltumkustība traucē visām daļiņām izkārtoties lauka virzienā. Taču jo intensīvāks ir uzliktais lauks, jo vairāk izkārtošānās dominē pār siltumkustību, līdz sasniedz piesātinājumu. Kopumā šāds šķīdums uzvedās kā paramagnētiķis, tam nav histerēzes, taču magnētiskā uzņēmība ir daudz lielāka kā paramagnētiķiem. Koloīda magnetizācija notiek pēc Lanževēna likuma [18]:

$$\vec{M} = NmL(\xi) \frac{\vec{H}}{H}, \quad (1.5)$$

kur $m = M_s V$ - vienas daļiņas magnētiskais moments, M_s - daļiņas piesātinājuma magnetizācija, V - daļiņas tilpums, N - kopējais daļiņu skaits, H - magnētiskā lauka intensitāte, $L(\xi)$ - Lanževēna funkcija, $\xi = \frac{mH}{k_B T}$. Doto parādību sauc par superparamagnētismu [19].

Relaksācijai, kas notiek pēc magnētiskā lauka izmaiņas var novērot divus mehānismus. Pirmajā gadījumā relaksācija notiek dēļ daļiņu pagriešanās, otrajā - notiek magnētiskā lauka vektora pagriešanās daļiņas iekšienē. Pirmajam ir izteikti hidrodinamisks raksturs un tā kā tas saistīts ar daļiņas kustību, tad to sauc par Brauna relaksāciju:

$$\tau_B = \frac{3V\eta_0}{k_B T}, \quad (1.6)$$

kur V - daļiņas tilpums, η_0 - apkārtesošā šķidruma viskozitāte.

Otrajā gadījumā relaksācija ir saistīta ar daļiņas pārmagnetizēšanu. Lai veiktu daļiņas pārmagnetizēšanu ir jāpārvar noteikta enerģijas barjera ar lielumu KV , kur K ir materiāla anizotropijas konstante, kas raksturo nepieciešamo enerģiju daļiņas pārmagnetizēšanai. Ja $KV \ll k_B T$, tad ir pietiekams daudzums siltumenerģijas, lai izsauktu viendomēna daļiņas magnetizācijas fluktuācijas ar to raksturojošo Neieļa laiku

$$\tau_N = \tau_0 e^{\frac{KV}{k_B T}}, \quad (1.7)$$

kur τ_0 - materiālu raksturojošs laiks, tipiskais lielums $10^{-9} - 10^{-10}$ s [18].

Kopējais relaksācijas laiks, kas ietver sevī abus relaksācijas mehānismu izsakās kā:

$$\frac{1}{\tau} = \frac{1}{\tau_N} + \frac{1}{\tau_B}. \quad (1.8)$$

Kā rezultātā dominējošais ir mazākais no laikiem.

Parādības, kas novērojamas magnētiskajos šķidrums, tiem mijiedarbojoties ar ārēju magnētisko lauku, vispārīgi var tikt aprakstītas ar vienādojumu [18]:

$$\rho \frac{d\vec{v}}{dt} = -\nabla p + \eta \Delta \vec{v} + (\vec{M} \nabla) \vec{H} + \frac{1}{2} \text{rot}[\vec{M} \times \vec{H}], \quad (1.9)$$

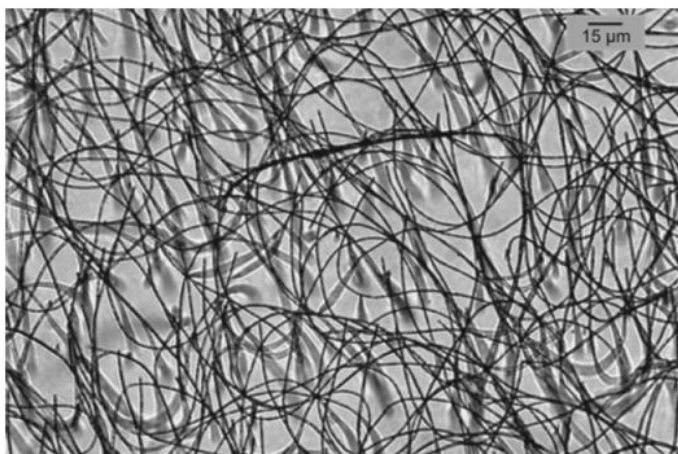
no kura ir redzams, ka lauka iedarbība uz šķidru magnētisku vidi ir saistīta ar diviem pamatmehānismiem - spēku, ko nosaka nehomogēns magnētiskais lauks $((\vec{M} \nabla) \vec{H})$ un spēka momentu ar ko lauks darbojas uz vidi $(1/2 \text{rot}[\vec{M} \times \vec{H}])$.

Izmantojot magnētiskos koloīdus, ir iespējams izgatavot superparamagnētiskas daļiņas, kas izmēros ir daudz lielākas par to veidojošajām koloidālajām daļiņām. Šādas daļiņas iegūst emulsificējot magnētiskos koloīdus. Iegūto daļiņu izmēri ir vairāki simti nm, taču, parasti, nepārsniedz $1 \mu\text{m}$. Ja daļiņu virsma tiek

pārklāta ar aktīvām molekulām, tad iegūst funkcionalizētas daļiņas, kas plaši tiek izmantotas dažādu bioloģisku vielu atdalīšanā ar magnētisko lauku. Šīm daļiņām ir potenciālas izmantošanas iespējas mikrofluīdikā plūsmu kontrolei mikrokanālos [20]. Šāda tipa daļiņas ir viens no dotā darba pamatelementiem, tās tiek izmantotas lokanu magnētisku stīgu izveidošanai.

1.2. Magnētiskās stīgas

Superparamagnētisku daļiņu koloīds, ja tam ir uzlikts ārējs pastāvīgs magnētiskais lauks, izkārtojas garu, vienas daļiņas biezu, ārējam laukam paralēlu ķēdīšu veidā. Pēc lauka noņemšanas, siltumkustības rezultātā, šīs ķēdītes izjūk. Ja atrod veidu kā daļiņas sasaistīt savā starpā, piemēram, izmantojot kādu polimēru (att. 1.1.), tad šo struktūru izdodas saglabāt, tādējādi iegūstot lokanas magnētiskās stīgas [21, 22, 23]. Šādām stīgām ir iespējami vairāki praktiski pielietojumi, izmantojot tās gan kā mikromehāniskus sensorus [24], gan kā maisītājus mikrofluīdikā [25, 26], gan kā ar ārēju magnētisko lauku darbināmus mikropeldētājus [27, 28, 29]. Tos iespējams izmantot arī vides mikroreoloģisko īpašību noteikšanai, kas smalkāk aprakstīta nākamajās nodaļās. Magnētiskās stīgas ir iespējams izgatavot gan no superparamagnētiskām, gan no feromagnētiskām mikroločītēm.



1.1. att.: Stīgas, kas izgatavotas sasaistot magnētiskas daļiņas ar poliakrilskābi (PAA) [23].

Ir izstrādāts teorētiskais modelis, kas apraksta šādu stīgu uzvedību ārējā magnētiskajā laukā. Modelis ir balstīts uz Kirhofa elastīga stieņa modeli, iekļaujot tajā locekļus, kas apraksta magnētiskās mijiedarbības enerģiju attiecīgā veida daļiņām. Šis modelis arī paredz superparamagnētisku stīgu liekuma nestabilitāti, ja magnētisko lauku uzliek stīgai perpendikulārā virzienā. Nestabilitātes rezultātā var izveidoties U-veidā saliekta stīga, pēc kuras formas var noteikt stīgu veidojošo polimēru mehāniskās īpašības [30].

Daļiņas sasaistošo polimēru molekulu cietību jeb stingumu var raksturot ar persistences garums $l_p = C/k_B T$, kur C ir polimēra molekulas liekuma elastība. Fizikāli persistences garums izsaka robežu starp polimēra fragmentu kā elastīgu

stieni, ja fragments ir īsāks par l_p , un polimēra fragmenta gadījuma rakstura trīsdimensionālu konfigurāciju, ja fragments ir daudzkārt garāks par l_p . Piemēram, dotajā darbā izmantotajai DNS dubultspirālei persistences garums ir 50 nm [31].

1.3. Magnetotaktiskās baktērijas

Informācija par baktērijām, kas jūt Zemes magnētisko lauku parādās pagājušā gadsimta 60-tajos un 70-tajos gados. Tās tika ievērotas zem mikroskopa pētot no purva ņemtas nogulsnes (*S.Bellini* 1963. g. un *R.Blakemore* 1975. g. [32]). Šo baktēriju neparasto īpašību dēļ, just un reaģēt uz apkārtējo magnētisko lauku un spēju sintezēt magnetītu, tās ir izraisījušas lielu zinātnisko interesi. Atrastie magnetofosīlie ieži, kas satur baktēriju radītās magnētiskās daļiņas, liecina par šādu baktēriju eksistenci vismaz 1,9 miljardu gadu tālā pagātnē. Magnetotaktiskajām baktērijām raksturīgie magnetīta nanokristāli ir atrasti arī iežos no Marsa. Tas ļauj izvirzīt hipotēzi par esošu vai bijušu dzīvības pastāvēšanu uz šīs planētas [33]. Magnetotaktiskās baktērijas ir pētītas kosmosā bezsvara apstākļos [34].

Pēc morfoloģiskā tipa magnetotaktiskās īpašības ir sastopamas praktiski visa tipa baktērijām gan kokiem, gan nūjiņām, gan spirillām un vibrioniem. Vairumu šo baktēriju vieno īpašība spējā sintezēt feromagnētiskās nanodaļiņas, ko ieskauj apvalks, izveidojot magnetosomu. Magnetosomas nav šūnā brīvi peldošas vezikulas, tās izvietojas taisnā līnijā, piestiprinoties pie šūnā esošu citoskeleta pavediena [35, 36]. Daļēji ir izdevies identificēt un sekvenēt tos gēnus, kas atbild par magnetosomu sintezēšanu un to izkārtošanos ķēdītes veidā gar šūnas citoskeletu [37].



1.2. att.: Magnetotaktiskā baktērija [38] ar tajā esošo magnetosomu ķēdīti.

Vairums magnetotaktisko baktēriju sugu dod priekšroku uzturēties vietās, kur strauji samazinās skābekļa koncentrācija. Dažas no sugām ir izteikti aneirobas. Tā kā Zemes magnētiskais lauks satur arī vertikālo komponenti, tad, iespējams, šādi tiek vienkāršota baktērijas orientācija trijās dimensijās, meklējot optimālo skābekļa koncentrāciju un barības vielas. Lielākā daļa baktēriju atbild uz signāliem, ko saņem no apkārtējās vides ar kustības ātruma vai virziena mai-

ņu. Šie signāli var saturēt informāciju par barības vielu, skābekļa, pH, toksīnu koncentrāciju, kā arī informāciju par gaismas intensitāti un frekvenci utt. [39].

Baktērijas spēju sajūst Zemes magnētisko lauku nodrošina magnētiskais filaments, kas sastāv no magnetosomām - endosomām un kas satur Fe_3O_4 nanokristālus. Magnetosomu izmēri ir aptuveni 50 nm un, parasti, viena šūna satur apmēram 60 magnetosomas. Elektronu mikroskopa uzņēmumā (att. 1.2.) redzama baktērija, kurai skaidri var saskatīt gar baktērijas garenasi piestiprinātās magnētiskās endosomas. Baktērijas abos galos redzamas vicas, ar kurām baktērija pārvietojas šķidrumā. Kādā režīmā strādā baktērijas abi dzinēji, tai pārvietojoties, īsti nav skaidrs, taču ir novērots, ka baktērija var pārvietoties gan uz priekšu, gan atpakaļ, ik pa laikam mainot virzienu uz pretējo bez pagrieziena ap savu asi. Iespējams, katram virzienam tiek izmantota sava vica jeb flagella.

Zinātniskajā literatūrā ir sastopamas vairākas metodes magnetotaktisko baktēriju magnētiskā momenta noteikšanai. Dēļ tā, ka baktērijas orientēšanās laiks, mainot ārējo magnētisko lauku uz pretējo, ir galīgs, baktērijas trajektorijai ir raksturīgs U-veida izliekums [40, 41]. Trajektorijas parametri ļauj noteikt attiecību starp baktērijas magnētisko momentu un rotācijas berzes koeficientu. Ar doto metodi tika noteikti magnētiskie momenti $m = 6,1 \cdot 10^{-13}$ emu baktērijām *M.magnetotacticum* [40] un $m = 2,4 \cdot 10^{-12} - 54 \cdot 10^{-12}$ emu magnetotaktiskajiem kokiem [41].

Lai nomērītu baktēriju magnētisko momentu, darbā [42] tika noteikta lauka stipruma ietekme uz baktēriju migrācijas ātrumu gar lauka līnijām, kas rodas dēļ baktēriju orientāciju termiskajām fluktuācijām. Ar šo metodi noteiktais magnētiskais moments saldūdens magnetotaktiskajai baktērijai ir $6 \cdot 10^{-13} - 7 \cdot 10^{-13}$ emu.

Baktēriju magnētisko momentu iespējams nomērīt arī ar magnētisko atomspēku mikroskopu [43]. Ar šo metodi tika izmērīts baktēriju *MV-1* magnētiskais moments, iegūstot $m = 4 \cdot 10^{-13}$ emu.

Pieeja, kur no baktēriju ansambļa tiek izdalītas vienas baktērijas magnētiskās īpašības, izmantojot gaismas izkliedi, dod $2,2 \cdot 10^{-13} - 2,7 \cdot 10^{-13}$ emu priekš baktērijas *M. magnetotacticum* [44]. Līdzīgus rezultātus $3 \cdot 10^{-13}$ emu šai pašai baktērijai dod paņēmiens, kur tiek izmantota supravadošu kvantu interferences mikroskopija [45]. Pēdējās metodes pamatā ir baktēriju ansambļa ģenerētā magnētiskā lauka fluktuāciju mērīšana un baktērijas orientācijas relaksācijas laika atkarība no magnētiskā lauka stipruma. Dotā parādība ir labi zināma magnētisko koloīdu fizikā [18].

Magnetotaktisko baktēriju bioķīmiskās mašīnērijas izveidotie magnetīta nanokristāli pēc to īpašībām pārspēj attiecīgi ķīmiski sintezētas nanodaļiņas. Tas attiecas gan uz formu, kur baktēriju daļiņām ir noteiktas formas viendomēna kristāliņi, gan to vienādajiem izmēriem. Baktēriju ražotās daļiņas ir iepakotas lipīdu un proteīnu membrānā, tas ļauj sasaistīt šīs daļiņas ar citām bioloģiski aktīvām vielām, līdz ar to tām ir plašs pielietojuma spektrs [46]. Diemžēl, iegūt šo bioloģiski sintezēto magnetītu nav viegli, galvenokārt, tas saistīts ar to, ka būdamas aneirobas, šīs baktērijas dalās lēni un ir stipri prasīgas pret apkārtējo vidi [47]. Tāpēc tiek meklētas citas iespējas, piemēram, ar magnetīta sintēzi saistīto procesu pārnesi no šūnas uz mēģeni (*in vitro*) [48, 49] vai par daļiņu veidošanos atbildīgo gēnu pārstādīšana vieglāk kultivējamā baktērijā, piem., *E.Coli* [50].

1.4. Lāzerpincete

1970. gadā Artūrs Aškins (*Arthur Ashkin*) parādīja, ka uz dielektrisku mikroskopisku daļiņu iedarbojas optiskie spēki [51]. Gadu vēlāk tika ziņots, ka ir izdevies radīt optiskās lamatas, kur safokusēti, pretēji vērsti lāzera stari spēj stabili noturēt mikroskopiskas daļiņas trijās dimensijās. Darbs par optiskajiem spēkiem tika attīstīts, līdz tika izveidota viena safokusēta stara pincete [52]. Dotā konstrukcija ir arī mūsdienu optisko pincešu pamatā.

Optiskās pincetes jeb lāzerpincetes iedarbības spēks ir ar pikoņūtonu kārtu un ar to iespējams reģistrēt novirzes ar nanometru precizitāti, tā ir precizitāte, kas pieļauj darboties pat ar vienu molekulu [53]. Šo īpašību dēļ lāzerpincetēm ir plašs pielietojums, sevišķi bioloģijā.

Pilna optiskās pincetes teorija ir stipri sarežģīta [54], taču tās vienkāršotie modeļi ir pietiekami, lai veidotos priekšstats optiskās pincetes konstruēšanā, tāpēc tuvāk tiks apskatīti tikai pēdējie. Jāpiebilst, ka šeit eksistē divi robežgadījumi, ja daļiņas izmēri daudzārt mazāki par lāzera viļņa garumu ($a \ll \lambda$) un ja daļiņas izmēri salīdzināmi vai lielāki par lāzera viļņa garumu ($a > \lambda$).

Lāzerpincetes pamatā ir mikroskopa objektīvs ar lielu skaitlisko apertūru (NA), kas safokusē lāzera gaismu. Fokusam tuvumā esoša dielektriska daļiņa izjutīs spēka iedarbību, ko izsauc izkliedēto fotonu kustības daudzuma pārnese. Apskatīsim pirmo gadījumu, ja $a \ll \lambda$. Šajā gadījumā spēkā ir Releja izkliede un daļiņu var aplūkot kā punktveida dipolu. Šeit uz daļiņu darbojas divi spēki - izklijes spēks un gradienta spēks [55]. Izklijes spēks rodas dipola absorbētās un atstarotās gaismas dēļ. Lodītei ar rādiusu a , šis spēks ir

$$F_{scatt} = \frac{I_0 \sigma n_m}{c}, \quad (1.10)$$

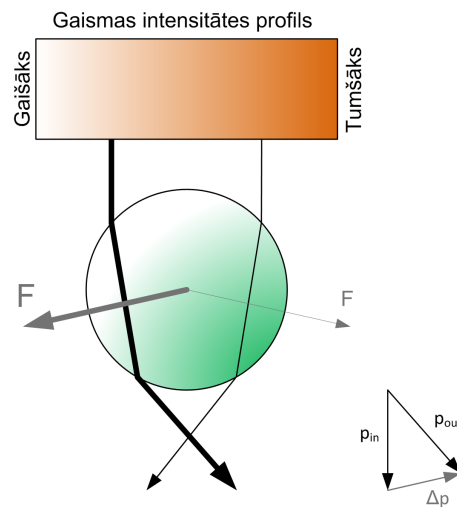
$$\sigma = 128 \frac{\pi^5 a^6}{3\lambda^4} \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \right)^2, \quad (1.11)$$

kur I_0 - gaismas intensitāte, σ - sfēras izklijes šķērsriezums, n_m - vides laušanas koeficients, c - gaismas ātrums vakuumā, m - daļiņas un vides laušanas koeficientu attiecība (n_p/n_m) un λ ir lāzera gaismas viļņa garums. Kā redzams, šis spēks ir proporcionāls gaismas intensitātei un ir vērsts gaismas izplatīšanās virzienā. Gradienta spēks rodas dēļ daļiņā inducētā dipola mijiedarbības ar nehomogēno lauku

$$F_{grad} = \frac{2\pi\alpha}{cn_m^2} \nabla I_0, \quad (1.12)$$

$$\alpha = n_m^2 a^3 \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \right), \quad (1.13)$$

kur α - lodītes polarizējamība. Redzams, ka šis spēks ir proporcionāls gaismas intensitātes gradientam un vērsts tā virzienā, ja $m > 1$. Tā kā izkliedes spēks darbojas tikai vienā virzienā, tad, acīmredzot, gradienta spēkam jābūt lielākam, tātad jābūt ļoti lielam gaismas gradientam. No šejienes izriet nepieciešamība pēc mikroskopa objektīva ar lielu skaitlisko apertūru (lielāka par 1). Kad daļiņa ir saķerta, tad šo divu spēku balansa rezultātā daļiņa nedaudz nobīdās no fokusa punkta stara izplatīšanās virzienā.



1.3. att.: Gradients spēks no staru optikas skatpunkta. Treknāk zīmētie vektori atbilst lielākam impulsam un spēkam.

Gadījumā, ja $a > \lambda$ spēki var tikt noteikti no vienkāršiem staru optikas likumiem 1.3. att. Gaismas staru lūšana lodītē atbilst gaismas nestai kustības daudzuma maiņai. Saskaņā ar trešo Ņūtona likumu, tik pat liels, bet pretēji vērsts kustības daudzums iedarbojas uz lodīti. Šis spēks ir proporcionāls gaismas intensitātei un pieaug gaismas stara gradienta virzienā, ja daļiņas laušanas koeficients ir lielāks par vides laušanas koeficientu.

Lāzerpincetes centrā esošu daļiņu, ja tās novirzes x no centra ir nelielas var aprakstīt ar vienādojumu

$$\beta \dot{x} + \alpha x = F(t), \quad (1.14)$$

kur β ir viskozās berzes koeficients ($\beta = 6\pi\eta a$ - lodītei ar rādiusu a , vidē ar viskozitāti η), α - lāzerpincetes stinguma koeficients. $F(t)$ ir Lanževēna (termiskās

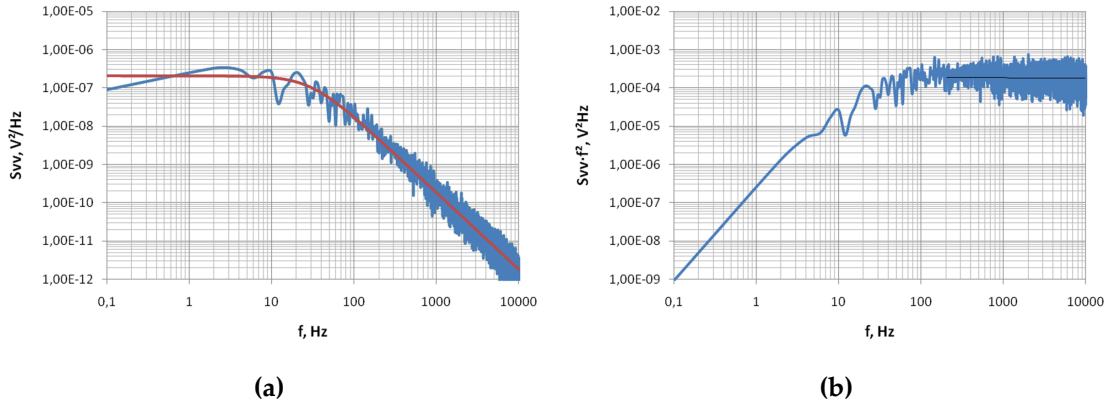
kustības) spēks [56]. Rezultātā tiek iegūts Brauna daļiņas novirzes fluktuāciju paraboliskā potenciālajā bedrē spektrs (Lorenca spektrs).

$$S_{xx}(f) = \frac{k_B T}{\pi^2 \beta (f_0^2 + f^2)}, \quad (1.15)$$

šeit $S_{xx}(f)$ dimensija ir (novirzes vienības)²/Hz, k_B - Bolcmaņa konstante, T - temperatūra, f_0 - robežfrekvence, kura sekojoši saistās ar lāzerpincetes stinguma koeficientu: $f_0 = \frac{\alpha}{2\pi\beta}$. Veicot aproksimāciju ar Lorenca funkciju, att. 1.4., un no tās nosakot robežfrekvenci f_0 , kā arī zinot lodītes izmērus un vides viskozitāti, var aprēķināt lāzerpincetes stinguma koeficientu

$$\alpha = 12\pi^2 f_0 \eta a. \quad (1.16)$$

Piemērā ir izmantoti dati no dotā darba ietvaros uzkonstruētās lāzerpincetes. No iegūtā stinguma koeficienta $\alpha = 5,20$ pN/ μ m redzams, ka darbā izmantotajai lāzerpincetei mērāmā spēka augšējā robeža, mazām daļiņas novirzēm, ir dažu pN robežās.



1.4. att.: Reģistrētais novirzes spektrālais blīvums $3,28 \mu\text{m}$ lielai lodītei un aproksimācija ar Lorenca funkciju (a). No iegūtās robežfrekvences $f_0 = 30,07$ Hz, noteiktais lāzerpincetes stinguma koeficients $\alpha = 5,20$ pN/ μ m. Izmantojot plato (b) $S_{xx} \cdot f^2$, noteikta sensora jūtība $\rho = 0,12$ V/ μ m.

Izdarot novirzes mērījumus ir jāņem vērā tas, ka signāls no sensora dod nekalibrētu spektru S_{vv} , kas ar reālo spektru saistās kā $S_{vv} = \rho^2 S_{xx}$, kur ρ ir pozīcijas sensora lineārā jūtība V/(novirzes vienības). Šo jūtību var noteikt no reizinājuma $S_{xx} \cdot f^2$, kas pie frekvencēm $f \gg f_0$ asimptotiski tiecas uz vērtību

$k_B T / \pi^2 \beta$, jeb

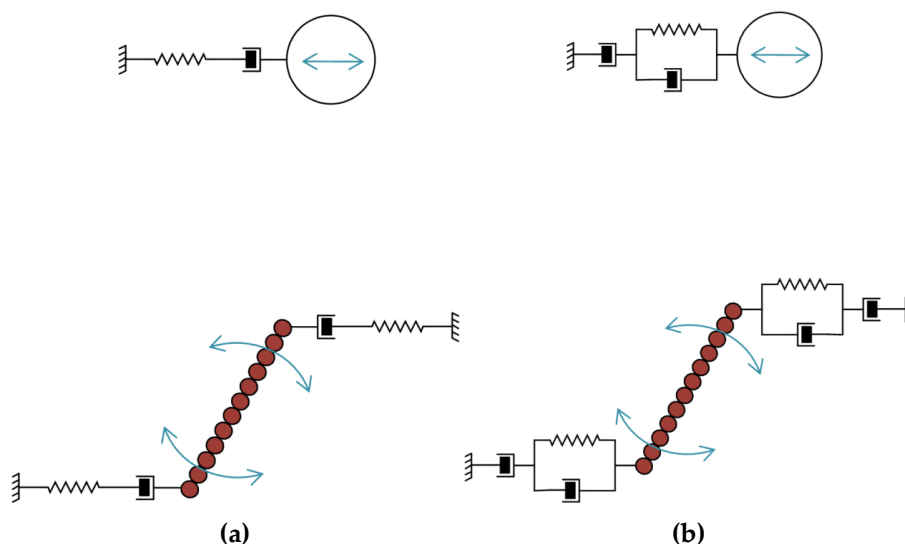
$$\rho = \sqrt{\frac{S_{vv} f^2 \pi^2 \beta}{k_B T}}. \quad (1.17)$$

Zinot sensora jūtību ρ un lāzerpincetes stinguma koeficientu α iespējams noteikt spēku, mērot pozīcijas detektora signālu V_x :

$$F = \alpha \frac{X_{vv}}{\rho}. \quad (1.18)$$

1.5. Magnētisko stīgu iespējas mikroreoloģijā

Izmantojot superparamagnētiskas stīgas ir iespējams noteikt vides viskoelastīgās īpašības. Tāpat kā kā klasiskajā reoloģijā, materiāla viskozās un elastīgās īpašības, dotajā gadījumā, tiek noteiktas no materiāla deformācijas atkarības no uzliktā sprieguma. Mikroreoloģijas priekšrocība ir, ka būtiski samazinās pētāmā materiālā daudzums, bez tam nehomogēnos materiālos var mērīt lokālas viskoelastīgās īpašības. Ir izstrādātas dažādas metodes, mikroreoloģiskiem mērījumiem, izmantojot dažādus sensorus (pārsvarā mikroskopiskas lodītes). No tām var izdalīt aktīvās metodes, ja uz sensoru notiek iedarbība ar ārēju spēku, un pasīvās metodes, ja nekāds ārējs spēks netiek uzlikts. Pie aktīvām metodēm var pieminēt feromagnētiskas lodītes kustību nehomogēna magnētiskā lauka iedarbībā [57, 58, 59], pie šūnas citoskeleta piestiprinātas lodītes vērpsanu [60, 61], ar lāzerpinceti inducētu daļiņas svārstību kustību pētīšanu [62]. Visbeidzot, šūnas citoskeleta viskoelastīgo īpašību pētīšanu reģistrējot magnētisko endosomu izveidoto ķēdīšu kustību [63]. Pie pasīvām metodēm jāmin daļiņas Brauna kustības novērošana [64, 65] un metodes, kur ar gaismas izkliedi reģistrē magnētisku adatu ansambļa svārstību kustību mainīgā magnētiskajā laukā [66].



1.5. att.: Viskoelastīgas vides modeļi: (a) - Maksvela modelis; (b) - Maksvela-Voigta modelis.

Tradicionāli reoloģijā tiek mērīta bīdes moduļa atkarība no frekvences, ja pētāmajam paraugam ir uzliktas ar mazu amplitūdu mainīgas bīdes deformācijas $\gamma(t) = \gamma_0 \sin(\omega t)$, kur γ_0 un ω ir attiecīgi svārstību amplitūda un frekvence [67].

Tādā gadījumā no laika atkarīgais spriegums ir tieši proporcionāls deformācijas amplitūdai:

$$\sigma(t) = \gamma_0[G'(\omega) \sin(\omega t) + G''(\omega) \cos(\omega t)]. \quad (1.19)$$

Vienādojumā $G'(\omega)$ ir elastības modulis, tas sakrīt fāzē ar uzlikto deformāciju un raksturo parauga uzkrāto elastības enerģiju. $G''(\omega)$ ir viskoza modulis, tas nesakrīt fāzē ar uzlikto deformāciju un raksturo viskozo enerģijas disipāciju paraugā. Apvienojot abus modulūkus vienā var uzrakstīt komplekso bīdes moduli: $G = G' + iG''$.

Analoģiski reoloģijas mērījumi var tikt veikti arī apgrieztā veidā - uzliekot pētāmajam paraugam spriegumu un mērot materiālā radušās deformācijas.

Viskoelastīgām parādībām var piemērlēt modeļus no mehānikas, izmantojot analoģiju ar dažādās kombinācijās saslēgtiem dempferiem un atsperēm. Vienkāršākajā no tiem - Maksvela modelī tiek apskatīti virknē saslēgti atspere un dempferis (att. 1.5. (a)) Pilnīgāks ir Voigta-Maksvela modelis, kurā paralēli atsperei ir pieslēgts otrs dempferis (att. 1.5. (b)), šis modelis ņem vērā arī elastības dispersiju [63].

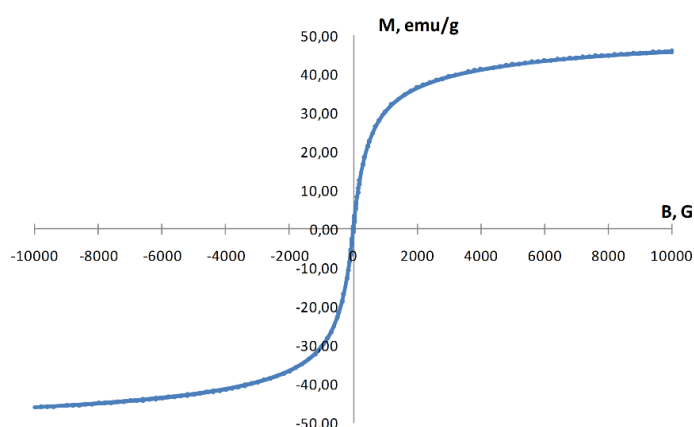
2. nodaļa

Materiāli un eksperimentālais aprīkojums

2.1. Magnētisko stīgu sintēzes paņēmieni

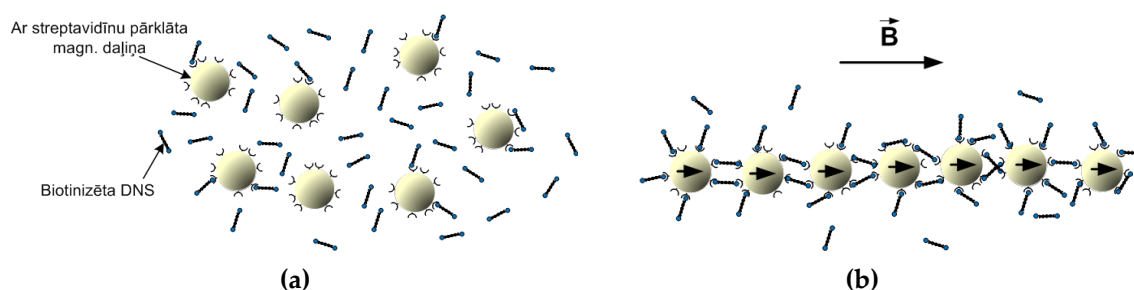
Superparamagnētiskas stīgas. Dotā darba sākuma daļā, tika atkārtots darbā [24] aprakstītais magnētisko stīgu iegūšanas paņēmiens un izgatavotas stīgas, kur 700 nm superparamagnētiskas daļiņas tiek sasaistītas ar poliakrīlskābi (PAA). Izmantotās daļiņas (*Ademtech*) ir organiska ferrofluīda emulsija ūdenī, kur par ferrofluīdu tiek izmantots ferimagnētiķa $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ suspensija oktānā, kas stabilizēta ar oleīnskābi. Savukārt, daļiņas tiek stabilizētas ar nejonisku virsmas aktīvo vielu Triton X-405. Labus rezultātus izdevās iegūt 30 μl 0,0625 tilp. % daļiņu samaisot ar 0,5 ml 0,1 masas % PAA (*Sigma-Aldrich*, $M=250000$, $c=35\%$) un 0,1 masas % NP10 (*Sigma-Aldrich*) šķīduma un ievietojot paraugu uz 10 minūtām 400 Oe spēcīgā magnētiskajā laukā. Dotās metodes lielākais trūkums ir komerciāli izgatavotu daļiņu neesamība, daļiņas tiek izgatavotas tikai pēc pasūtījuma, bez tam šādu daļiņu derīguma termiņš ir nesalīdzināmi mazāks kā komerciāli pieejamajām cieta apvalka funkcionalizētajām daļiņām. Tas ir viens no iemesliem, kādēļ tika meklēts risinājums izgatavot magnētiskas stīgas no cieta apvalka komerciāli ražotām superparamagnētiskām daļiņām. Uz doto brīdi, ir pieejamas ražotas dažādu diametru sfēriskas superparamagnētiskas daļiņas ar atšķirīgiem pārklājumiem. Daļiņu pielietojums, galvenokārt, saistīts ar dažādu proteīnu un DNS fragmentu atdalīšanu, izmantojot šo daļiņu īpašību piesaistīt pie savas virsmas noteiktās vielas un to spēju mijiedarboties ar ārējo magnētisko lauku. Šo īpašību dēļ, tās lieliski der arī magnētisku stīgu izgatavošanai.

Lokanu magnētisku stīgu izgatavošanai tika izvēlētas ražotāja *Ademtech* ar



2.1. att.: Magnetizācijas līkne 500 nm daļiņām (M. Majorovs, LU Fizikas institūts).

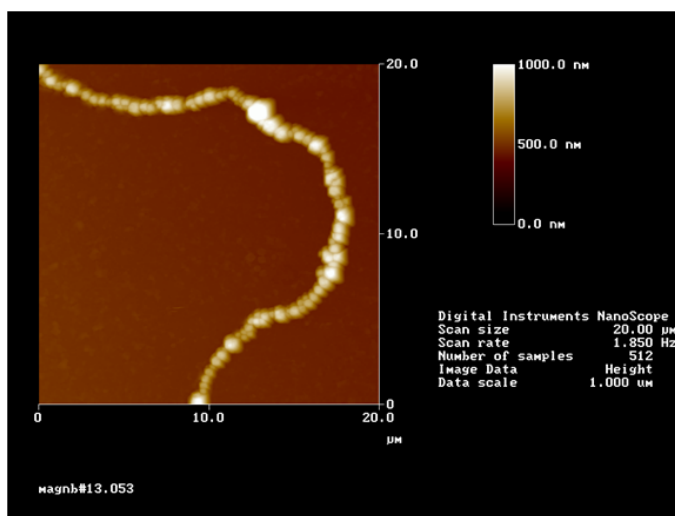
streptavidīnu funkcionalizētas 500 nm daļiņas *MasterBead Streptavidin*. Šīs daļiņas tiek iegūtas polimerizējot magnētisko emulsiju, kas stipri palielina to stabilitāti. Daļiņas satur ap 70% $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ un spēj piesaistīt 1000 pmol/mg biotīna. Līdzīgi kā iepriekšējā gadījumā daļiņu sasaistīšanai vajadzīgas pietiekami garas molekulas. Par saistošo polimēru ar streptavidīnu funkcionalizētajām daļiņām tiek izmantoti biotinizēti (DNS fragmentam abos galos pievienots biotīns) 456 pb gari DNS fragmenti, kas tiek sintezēti (*ASLA Biotech*) polimerāzes ķēdes reakcijā (PĶR), izmantojot plasmīdu pQE-strA (*ASLA Biotech*) un 5'-biotinizētus praimerus (*Metabion*).



2.2. att.: Superparamagnētisku stīgu veidošanās shematisks attēlojums: (a) - ar streptavidīnu funkcionalizētas superparamagnētiskās daļiņas un DNS bez magnētiskā lauka; (b) - daļiņas pēc to ievietošanas magnētiskajā laukā.

Stīgas tiek iegūtas ievietojot noteiktas koncentrācijas superparamagnētiskās daļiņas DNS šķīdumā un ievietojot šo paraugu homogēnā magnētiskajā laukā. Magnētiskā lauka iedarbībā daļiņas izkārtojas ķēdītēs, kas vērstas magnētiskā lauka spēka līniju virzienā. Daļiņas ķēdītēs atrodas pietiekami tuvu, lai DNS izveidotu saites starp tām, kas izrādās ir pietiekami stipras, lai saistītu daļiņas arī pēc lauka noņemšanas (att. 2.2.).

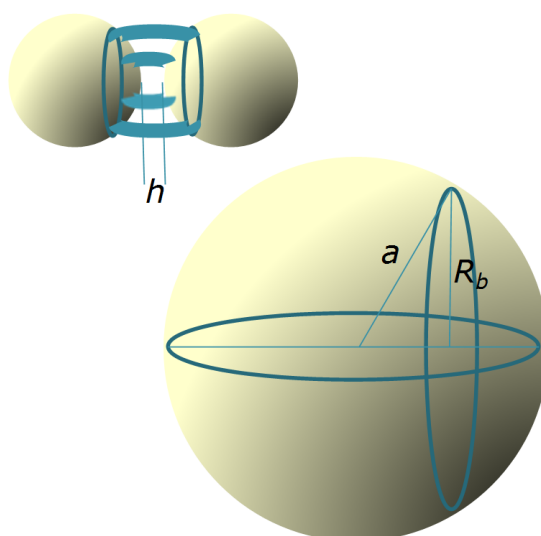
Pirms magnētisko stīgu izgatavošanas tika izrēķināts teorētiskais DNS un magnētisko daļiņu daudzums, lai izveidotu savienojumus starp daļiņām ar maksimālu saišu skaitu. Izmantojot ražotāja dotos datus par daļiņu koncentrāciju - 10 mg/ml, blīvumu - 2 g/cm^3 un spēju piesaistīt biotīnu - 1000 pmol/mg, iegūstam, ka $1 \mu\text{l}$ šķīduma satur $10 \mu\text{g}$ magnētisko daļiņu ar kopējo virsmas laukumu $6 \cdot 10^{-5} \text{ m}^2$ un spēju piesaistīt $6 \cdot 10^{12}$ biotīna molekulas. Ņemot vērā izmantotās DNS dubultspirāles garumu, pēc formulas: $M_{dsDNS} = 607,4N_{nucleotides} + 157,9$, tika noteikta DNS molekulārā masa - $2,77 \cdot 10^5 \text{ g/mol}$. Tā kā vienai DNS molekulai ir piesaistītas divas biotīna molekulas un pieņemot, ka visas molekulas tiks absorbētas uz daļiņu virsmām, jāsecina, ka dotajā gadījumā, ir nepieciešams $3 \cdot 10^{12}$ DNS molekulu. Tas



2.3. att.: Superparamagnētiskas stīgas attēls, kas iegūts ar ASM metodi.

nozīmē, ka vajadzīgais tilpums ir $10 \mu\text{l}$ DNS ar sākotnējo koncentrāciju $135 \mu\text{g/ml}$. Dotais aprēķins parāda tikai savstarpējo koncentrāciju attiecību starp magnētiskajām daļiņām un DNS, kas apstiprinās arī eksperimentāli. Lai kontrolētu stīgu veidošanās procesu un aglomerātu veidošanos ir nepieciešama ne tikai konkrēta daļiņu un DNS koncentrāciju attiecība, bet arī daļiņu koncentrācija apkārtesošajā vidē kā tādā. Ja daļiņu koncentrācija izrādīsies pārāk augsta, tad izveidojušies pavedieni viens otru aizķers, tādējādi salīpot kopā un veidojot aglomerātus. Ja daļiņu koncentrācija būs pārāk zema, tad dēļ lielā attāluma starp daļiņām to mijiedarbība var būt nepietiekama un izveidojušās stīgas būs pārāk īsas. Koncentrācijas daļiņām, DNS un atšķaidītājam tika piemeklētas eksperimentāli, izejot no teorētiskajiem aprēķiniem. Atšķaidītāja daudzums tika piemeklēts tāds, lai veidotos garas, viendabīgas, apmēram vienu daļiņu diametrā biezas stīgas, 2.3. att. Noteiktās koncentrācijas daļiņām ir $143 \mu\text{g/ml}$; DNS - $34 \mu\text{g/ml}$. Reoloģijas eksperimentos (skat. nod. 3.4.1), kur bija nepieciešami īsas stīgas, daļiņu un DNS koncentrācija TE buferšķīdumā bija apmērām uz pusi mazāka.

Ir iespējams novērtēt to DNS molekulu skaitu, kas veido saites starp divām daļiņām. Šeit tika pieņemts, ka maksimālais attālums starp DNS piestiprināšanās vietām nepārsniedz dsDNS persistences garumu l_p , kas šādām molekulām ir vienāds ar 50 nm . Tika noteikts, ka kopējais daļiņas sasaistošais saites rādiuss ir $R_b = \sqrt{al_p}$ (att. 2.4.), šeit a - daļiņas rādiuss. Šis saites rādiuss ir saistīts ar lodītes virsmas noteiktu segmenta laukumu, zinot tā daļu no kopējā lodītes laukuma un nosakot vienas daļiņas biotīna piesaistīšanas spēju, no ražotāja dotajiem datiem



2.4. att.: DNS saišu veidošanās modelis starp divām daļiņām. Saietes rādiusa saistība ar lodītes segmenta laukumu.

(spēja saistīt biotīnu - 1000 pmol/mg un sfēriskās daļiņas blīvums - 2 g/cm³), tika noteikts, ka DNS molekulu skaits vienā saitē ir 4200.

Pirms stīgu izgatavošanas, daļiņas trīs reizes tiek mazgātas speciālā buferšķīdumā (*Immobilisation buffer*). Pēc mazgāšanas tās tiek atšķaidītas līdz sākotnējai koncentrācijai ar mazgāšanai paredzēto buferšķīdumu. Tiek sagatavots noteiktās koncentrācijas DNS šķīdums, atšķaidot DNS ar TE (skat. pielikumu) buferšķīdumu (pH = 7,5). Saglabājot nepieciešamo daļiņu un DNS koncentrāciju attiecību, šķīdumam tiek pievienotas magnētiskās daļiņas. Šķīdums tiek rūpīgi samaisīts izmantojot mikropipeti un uz vairākām minūtēm ievietots konstantā, homogēnā magnētiskajā laukā starp diviem neodīma magnētiem (50 mT). Eksperimentu veikšanai iegūto magnētisko stīgu koncentrācija ir par lielu, tāpēc parasti stīgas tiek uzmanīgi atšķaidītas ar 500-1000 μ l TE buferšķīduma.

Atšķaidīšanas rezultātā liela daļa stīgu sadalās fragmentos, daļa neatgriezeniski saķeras ar citām stīgām. Stīgas var atrasties pārāk tuvu viena otrai vai pielipt pie segstikliņiem, tādēļ eksperimentu gaitā daudz laika tiek veltīts derīgu stīgu sameklēšanai. Pētīšanai sagatavotajā paraugā magnētisko stīgu garums parasti variē no pāris daļiņu saturošām, dažus mikrometrus līdz pat 100 μ m garām stīgām.

Bieži ir sastopamas magnētiskās stīgas ar dažādiem defektiem - stīga ir biezāka kā viena daļiņa, stīga ir deformēta, stīgas elastība ir nehomogēna. Magnētiskā stīga ar nehomogēnu elastību redzama attēlā 2.5., kur tā ir ievietota homogēnā



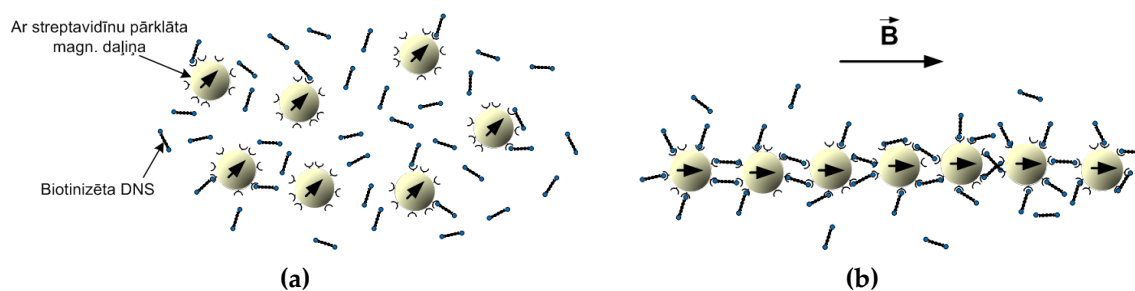
2.5. att.: Magnētiskā stīga, kam novērojama elastības nehomogenitāte.

magnētiskajā laukā. Par to, ka liekuma vietā ir defekts liecina tas, ka vairākkārtīgi veicot stīgas saliekšanu U-veidā, maksimālā liekuma vieta paliek novirzīta no stīgas centra.

Daudz problēmu, sevišķi veicot pirmos eksperimentus, sagādāja stīgu pielipšana pie priekšmetstikliņa. Veicot sekojošu stikliņu apstrādi, šo pielipšanu var stipri samazināt: notīrīti stikliņi tiek iemērkti vājā sausā vājpiena pulvera šķīdumā, liekais šķidrums tiek notecināts, tad stikliņi tiek atstāti uz vairākām stundām žāvēties. Apstrādes rezultātā stikliņi ir klāti ar plānu piena olbaltumvielu slānīti, kas novērš pētāmo objektu pielipšanu pie stikla virsmas.

Ņemot vērā augstākminēto, jāsecina, ka katra magnētiskā stīga ir unikāla, un stīgu īpašību, piem., liekuma moduļa dispersija dažādām stīgām ir augsta, to apstiprinās arī turpmākajās nodaļās aprakstīto eksperimentu rezultāti.

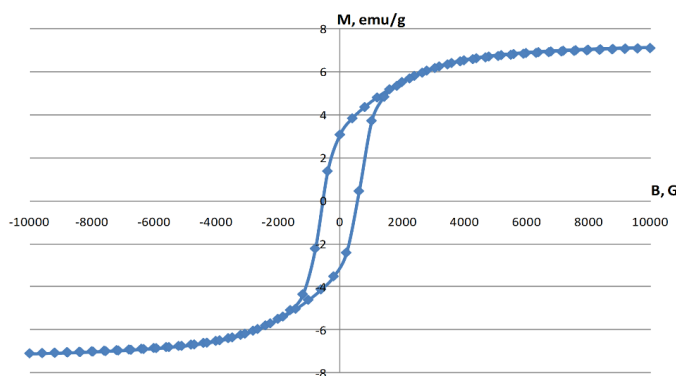
Feromagnētiskas stīgas. Dažus gadus atpakaļ kļuva pieejamas arī komerciāli ražotas feromagnētiskas sfēriskas daļiņas (*Spherotech*). Šīs feromagnētiskās daļiņas ir izgatavotas, pārklājot polistirola lodītes ar hroma dioksīdu. Uz doto brīdi, ir pieejamas daļiņas ar izmēriem no 2-10 μm . Atšķirībā no superparamagnētiskajām daļiņām feromagnētiskās daļiņas, pēc magnētiskā lauka uzlikšanas, saglabā savu magnetizāciju atbilstoši uzliktajam laukam. Teorētiski šādas daļiņas iespējams gan pārmagnetizēt, gan demagnetizēt. Viens no šādu daļiņu pielietojumiem ir šūnu virsmas īpašību noteikšana, piesaistot feromagnētiskās daļiņas pie šūnas virsmas un to vērējot, izmantojot ārēju magnētisko lauku [61].



2.6. att.: Feromagnētisku stīgu veidošanās shematisks attēlojums: (a) - ar streptavidīnu funkcionalizētas feromagnētiskas daļiņas un DNS bez magnētiskā lauka; (b) - daļiņas pēc to ievietošanas magnētiskajā laukā.

Līdzīgi kā superparamagnētiskās, arī feromagnētiskas daļiņas ārējā magnētiskajā laukā izkārtojas garu ķēdīšu veidā, kas dod iespējas salīdzinoši vienkārši izgatavot feromagnētiskas stīgas (att. 2.6.)

Feromagnētisku stīgu gadījumā, daļiņu koncentrācija ir jāpiemeklē rūpīgāk, jo ir lielāka aglomerātu veidošanās iespēja. Feromagnētisko stīgu iegūšanai tika izmantotas daļiņas ar diametru $4,26 \mu\text{m}$ un spēju piesaistīt biotīnu - $1,15 \text{ nmo-li/mg}$. Pietiekami garas, homogēnas feromagnētiskās stīgas no mazākajām - $2 \mu\text{m}$ feromagnētiskajām daļiņām, pagaidām neskaidru iemeslu dēļ iegūt nav izdevies.

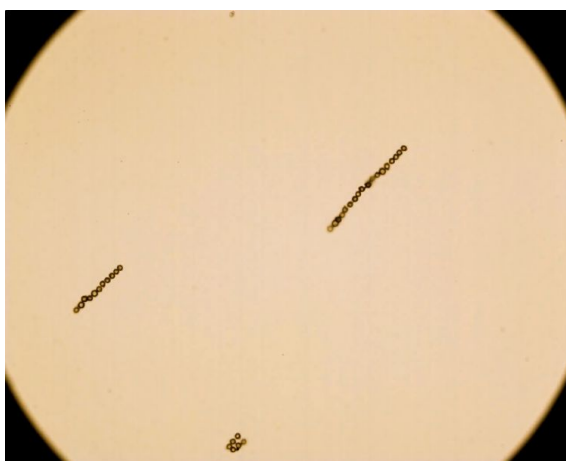


2.7. att.: Magnetizācijas līkne $4,26 \mu\text{m}$ feromagnētiskām daļiņām (M. Majorovs, LU Fizikas institūts).

Izmantojot vibrācijas magnetometru (LU Fizikas institūts) tika noteiktas feromagnētisko daļiņu magnētiskās īpašības. Magnetizācija līkne redzama 2.7. att. Tika noteikts arī koercitīvais spēks un piesātinājuma magnetizācija, kas attiecīgi ir $550,47 \text{ G}$ un $7,11 \text{ emu/g}$. Šīs īpašības tika noteiktas paraugam, kurā daļiņu savstarpējā mijiedarbība tiek novērsta izžāvējot pirms tam ar daļiņas saturošo

šķidrumu piesūcinātu speciālu papīru.

Izmantotās feromagnētiskās daļiņas ir lielākas nekā 500 nm daļiņas, kas izmantotas superparamagnētisku stīgu gadījumā, līdz ar to 456 bp DNS nespēja pietiekami stipri sasaistīt daļiņas, lai izveidotos noturīgas stīgas, kas sastāvētu no vairāk kā pāris daļiņām. Tāpēc feromagnētisko stīgu izgatavošanai, tika izmantoti garāki - 1000 bp gari DNS (*ASLA Biotech*) fragmenti. Līdzīgi kā gadījumā ar superparamagnētiskām stīgām, arī šajā gadījumā, vispirms aptuvenā daļiņu un DNS attiecība tika izrēķināta teorētiski un pēc tam eksperimentāli tā tika koriģēta. Rezultātā tika noskaidrots, ka labus rezultātus dod daļiņu un DNS koncentrācija, kur uz 100 $\mu\text{g/ml}$ DNS ir 0,1 masas % feromagnētisko daļiņu.



2.8. att.: Feromagnētiskas stīgas, kas iegūtas no funkcionalizētām 4,26 μm lielām feromagnētiskām daļiņām.

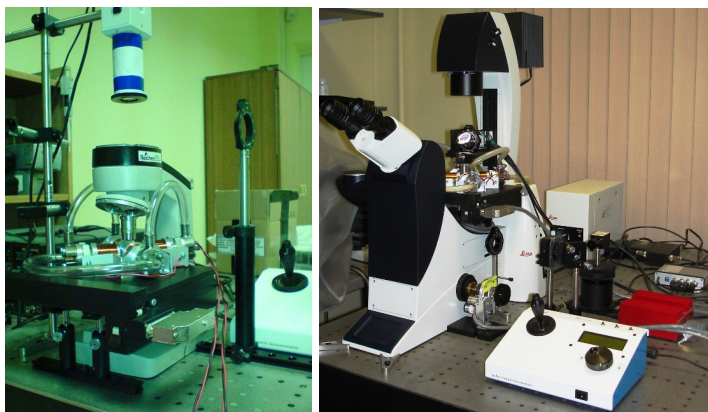
Feromagnētiskās stīgas (att. 2.8.) tiek iegūtas sekojošā veidā: 20 μl DNS tiek atšķaidīti ar 20 μl TE buferšķīduma, tad tiek pievienoti 4 μl feromagnētisko daļiņu, šķīdums uz vienu minūti tiek ievietots starp neodīma magnētiem (50 mT). Iegūtās stīgas tiek uzmanīgi atšķaidītas ar TE buferšķīdumu (parasti 1 ml) līdz eksperimentiem nepieciešamajai koncentrācijai.

2.2. Magnētiskā lauka iegūšana un mikroskops

Eksperimentu veikšanai ar magnētiskajām stīgām tika izgatavotas vairākas iekārtas. Šīs iekārtas ir izgatavotas papildinot un nedaudz modificējot mikroskopus. Mikroskopi papildus tika aprīkoti ar šim nolūkam izgatavotām spolēm, precīzu, ar elektrisko piedziņu aprīkotu, priekšmetgaldiņu un ātro videokameru. Tika veikta mikroskopa modifikācija tā, lai tajā var ievietot spoles un pievienot lāzerpinceti. Iekārtā izmantotajos mikroskopos ar palielinājumu no 100 līdz 1000 reizēm var aplūkot mikroskopiskus objektus, filmēt tos ar ātrumu līdz pat 500 kadriem sekundē un vairāk (samazinot kameras izšķirtspēju). Uz pētāmajiem objektiem var iedarboties ar ārējo magnētisko lauku, ko spoles rada priekšmetgaldiņa plaknē. Šo lauku var konfigurēt dažādos veidos gan kā konstantu lauku, gan kā rotējošu, vai kā mainīgu lauku. Spoļu magnētiskā lauka maksimālā amplitūda var sasniegt 10 mT. Lai arī spoles ir aprīkotas ar ūdens dzesēšanu, galvenais lauka ierobežojums ir spoļu izdalītais siltums.

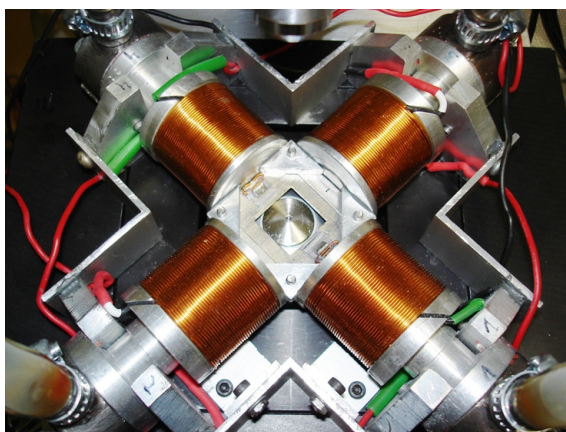
Šī darba eksperimentālo iekārtu pamatā ir caurejošas gaismas mikroskops. Daļā eksperimentu ir izmantots vienkāršs laboratorijas mikroskops *Reichert One-Fifty*, no kura tiek izmantotas tikai parauga apgaismošanas un mikroskopa objektīva turēšanas daļas. Tubuss un tā prizmas ir noņemtas, lai atbrīvotu vietu lāzerpincetes staru dalītājam, kā arī ļautu uzstādīt videokameru. Par mikroskopa galdiņu ir izmantots elektroniski vadāms priekšmetgaldiņš (*Applied Scientific Instrumentation MS-2000*), uz tā arī tiek novietotas spoles magnētiskā lauka ģenerēšanai.

Vēlāk konstrukcija tika uzlabota nomainot mikroskopu ar inverso mikro-



2.9. att.: Eksperimentālās iekārtas. Pa kreisi - iekārta uz mikroskopa *Reichert One-Fifty*; pa labi - iekārta uz mikroskopa *Leica DMI3000 B* bāzes.

skopu *Leica DMI3000 B*. Oriģinālais mikroskopa priekšmetgaldiņš tika aizstāts ar *MS-2000* (att. 2.9.). Eksperimentālo datu iegūšanai sākotnēji tika izmantota videokamera *JAI CV-S3200*, kas ir pieslēgta pie datorā instalētas *PAL* standarta kadru tvērēja kartes. Šī ir analogā kamera ar *PAL* standartam atbilstošiem parametriem: filmēšanas ātrums - 25 kadri sekundē un izšķirtspēja 752x582 pikseļi. Dati no kadru tvērēja kartes tika saglabāti kompresētu *AVI* failu veidā, kas vēlāk tika apstrādāti izmantojot attēlu analīzes programmas (*ImageJ*, *Matlab* kods), tieši vai konvertējot tos uz attēlu sēriju. Pēc iekārtas uzlabošanas ar ātro videokameru *Mikrotron MC1363*, izmantojot programmu *Labview* vidē, ir iespējams datus saglabāt gan kompresētu videofailu, gan *JPG* vai *TIF* attēlu sēriju veidā. Atkarībā no uzdevuma ir iespējams veikt arī attēlu apstrādi reālā laikā vai attēlu bufera tūlītēju apstrādi, saglabājot nomērītos datus tabulu formātā, tādējādi ietaupot datora atmiņu. Ātrā kamera uzņem attēlus ar ātrumu līdz pat 500 kadriem sekundē ar standarta izšķirtspēju 1248x1024 un pie zemākas izšķirtspējas filmēšanas ātrums var sasniegt 1000 un vairāk kadrus sekundē. Šeit lielākais ierobežojums ir nepietiekamais apgaismojums dēļ ļoti maza eksponācijas laika. Šī kamera ir savienota ar datoru, izmantojot *D-Link Full* savienojumu ar datorā instalētu kadru tvērēju *NI PCIe-1429*. Abos gadījumos videokameras nodrošina arī eksperimenta gaitas vizuālo kontroli.



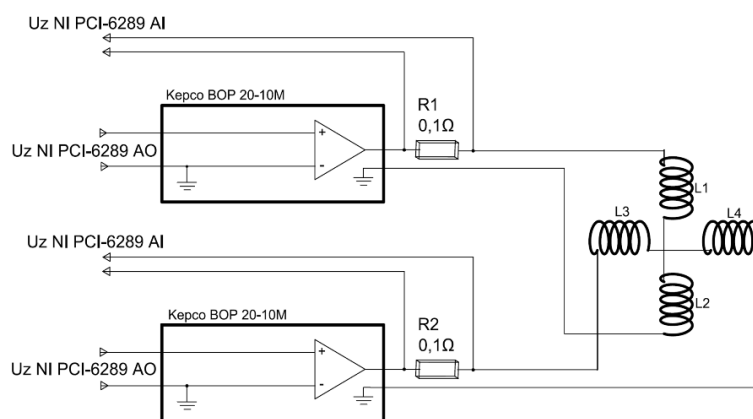
2.10. att.: Spoles magnētiskā lauka ģenerēšanai, kas novietojas uz mikroskopa priekšmetgaldiņa.

Magnētisko lauku, kas nepieciešams eksperimentiem var iegūt gan mehāniski rotējot pastāvīgo magnētu [68], gan elektroniski kontrolējot strāvu divos spoļu pāros [69]. Neapšaubāmi, otrā pieeja sniedz daudz plašāku lauka kontroles iespēju, sevišķi, ja iekārta tiek būvēta dažādu eksperimentu realizācijai. Tāpēc dotajā eksperimentālajā iekārtā magnētiskais lauks tiek iegūts ar četrām spolēm,

attēls 2.10., kuras nepieciešamības gadījumā var dzesēt ar ūdeni. Spoļu karkasi tika izgatavotas LU Fizikas institūtā par pamatu ņemot [70] darbā publicētos rasējumus. Katra spole satur 368 vijumus emaljēta 0,7 mm diametra vara vada.

Starp spolēm ir novietots rāmītis paraugam. Katrs spoļu pāris ir pieslēgts pie vadāmiem barošanas blokiem-pastiprinātājiem *Kepeco BOP 20-10M* [71], kuru izejas strāva tiek vadītā ar datorā iebūvētas multifunkcionālas datu uzkrāšanas kartes *National Instruments PCI-6289* palīdzību, tās analogās izejas pieslēdzot barošanas bloku-pastiprinātāju ieejām. Šis pastiprinātājs darbojas strāvas režīmā, kur 1V ieejas spriegumam atbilst 1A stipra strāva izejā.

Līdz šim veiktajos eksperimentos, magnētiskā lauka frekvence nepārsniedza 50 Hz, taču, domājams, ka šī frekvence var būt lielāka, ņemot vērā to, ka spoļu pāra induktivitāte ir tikai 2,6 mH un pretestība 4,3 Ω . Eksperimentos ar feromagnētiskajām stīgām Zemes magnētiskā lauka vertikālās komponentes kompensēšanai tika izmantotas papildus spoles, tās rada magnētisko lauku perpendikulāri priekšmetgaldiņa plaknei. Darba ietvaros ir uzrakstītas programmas *Labview* vidē gan lauka kontrolei un sinhronizēšanai ar video datu nolasīšanu, gan nofilmētā materiāla attēlu apstrādei un lāzerpincetes kalibrēšanai.

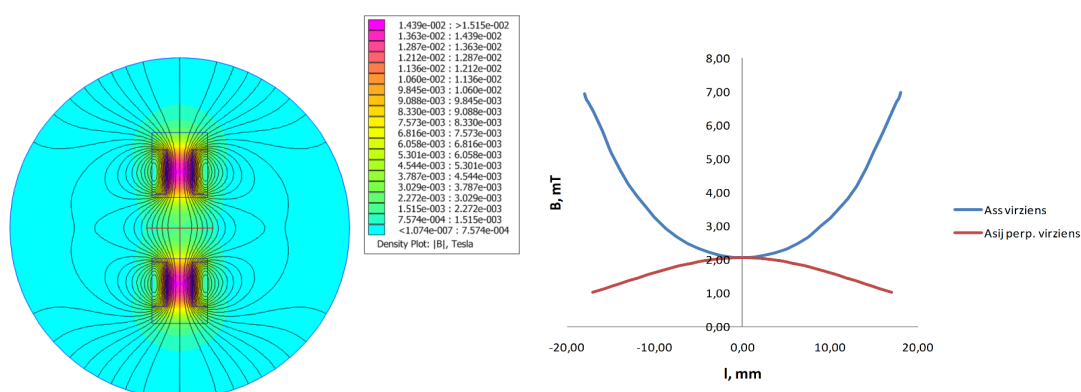


2.11. att.: Spoļu pieslēgšanas shēma pie barošanas blokiem-pastiprinātājiem.

Vairumā gadījumu, veicot datu apstrādi, bez apskatāmo objektu koordinātēm un orientācijas, ir nepieciešams zināt arī uzliktā magnētiskā lauka orientāciju. Šim nolūkam spoles tiek slēgtas virknē ar 0,1 Ω pretestībām, dati par sprieguma kritumu tajās tiek pievadīti mērkartes analogajām ieejām, tādējādi eksperimenta gaitā iespējams noskaidrot strāvu un līdz ar to magnētisko lauku jebkurā laika momentā. Spoļu pieslēgšanas shēma parādīta attēlā 2.11. Mērkarte un kadru

tvērējs savā starpā tiek sinhronizēti iekārtu līmenī, savienojot abas kartes ar speciālu šim nolūkam paredzētu *RTSI* kabeli. Rezultātā videofilmas laika skala un nomērīto datu laika skala ir ar kopīgu atskaites punktu.

Analogās videokameras gadījumā, nebija iespējams veikt šādu sinhronizēšanu, tāpēc tika izgatavota iekārta, kas mērija strāvu spolēs un šo informāciju uzklāja virsū, no videokameras nākošā *PAL* standarta videosignālam. Iekārta tika izgatavota izmantojot mikrokontrolieri *Atmel Atmega8*.



2.12. att.: Ar programmu *FEMM* modelētais lauka blīvums starp divām spolēm (strāva 1A).

Ar programmu *FEMM* modelēts magnētiskais lauks starp divām spolēm redzams attēlā 2.12. Modelī tiek ņemta atbilstošā spoļu ģeometrija un 1A stipra strāva spolēs. Redzams, ka šis lauks nav homogēns, spoļu tuvumā tas ir pat 4 reizes lielāks kā pa vidu starp spolēm. Ja paraugs ir salīdzinoši neliels un atrodas centrā, tad var pieņemt, ka šis nehomogenitātes neietekmēs eksperimenta rezultātus, vēl jo vairāk, ja ņem vērā to, ka paši pētāmie objekti ir mikroskopiski. Ar Holla devēju, mērot lauka vērtības spoļu centrālajā daļā, tika noteikta lauka vērtības un strāvas attiecība - 1,8 mT/A, kas ir nedaudz mazāk kā aprēķināts ar programmu *FEMM*. Viens no iespējamajiem iemesliem šai atšķirībai ir iespējamie išslēgtie vijumi, kas var rasties spoļu tinumos izmantotā vada emaljas mehānisku bojājumu dēļ.

Kā tika minēts, spoļu pāra induktivitāte ir 2,6 mH un aktīvā pretestība 4,3 Ω , līdz ar to strāvas un arī magnētiskā lauka augšanas laiks ir 3 ms. Lai arī dotā laika vērtība ir daudz lielāka par barošanas bloku-pastiprinātāju strāvas augšanas laiku 18 μs (no iekārtas tehniskās specifikācijas), tā tāpat ir pietiekami maza, lai turpmāk aprakstītajos eksperimentos varētu pieņemt, ka magnētiskā lauka pārslēgšanās laiks ir neievērojami mazs.

Lai mikroskopu *Leica DMI3000 B* aprīkotu ar spolēm, tika veikta neliela mo-

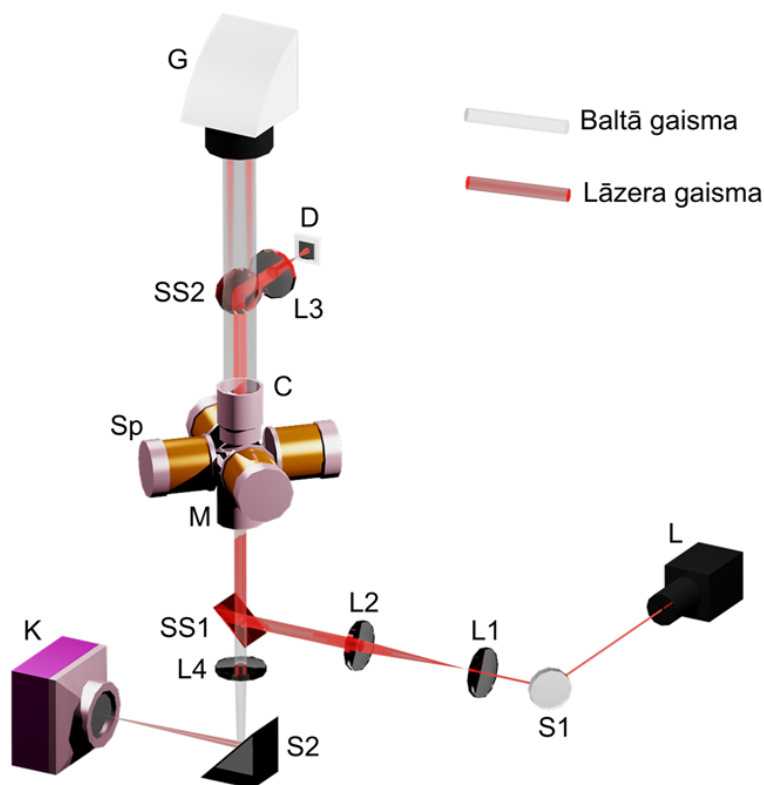
difikācija: tā kā paraugs jānovieto spoļu vidū, bet spoles atrodas uz mikroskopa priekšmetgaldiņa, tad lai objektīvs aizsniegtu paraugu, tas tiek papildus pacelts ar gredzena palīdzību par 22 mm. Dotais mikroskops darbojas pēc bezgalībā projicēta attēla sistēmas, tādēļ tas neatstāj iespaidu uz mikroskopa darbību, ja vien netiek izmantotas attēla kontrastēšanas metodes (att. 2.13.).



2.13. att.: Mikroskopa objektīva pacelšana.

Attēlā 2.14. redzama iekārtas konstrukcija uz mikroskopa *Leica DMI3000 B* bāzes. Lāzera stars tiek paplašināts izmantojot lēcas L1 un L2, tad atstarojoties no staru dalītāja SS1, tas nonāk mikroskopa objektīvā O, kas to safokusē, izveidojot pinceti paraugā starp spolēm Sp. Izkļiedēto lāzera gaismu savāc kondensors C. Staru dalītājs SS2 atstaro lāzera gaismu 90° leņķī un caur lēcu L3 tas nonāk pozīcijas detektorā D. Tā kā staru dalītāji SS1 un SS2 laiž cauri redzamo gaismu, bet 90° leņķī arstaro 99% lāzera viļņa garuma gaismu, tad mikroskopa funkcionalitāte pilnībā saglabājas - no gaismas avota G nākošā gaisma caur kondensoru C izgaismo paraugu, kuru mikroskopa objektīvs O attēlo ar videokameru K.

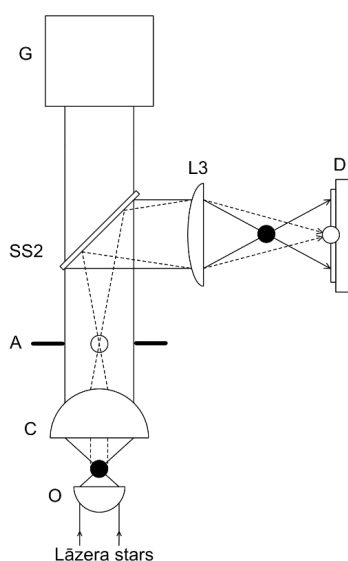
Iekārtā tiek izmantots *BWTEK BWR-50E* 1064 nm cietvielu (DPSS) lāzers ar jaudu 50 mW. Gaisma ar doto viļņa garumu absorbējas salīdzinoši mazāk, tāpēc vairumā lāzerpincešu tiek izmantoti lāzeri ar viļņa garumu infrasarkanajā spektra daļā, tas ir sevišķi aktuāli, ja paredzēts darboties ar dzīvjiem organismiem. Lāzera stars ir ar Gausa profilu un tā diametrs ir 1,3 mm. Tā kā mikroskopa objektīva atvērums ir 7,1 mm, tad pirms tam stars ir jāpaplašina. Lai pincete būtu efektīvāka staru paplašina nedaudz vairāk, tā lai tas pārklāj mikroskopa atvērumu par 10%, jo lāzera stara ārējā daļā staram ir neliela intensitāte un gradients arī ir salīdzinoši neliels. Lēca L1 ($f = 25$ mm) novietota 175 mm attāluma no lēcas L2 ($f = 150$ mm), kā rezultātā sākotnējais lāzera stars tiek paplašināts sešas reizes, sasniedzot diametru 7,8 mm. Staru dalītājs SS1 attiecībā pret lāzera staru ir novietots 45° leņķī un atstaro vairāk kā 99% 1064 nm gaismas, pagriežot lāzera staru par 90° . Taisnā



2.14. att.: Eksperimentālā iekārta. Sp - spoles magnētiskā lauka iegūšanai, G - gaismas avots, C - kondensors, M - mikroskopa objektīvs (NA = 1,3), L4 - tubusa lēca, K - videokamera, L - lāzers, S1 - spogulītis, L1 - stara paplašinātāja lēca ($f = 25$ mm), L2 - stara paplašinātāja lēca ($f = 150$ mm), SS1, SS2 - staru dalītāji ($R > 99\%$ @ 1064 nm, T HT, $\alpha = 45^\circ$), L3 - lēca ($f = 25$ mm) kondensora fokālās plaknes projicēšanai uz pozīcijas sensoru D.

virzienā caur staru dalītāju iziet 50% redzamās gaismas. Stara fokusēšanai tiek lietots eļļas immersijas objektīvs *Leica HCX PL FLUOTAR* ar skaitlisko apertūru 1,3. Par kondensoru parauga izgaismošanai un izkliedētās lāzera gaismas savākšanai, tiek lietots mikroskopa objektīvs ar skaitlisko apertūru 0,25. Staru dalītājs SS2 pēc parametriem ir identisks dalītājam SS1. Lēca L3 ($f = 25$ mm) novietota 100 mm attālumā no kondensora fokālās plaknes.

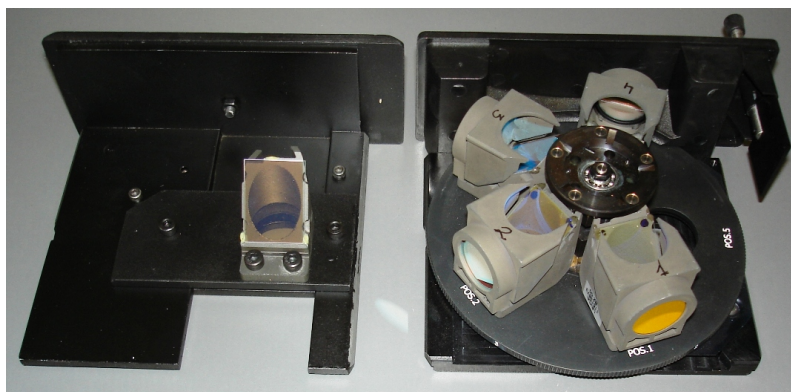
Pozīcijas detektors ir novietots tādā attālumā, lai uz tā veidotos nevis parauga attēls, kura plaknē ir arī lāzerpincete, bet gan kondensora aizmugurējās fokālās plaknes attēls (att. 2.15.) Saķertas daļiņas nobīde attiecībā pret lāzerpincetes fokusu izsauc daļiņā izkliedētās lāzera gaismas pagriešanos, kas kondensora aizmugurējā fokālajā plaknē attēlojas kā pārvietojums. Rezultātā detektors reģis-



2.15. att.: Detektora optiskā shēma. Nepārtrauktās līnijas un pilnie riņņi apzīmē staru gaitu, kas krusto parauga plakni un tās attēlus. Pārtrauktās līnijas un tukšie apli apzīmē staru gaitu, kas krusto objektīva O un kondensora C aizmugurējo fokālo plakni A un tās attēlus.

trē interferences ainu starp daļiņā uz priekšu izkliedēto un neizkliedēto gaismu. Dotajā gadījumā sensors ir jūtīgs tikai pret daļiņas relatīvo novietojumu attiecībā pret lāzera stara asi. Tas ir svarīgi, ja izmantojot akusto-optisko noliecēju, lāzera stars tiek pārvietots pa paraugu. Daļiņas pārvietošanās z ass virzienā arī var tikt reģistrēta ar pozīcijas detektoru - lodītei novirzoties pa z asi proporcionāli mainās uz detektoru krītošās gaismas intensitāte. Taču virzienu pa z asi, kurā lodīte ir novirzījies, šādi reģistrēt nevar.

Kopā ar lēcu L3 ietvarā ir ievietots filtrs, kas aiztur redzamo, bet cauri laiž tikai infrasarkano gaismu. Par pozīcijas detektoru visbiežāk izmanto kvadrant-fotodiodes vai divas pozīcijas diodes, kas ir vairāk piemērotas lāzerpincetei ar infrasarkano lāzeri [55]. Iekārtās ir izmantoti abi pozīcijas detektoru tipi. Pozīcijas detektora modulis ar kvadrantfotodiodes QD7-5T un pastiprinātājiem tika izgatavots laboratorijā, bet pozīcijas detektors *Pacific-Sensor DL100-7PCBA3* ar pozīcijas diodes tika iegādāta gatava moduļa veidā - uz platītes atrodas gan sensors, gan summējošie un diferencējošie pastiprinātāji. Pēdējais modulis dod pozīcijas signālus X un Y , kas atbilst koordinātēm un signālus X_{SUM} un Y_{SUM} , kas atbilst kopējai gaismas intensitātei pa atbilstošajām asīm. Signāli X un Y ir atkarīgi no gaismas intensitātes, tāpēc, ja uz sensoru krītošās gaismas intensitāte ir mainīga, izejas signāli ir jānormalizē, tas tiek darīts ārpus sensora moduļa, veicot signālu

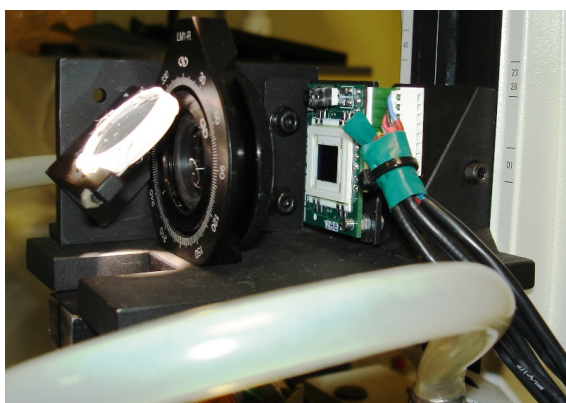


2.16. att.: Turētājs staru dalītājam, kas aizvieto oriģinālo filtru revolveri.

matemātisko apstrādi pēc analoģu-ciparu pārveidotāja. Normalizēti koordinātu signāli ir: $x = X / -X_{SUM}$; $y = Y / Y_{SUM}$.

Izmantotais mikroskops ir ar fluorescences aprīkojumu. Parasti šāda tipa mikroskopiem lāzera staru pievada caur fluorescences paredzētā UV gaismas avota pieslēgumvietu. Šajā gadījumā atliek fluorescences filtra vietā ievietot staru dalītāju. Dotajā darbā izmantotajam mikroskopam UV gaismas avots tiek pieslēgts mikroskopa aizmugurē esošai pieslēgumvietai ar lokanu gaismas vadu, līdz ar to pieslēgumvieta ir maza diametra un satur papildus lēcas, tāpēc lāzera stara pievadīšanai nav izmantojama. Lāzera stars šajā gadījumā tiek pievadīts caur mikroskopa sānā esošo kontroles lodziņu, kas atrodas šķērsām UV filtram. Lai lāzera staru novirzītu uz mikroskopa objektīvu no šī leņķa, tika izgatavots speciāls turētājs, kas aizstāj fluorescences filtra revolveri (att. 2.16.).

Izkliedētā lāzera gaismas savākšanai izmanto kondensoru ar lielu skaitlisko



2.17. att.: Kondensora turētājs ar staru dalītāju un pozīcijas detektoru.

apertūru. Lielākas apertūras kondensori ir jānovieto ļoti tuvu paraugam, tāpēc dēļ apsvērumiem, ka spoles traucēs to novietot nepieciešamajā attālumā, kondensors tika aizstāts ar mikroskopa objektīvu, kas nostiprināts tam speciāli izgatavotā turētājā. Šāda kondensora darba attālums ir 5 mm. Kondensora un turētāja izmēri ir daudz kompaktāki un ļauj tos brīvi novietot vajadzīgajā attālumā. Papildus uz kondensora turētāja ir novietoti staru dalītājs SS2, lēca L3 un pozīcijas detektors (att. 2.17.).

Kā tika minēts apskata daļā, pirms veikt mērījumus ar lāzerpinceti, tā ir jānokalibrē. No kalibrācijas kļūš zināms lāzerpincetes stinguma koeficients α un priekš mazām daļiņas novirzēm x būs spēkā sakarība $F = -\alpha x$, kur F - spēks, kas darbojas uz daļiņu, ja to novirza no lāzerpincetes centra. Bez tam, tiks noteikta arī pozīcijas sensora jūtība. Ir vairākas lāzerpincetes kalibrēšanas metodes. Daļā no tām ir jāizmanto papildus aprīkojums, akusto-optiskais stara noliecējs vai precīzais priekšmetgaldiņš ar pjezopievadu. Dotajā darbā tiek izmantots vienkāršākais un plašāk lietotais lāzerpincetes stinguma koeficienta noteikšanas paņēmieni - spektrālā metode. Tās priekšrocība ir, ka kalibrēšanu var veikt vienīgi izmantojot pozīcijas detektoru. Tādēļ priekšroka tika dota šai metodei, kas balstās uz zināma izmēra ar pinceti satvertas lodītes termiskās kustības spektra analīzi.

Lāzerpincetei raksturīgā pozīcijas signāla spektra robežfrekvence, ko izmanto pincetes stinguma koeficienta noteikšanai, atkarībā no lāzera jaudas parasti ir robežās no 10 - 1000 Hz. Dotajā darbā lietotā lāzera jauda ir salīdzinoši maza, tāpēc robežfrekvences noteikšanai pietiek ar pozīcijas signāla spektru robežās no 0 līdz 10 kHz. No digitālas signālu apstrādes teorijas izriet, ka lai nodrošinātu doto joslas platumu analogu-ciparu pārveidotāja nolasīšanas, jeb diskretizācijas frekvencei ir jābūt vismaz divas reizes lielākai kā nepieciešamās frekvenču joslas maksimālajai frekvencei. Dotajā gadījumā nolasīšanas frekvence ir 25 kHz. Veicot signāla diskretizāciju ar frekvenci f_s nav iespējams atšķirt diskrētās vērtības sinusoīdai ar frekvenci f_0 un sinusoīdai ar frekvenci $f_0 + kf_s$ (piemēram, diskretizējot 16 kHz sinusoīdu ar diskretizācijas frekvenci 25 kHz, spektrā parādīsies neīsta sinusoīda ar frekvenci 9kHz), tāpēc pirms signāla diskretizēšanas, tas ir jāfiltrē, nogriežot frekvences, kas augstākas par $f_s/2$ (*antialiasing*) [72]. Iekārtā tiek lietots paštaisīts 8-kārtas zemo frekvenču filtrs, kas veic arī no pozīcijas detektora nākošo signālu pastiprināšanu (pielikums). Filtra robežfrekvence ir maināma robežās no 10 - 150 kHz ar soli 10 kHz. Atbilstoši augstāk minētajiem nosacījumiem, zemfrekvences filtra robežfrekvence ir iestatīta uz 10 kHz. Pozīcijas spektrs tiek iegūts ar ātrās Furjē transformācijas metodi, lietojot Hanninga logu. Bez tam,

tiek izmantota *Labview* ātrās Furjē transformācijas funkcijas iebūvētā iespēja vidējot spektru vairākiem mērījumiem. Dotajā gadījumā galīgais spektrs tiek iegūts vidējot piecus mērījumus.

3. nodala

Eksperimentu rezultāti un analīze

3.1. Superparamagnētisku stīgu liekuma noteikšana, to liekums atkarībā no jonu spēka

DNS molekulas, tajās esošo fosfātu grupu dēļ, ir lādētas negatīvi, tās satur divus lādiņus uz 1 bp (3,4 Å). DNS molekulai liecoties šie lādiņi atgrūžas, radot papildus elastību. Saskaņā ar esošo polielektrolītu ķēdīšu modeli [73, 74], ir sagaidāms, ka ar DNS izveidoto stīgu liekuma modulis būs atkarīgs no to saturošā šķīduma jonu spēka, jo šķīdumā esošie joni ekranēs lādiņus, ko satur DNS. Tas nozīmē, ka magnētiskajām stīgām ir jāklūst lokanākām, ja sāls koncentrācija šķīdumā palielinās un otrādi [75].

Ir izveidots matemātiskais modelis, kas apraksta šādus magnētiskos materiālus, tas balstās uz Kirhofa elastīgu stieņu teoriju. Paramagnētiskas stīgas enerģija sastāv no tā liekuma enerģijas, ko raksturo liekuma modulis C un mijiedarbības enerģijas ar ārējo magnētisko lauku [76]

$$E = \frac{1}{2}C \int \left(\frac{d\vartheta}{dl} \right)^2 dl - \frac{a^2(\mu - 1)^2}{8(\mu + 1)} H_0^2 \int \cos^2 \vartheta dl, \quad (3.1)$$

kur ϑ ir leņķis starp stīgas pieskares vektoru $\vec{t} = (\cos \vartheta, \sin \vartheta)$ un ārējo magnētisko lauku H_0 , a ir stīgu veidojošo daļiņu rādiuss, μ - magnētiskā caurlaidība. Stīgas aprakstošais enerģijas līdzsvara vienādojums (3.1) parāda, ka stīgas formu nosaka magnetoelastiskais skaitlis [76]:

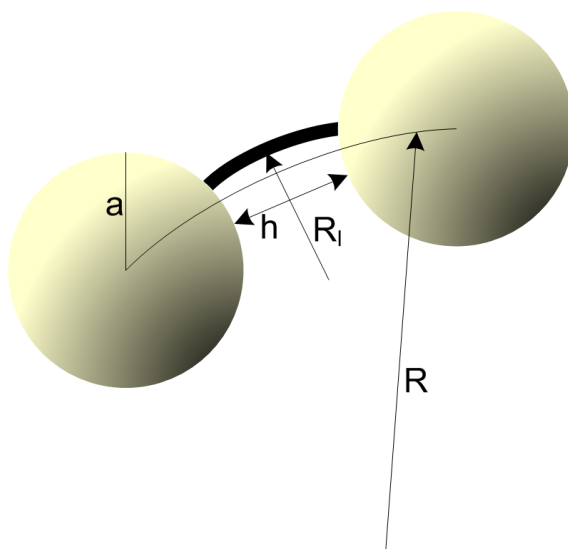
$$Cm = \frac{(\mu - 1)^2 a^2 H_0^2 L^2}{8C(\mu + 1)}, \quad (3.2)$$

kas izsaka magnētisko un elastisko spēku attiecību. No līdzsvara vienādojuma izriet, ka netriviālas stīgas konfigurācijas pastāv, ja Cm ir lielāks par kritisko vērtību $Cm_c = \pi^2/8$. Stīgas deformāciju var raksturot ar tās maksimālo liekumu $1/R_{min}$. Pietiekami garām magnētiskajām stīgām, ja $Cm > 8$ ir spēkā šāda asimptotiska sakarība:

$$\frac{L}{R_{min}} = \sqrt{2Cm}. \quad (3.3)$$

Tas nozīmē, ka stīgas maksimālais liekums ir tieši proporcionāls uzliktajam ārējam magnētiskajam laukam.

DNS saites liekuma rādiuss R_l starp divām daļiņām, kas atrodas attāluma h viena no otras, saistās ar visas stīgas liekuma rādiusu R kā $\frac{1}{R_l} = \frac{2a}{h} \frac{1}{R}$ [24] (att. 3.1.). Attiecīgi, stīgas liekuma modulis C saistās ar saites liekuma moduli C_b



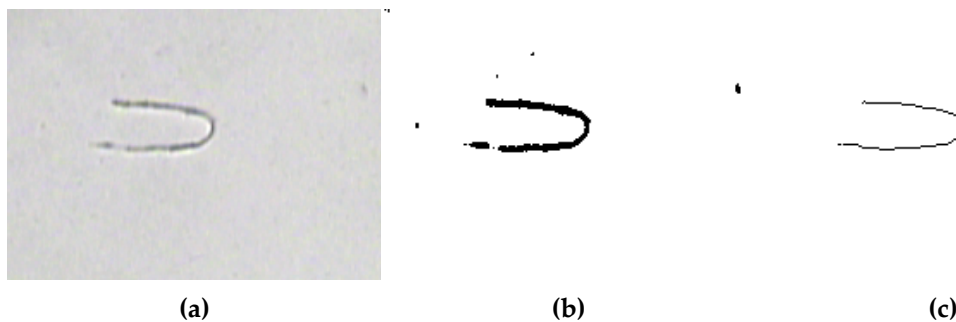
3.1. att.: Magnētiskas stīgas liekumā rādiusa sakarība ar stīgu veidojošās DNS saites liekuma rādiusu.

kā $C = \frac{2a}{h}C_b$. C_b var noteikt pareizinot vienas DNS molekulas liekuma moduli $k_B T l_p$ ar saiti veidojošo molekulu skaitu $\pi R_b^2 / l_a^2$, kur $l_a = 2,2$ nm - attālums starp streptavidīna saitēm (no ražotāja datiem) un $R_b = \sqrt{a l_p}$. Tad saskaņā ar lokanu polielektrolītu ķēdīšu modeli [73] iegūst:

$$C = k_B T \frac{2\pi a^2}{h l_a^2} \left(l_p^0 + \frac{l_B l_D^2}{4b^2} \right)^2. \quad (3.4)$$

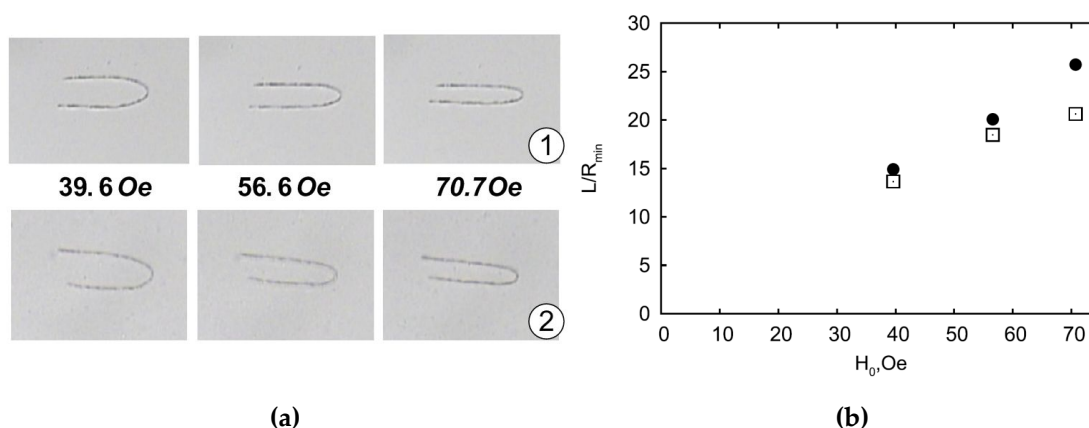
Šeit $l_p^0 = 50$ nm - DNS persistences garums, $l_B = e^2 / \epsilon k_B T$ - Bjerruma (*Bjerrum*) garums, $l_D = 0,3 / \sqrt{c}$ - Debaja garums priekš vienvērtīga sāls, $b = 0,17$ nm - attālums starp diviem elementārlādiņiem DNS molekulā.

Dotajā eksperimentā magnētiskās stīgas tika iegūtas sekojoša procesa rezultātā: 10 μ l 456 bp DNS ($c = 185 \mu\text{g/ml}$) fragmenti tiek atšķaidīti ar 30 μ l TE vai PBS buferšķīduma, tiek pievienots 1 μ l iepriekš mazgātu 500 nm superparamagnētisku daļiņu. Paraugš uz 10 minūtēm tiek ievietots homogēnā magnētiskajā laukā starp diviem neodīma magnētiem. Iegūtās magnētiskās stīgas tiek atšķaidītas ar 1 ml attiecīgā buferšķīduma. No iegūtā šķīduma tiek ņemti paraugi liekuma mērīšanai, pakāpeniski palielinot sāls koncentrāciju sākotnējā šķīdumā, to papildinot ar 5 M NaCl vai 5 M MgCl₂ šķīduma. Paraugi pētīšanai zem mikroskopa tiek izgatavoti ievietojot 10 μ l pētāmā šķīduma starp diviem mikroskopa segstikliņiem, kas atdalīti ar 0,028 mm biezu divpusējo līmlenti, kurai vidū ir izveidots 10 x 10 mm liels lodziņš.



3.2. att.: Attēlu apstrādes secība programmā *ImageJ*: (a) - sākotnējais attēls, (b) - attēls ar divām kontrastējošām krāsām, (c) - stīgas biezums tiek samazināts līdz vienam pikselim ar *f*-ju *skeletonize*.

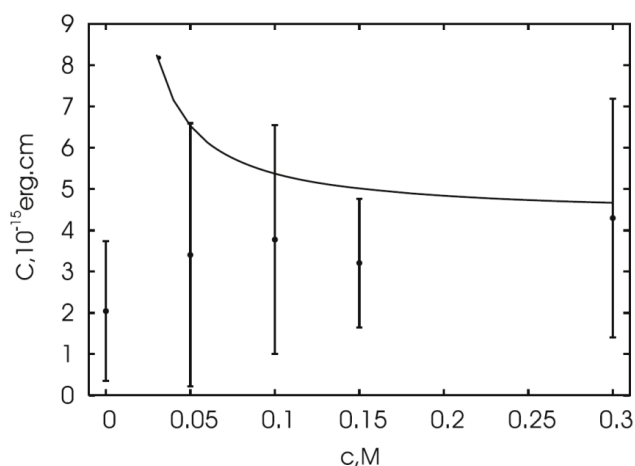
Magnētiskās stīgas tika novērotas izmantojot eksperimentālo iekārtu, kas izgatavota no mikroskopa *Reichert One-Fifty* ar 40X objektīvu un videokameras *JAI CV-S3200*. Katrai saliektajai stīgai tika uzņemti vairāki attēli, kas vēlāk tika apstrādāti ar programmu *ImageJ* (att. 3.2.) sekojoša veidā: attēla krāsas tiek samazinātas līdz divām kontrastējošām krāsām, liekās detaļas tiek izdzēstas, stīgas biezums tiek samazināts līdz vienam pikselim, iegūtās punktu kopas koordinātes tiek saglabāta failā tabulas veidā. Stīgu veidojošo punktu koordinātes tabulā nav secīgi atbilstošas stīgas punktiem, bet ir iegūtās secībā kā skenējot attēlu, tāpēc punkti tiek pārkārtoti secīgi attiecībā pret kādu no stīgas galiem (C++ programma). Stīgu attēlojošie punkti tiek nogludināti un tiem tiek aprēķināts liekums,



3.3. att.: U-veida nestabilitāte 90 μm un 85 μm garām stīgām (a) un to liekumu atkarība no magnētiskā lauka (b): 39,6 Oe, 56,6 Oe, 70,7 Oe. Pilnie aplīši atbilst stīgai (1), tukšie kvadrāti - stīgai (2) [75].

izmantojot programmu *Mathematica*.

Attēlā 3.3. redzamas U-veidā saliektas 85 μm un 90 μm garas magnētiskas stīgas dažādas intensitātes magnētiskajos laukos un to maksimālo liekumu atkarība no magnētiskā lauka intensitātes. Šādā veidā izliektas stīgas iegūst strauji pārslēdzot magnētisko lauku perpendikulāri sākotnēji taisnai stīgai uzliktajam laukam. Dotās darbības rezultātā, stīga bieži nevis iegūst U-veida, jeb matadatas formu, bet pagriežas jaunā lauka virzienā, saglabājot izstieptu formu. Šis novērojums atbilst skaitlisku eksperimentu novērojumiem [76]. Tādā gadījumā procedūra tiek atkārtota, līdz izdodas iegūt vajadzīgās formas stīgu. U-veidā saliektu stīgu iegūšanai tiek izmantots magnētiskais lauks ar intensitāti 70,7 Oe, kas vēlāk tiek samazināts līdz 40 Oe.

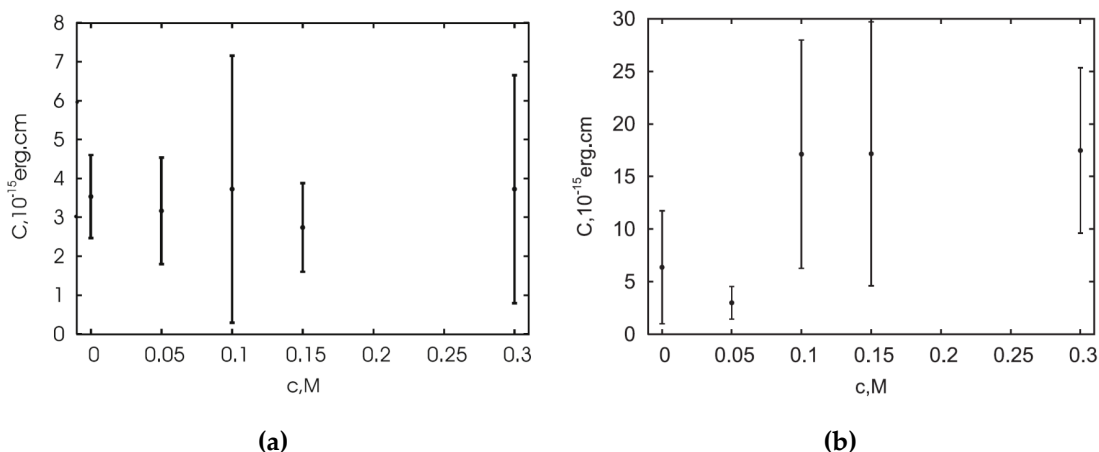


3.4. att.: Magnētisku stīgu liekuma modulis atkarībā no NaCl sāls koncentrācijas TE buferī (pH = 8,0) [75].

Rezultāti par NaCl sāls TE buferšķīdumā ietekmi uz magnētisku stīgu liekumu redzami att. 3.4. Grafikā redzamā teorētiskā līkne iegūta atbilstoši izteiksmei (3.4), pieņemot, ka DNS persistences garums pie lielām sāls koncentrācijām ir 50 nm, $h = 30$ nm un $l_a = 5,5$ nm. No dotā grafika redzams, ka dotajā sāls koncentrāciju diapazonā nav novērojama atkarība no sāls koncentrācijas, kā tas būtu sagaidāms no grafikā atliktās teorētiskās līknes. Grafikā atliktās eksperimentālo datu lielās kļūdu robežas izskaidrojamas ar to, ka pētāmo stīgu skaits bija neliels un katra stīga pati par sevi ir ar unikālām īpašībām.

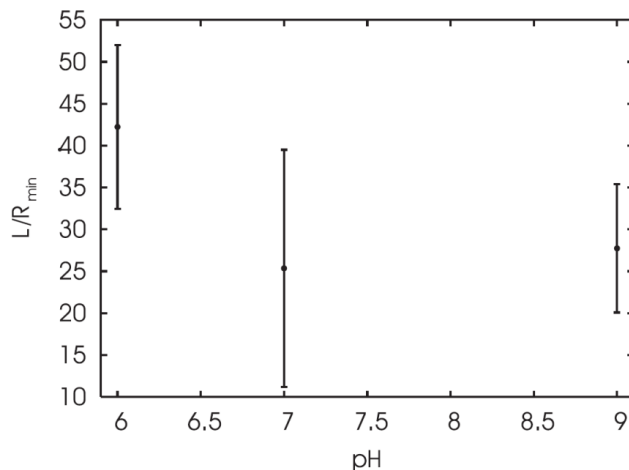
Attēlā 3.5. parādīta divvērtīga sāls MgCl_2 ietekme uz magnētisko stīgu liekuma moduli PBS un TE buferšķīdumos. Arī šoreiz atkarība no sāls koncentrācijām attiecīgajos buferšķīdumos praktiski nav novērojama. Tomēr interesanta ir liekumu moduļu atšķirība stīgu liekuma moduļiem starp šiem buferšķīdumiem.

3.1. Superparamagnētisku stīgu liekuma noteikšana, to liekums atkarībā no jonu spēka



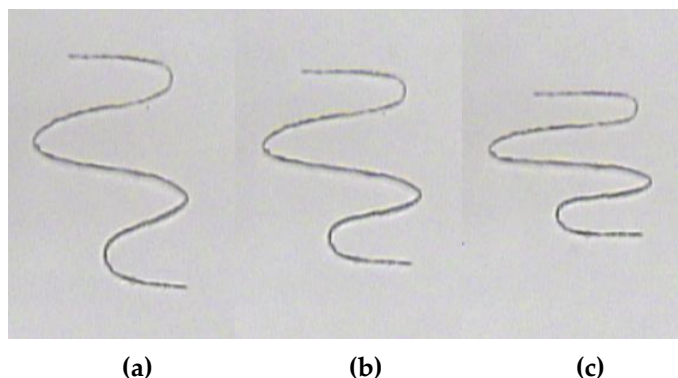
3.5. att.: Magnētiskas stīgas liekuma modulis atkarībā no MgCl_2 koncentrācijas (a) - TE (pH = 7,3) un (b) - PBS (pH = 7,5) buferī [75].

Redzams, ka liekuma modulis PBS buferšķīdumā pie līdzīga MgCl_2 koncentrāciju diapazona ir apmēram piecas reizes lielāks kā liekuma modulis TE buferšķīduma gadījumā.



3.6. att.: Maksimālā liekuma atkarība no pH ($H_0 = 40,8 \text{ Oe}$) [75].

Lai noskaidrotu pH ietekmi uz stīgu liekuma moduli tika veikti eksperimenti, kur stīgas tika sagatavotas TE buferšķīdumā, ar dažādām pH vērtībām. Šīs pH vērtības tika iegūtas atšķaidot TE ar sākotnējo pH vērtību 7,5 ar NaOH un HCl, rezultātu kontrolējot ar pH-metru, tādējādi iegūstot buferšķīdumus ar pH vērtībām 6,0; 7,0; 9,0. No grafika attēlā 3.6. redzams, ka pH ietekmē filamentu maksimālo liekuma moduli.



3.7. att.: Liekuma nestabilitāte 205 μm garai stīgai magnētiskajā laukā 39,6 Oe (a), 56,6 Oe (b), 70,7 Oe (c).

Dažos gadījumos tika novērots, ka ļoti garas stīgas (att. 3.7.), veicot to saliekšanas procedūru U-veidā, var izveidot vairāk kā vienu U-veida liekumu. Dotajā gadījumā, redzams, ka ir izveidojušies četri U-veida liekumi. Mainoties magnētiskā lauka intensitātei attiecīgi mainās arī šo četrus liekumu rādiusi.

Iegūtie eksperimentālie rezultāti parādīja, ka pie izvēlētajām sāls koncentrācijām ir novērojama vāja magnētisko stīgu liekuma moduļa atkarība no sāls koncentrācijām. Tomēr ir novērojama liekuma moduļa maiņa izmantojot dažādus buferšķīdumus un buferšķīdumu ar dažādām pH vērtībām. Diemžēl, nav īsti skaidra DNS saišu veidošanās. Aplūkotajā modelī attālums starp saitveidošajām DNS ir samērojams ar pašu DNS molekulu diametru, iespējams, ir nepieciešams izstrādāt precīzāku modeli, kas aprakstītu DNS visu saišu kopumu. Lietderīgi būtu arī atkārtot mērījumus pie zemākām sāls koncentrācijām, kā arī sagatavot magnētiskās stīgas jau noteiktas koncentrācijas sāls šķīdumā, nevis tās atšķaidīt ar sāls šķīdumu pēc iegūšanas, kā tas bija darīts aprakstītajos eksperimentos.

3.2. Feromagnētisku stīgu īpašības ārējā magnētiskajā laukā

Feromagnētisku stīgu matemātiskā modeļa pamatā ir Kirhofa elastīga stieņa modelis. Stīgas enerģija, kurā ir iekļauts arī magnētiskās enerģijas loceklis un kur ir pieņemts, ka dipolu mijiedarbības dēļ magnētiskais loceklis ir vērsts lokālās pieskares virzienā, izsakās sekojoši:

$$E = \frac{C}{2} \int \frac{1}{R^2} dl - \int MH\vec{h} \cdot \vec{t} dl - \int \Lambda(l) dl, \quad (3.5)$$

kur R ir stieņa centra līnijas liekuma rādiuss, C - liekuma modulis, M - stieņa magnetizācija uz garuma vienību, \vec{t} - stīgas centra līnijas pieskare un $\Lambda(l)$ - Lagranža reizinātājs, kas nosaka stīgas neizstiepiamību. Šis modelis parāda, ka feromagnētiskas stīgas, ar garumu $2L$, statiskās īpašības nosaka magnetoelastiskais skaitlis

$$Cm = \frac{MHL^2}{C}. \quad (3.6)$$

Stīgas centra maksimālam lielumam ir spēkā sakarība:

$$\left(\frac{L}{R}\right)_{max} = 2 \sin\left(\frac{\vartheta_m}{2}\right) \sqrt{Cm}, \quad (3.7)$$

kur ϑ_m - pieskares leņķis stīgas brīvajiem galiem.

Matemātiskā modelēšana parāda [77], ka pie straujas magnētiskā lauka pārslēgšanas pretējā virzienā feromagnētisku stīgu pagriešanās var notikt divos režīmos - stīga var izliekties U-veida vai S-veida formā. Šos režīmus nosaka gan magnetoelastiskais skaitlis, gan sākotnējie nosacījumi. Relaksācija S-veida režīmā var notikt jebkurā gadījumā, un Cm pakāpeniska samazināšanās tad noved no stīgas izteiktas S-veida formas pie cietas adatas rotācijas magnētiskā lauka virzienā. Ja magnetoelastiskais skaitlis ir lielāks par kritisko vērtību $\pi^2/4$, tad ir iespējams arī režīms, kur stīga, pagriežoties lauka virzienā, pieņem U-veida formu. Veicot eksperimentus ar feromagnētiskajām stīgām, tika konstatēts, ka garāku feromagnētisku stīgu gadījumā U-veida relaksācija attīstās uz cilpas izveidošanos ar īpašu relaksācijas veidu.

Darbā [78] tika parādīts, ka interesantas feromagnētisku stīgu īpašības ir novērojamas, ja stīga tiek ievietota mainīgā magnētiskajā laukā. Pie mainīgā lauka frekvences ω , kas ir lielāka par stīgas raksturīgo apgriešanās laiku, stīga nostājas

perpendikulāri uzliktā mainīgā lauka plaknei ar ātrumu, kas proporcionāls H^2 . Feromagnētiskas stīgas vidējā enerģija mainīgā magnētiskajā laukā izsakās kā

$$E = \frac{2C(Cm)^2\chi_1(\omega\tau)}{L}(\vec{h} \cdot \vec{t})^2. \quad (3.8)$$

Šeit χ_1 raksturo stīgas elastisko reakciju atkarībā no elastiskā relaksācijas laika $\tau = \zeta L^4/C$, kur $\zeta = 4\pi\eta$ - stīgas rotācijas berzes koeficients uz garuma vienību. No (3.8) seko, ka vidējo stīgas orientācijas leņķi β apraksta vienādojums:

$$\frac{2\zeta L^3}{3} \frac{d\beta}{dt} = \frac{2C(Cm)^2\chi_1}{L} \sin(2\beta). \quad (3.9)$$

Izmantojot šo vienādojumu, var ieviest raksturīgo relaksācijas laiku $\tau = b^{-1}$, kur $b = 6C(Cm)^2\chi_1/\zeta L^4$. No vienādojuma (3.9) seko, ka orientācijas leņķis β atkarībā no laika izsakās kā:

$$\beta = \arctan(\tan(\beta_0)e^{bt}). \quad (3.10)$$

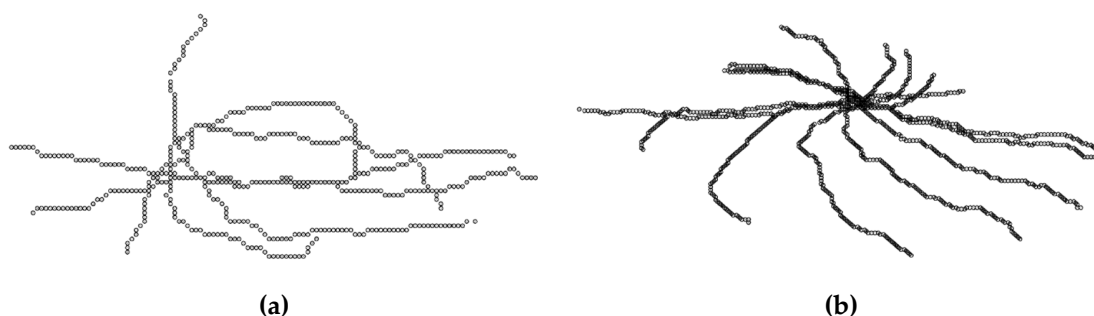
Eksperimentiem nepieciešamās feromagnētiskās stīgas tika iegūtas atšķaidot 20 μl 1000 bp garus DNS ($c = 200\mu\text{g/ml}$) ar 20 μl TE buferšķīduma, tad pievienojot 20 μl 4,26 μm feromagnētisku daļiņu. Paraugs uz 3 minūtēm tiek ievietots homogēnā magnētiskajā laukā starp diviem neodīma magnētiem. Lai mērījumu veikšanas laikā izslēgtu stīgu savstarpēju mijiedarbību, paraugs tiek atšķaidīts ar 1 ml TE buferšķīduma. Paraugi pētīšanai zem mikroskopa tiek izgatavoti ievietojot 20 μl pētāmā šķīduma starp diviem mikroskopa segstikliņiem, kas atdalīti ar divām kārtām 0,028 mm biezas divpusējās līmlentes, kam vidū ir izveidota 10 x 10 mm atvere. Feromagnētiskās stīgas tika novērotas izmantojot eksperimentālo iekārtu, kas izveidota no mikroskopa *Reichert One-Fifty* ar 40X objektīvu un videokameru *JAI CV-S3200*.

No pirmajiem novērojumiem tika konstatēts, ka iegūtās feromagnētiskās stīgas orientējas Zemes magnētiskā lauka virzienā. Tā kā stīgas ir brīvi peldošas un spējīgas orientēties trijās dimensijās, tad tās nostājas gandrīz vertikāli ar nelielu novirzi ziemeļu-dienvidu virzienā. Tas izskaidrojams ar to, ka mūsu platuma grādos magnētiskā lauka vertikālā komponente ir lielāka par horizontālo (Rīgā horizontālā magnētiskā lauka komponente ir 16,4 μT , vertikālā - 48,5 μT). Lai minimizētu dotā lauka efektu ap paraugu tika izveidoti 4 vada vijumi, kas kompensē vertikālo Zemes magnētiskā lauka komponenti, ja tajos plūst 0,51 A liela strāva. Horizontālā komponente tika kompensēta padodot parauga plaknē lauku radošajām spolēm nelielas nobīdes strāvas - 30 mA un 25 mA. Kompensējošo

strāvu vērtības tika piemēklētas gan mērot magnētisko lauku parauga vietā ar Holla devēju, gan veicot feromagnētisko stīgu novērojumus.

3.2.1. Feromagnētisko stīgu nestabilitāte pēc straujas ārējā lauka virziena maiņas

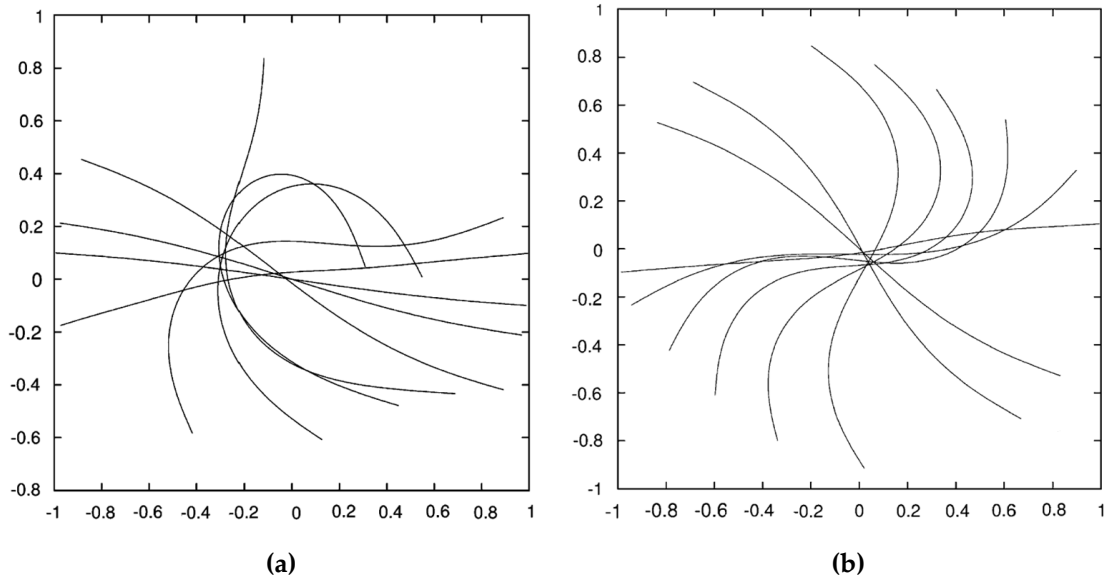
Pirmajā eksperimenta daļā tika uzņemtas attēlu sērijas, kur pēc magnētiskā lauka straujas pārslēgšanas pretējā virzienā feromagnētiskas stīgas veic pagriešanos par π rad. No nofilmētā materiāla tika izdalīti divi pagriešanās režīmi, tajos stīga pagriežoties deformējas pieņemot U-veida vai S-veida formu. Iegūtās attēlu sērijas tika apstrādātas ar programmu *ImageJ*, veicot pāreju uz divām krāsām un samazinot stīgu biezumu līdz vienam pikselim, tā rezultātā tika iegūtas un saglabātas stīgai atbilstošās punktu kopas.



3.8. att.: Feromagnētiskas stīgas pagriešanās pēc lauka pārslēgšanas. (a) - U-veida relaksācijas režīms kā laika funkcija: 0,16; 0,2; 0,24; 0,28; 0,32 s. (b) - S-veida relaksācijas režīms kā laika funkcija: 0,08; 0,16; 0,24; 0,32; 0,4; 0,56; 0,64 [77].

Attēlā 3.8. redzami $49\ \mu\text{m}$ un $62\ \mu\text{m}$ garu feromagnētisku stīgu relaksācijas režīmi, attiecīgi, 28,8 Oe un 20,0 Oe stiprā magnētiskajā laukā pēc datu apstrādes. Dotajos attēlos parādītā stīgas relaksācija dažādos laika intervālos, kas uzklāti virsū viens otram (laika intervālu vērtības norādītas pie attēla). Skaitliskā simulācija (att. 3.9.), kur sākotnējās konfigurācijas tika izvēlētas atbilstoši eksperimentos novērotajām, parāda labu savstarpējo atbilstību ar eksperimentālajiem novērojumiem. Šeit var piezīmēt, ka magnētiskā lauka pārslēgšanās laiks (skat. nodaļu 2.2.) ir daudz mazāks par raksturīgo stīgas pagriešanās laiku, tādējādi var pieņemt, ka lauka pārslēgšanās notiek momentāni.

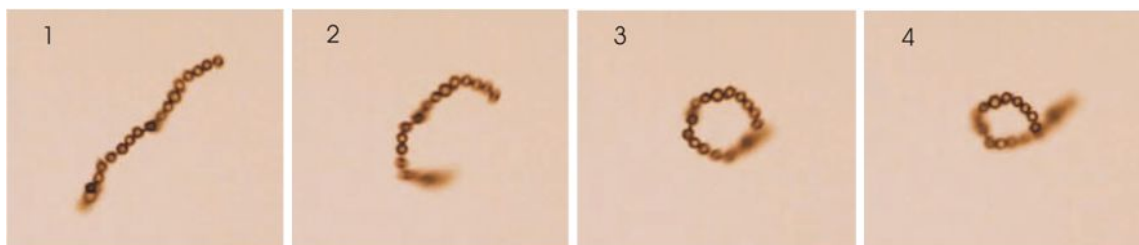
Kā jau tika minēts nodaļā 2.1, pastāv problēmas garu feromagnētisku stīgu iegūšanā, tāpēc sākumā tika aplūkotas relatīvi īsākas stīgas, kuras veidojās pir-



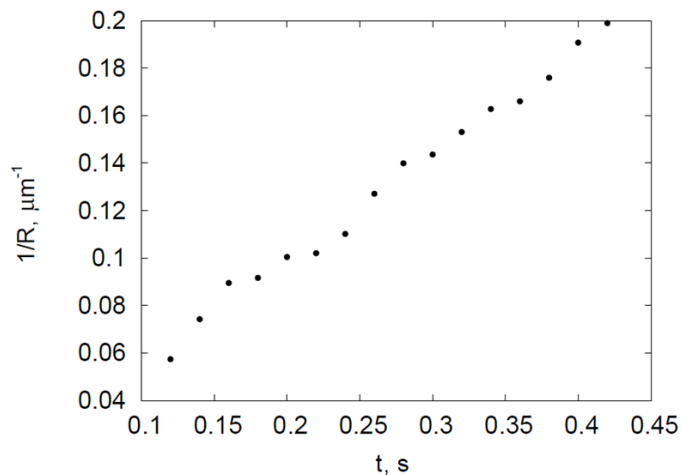
3.9. att.: Feromagnētiskas stīgas pagriešanās skaitliska simulācija. (a) - U-veida relaksācijas režīms kā bezdimensionāla laika funkcija (laiks: 0,00028; 0,028; 0,056; 0,083; 0,111; 0,139; 0,167; 0,194). (b) - S-veida relaksācijas režīms kā bezdimensionāla laika funkcija (laiks: 0,00028; 0,014; 0,028; 0,042; 0,056; 0,07; 0,097; 0,111) [77].

majos stīgu sintēzes eksperimentos. Tomēr radās pamatots jautājums, kāda būtu relaksācija garākām stīgām pēc lauka inversijas? Domās pagarinot stīgu, kurai pie lauka inversijas relaksācija notiek caur U-veida formu, jāsecina, ka, visticamāk, stīga izveidos cilpu. Pēc sekmīgas garāku stīgu iegūšanas, tika atkārtoti eksperimenti ar stīgu nestabilitāti, strauji pārslēdzot magnētisko lauku pretējā virzienā un tika novērota cilpas veidošanās..

Attēlā 3.10. redzamas feromagnētiskas stīgas konfigurācijas dažādos laika



3.10. att.: Cilpas veidošanās un izgriešanās caur trešo dimensiju pie magnētiskā lauka inversijas. Laiks (1) - 0 s; (2) - 0,1 s; (3) - 0,16 s; (4) - 0,28 s. Magnētiskais lauks $H = 180$ Oe, stīgas garums $2L = 88,5 \mu\text{m}$ [79].

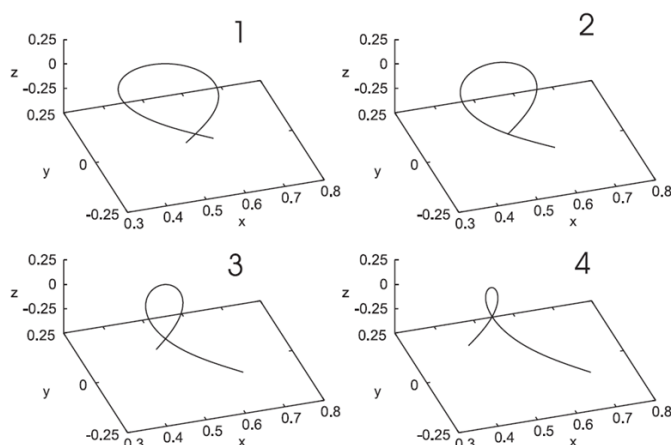


3.11. att.: Stīgas projekcijas liekums, tai veidojot cilpu un relaksējoties [79].

momentos pēc magnētiskā lauka pārslēgšanas pretējā virzienā, parādot cilpas veidošanās dinamiku. Interesanti ir tas, ka stīga pēc cilpas veidošanās relaksē, izejot ārpus plaknes, ko sākotnēji veidoja cilpa.

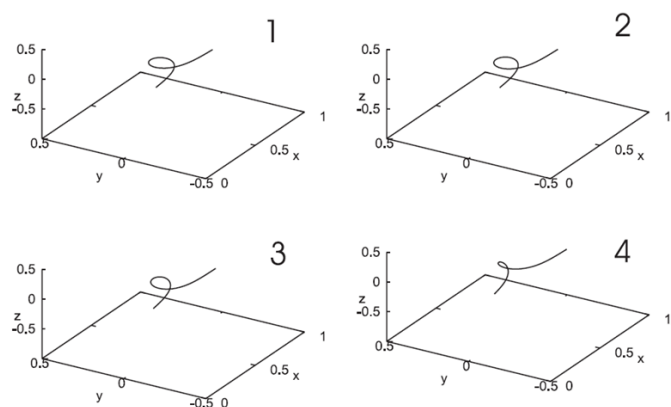
Attēlā 3.11. redzams stīgas projekcijas liekums (koriģēts, pareizinot ar L_p/L_0 , kur L_p ir cilpas projekcijas garums, L_0 - cilpas garums) atkarībā no laika [79]. No cilpas veidošanās secības attēlā 3.10., redzams, ka cilpa pilnībā ir izveidojusies trešajā kadrā, tas atbilst, laika momentā 0,2 - 0,25 s redzamajam nelielajam plato (att. 3.11.). Dotajā brīdī stīga atrodas metastabilā stāvoklī, ideālā gadījumā - bezgalīgi tieva stīga šādā stāvoklī varētu atrasties ļoti ilgi. Taču reāla stīga ar noteiktu biezumu, kad tās gali krustojas, veidojot cilpu, metastabilā stāvoklī atrodas tikai neilgu laiku. Dotajam laika intervālam atbilstošais liekums ir $1/R = 0,1 \mu\text{m}^{-1}$. Aplūkotās feromagnētiskās stīgas garums ir $88,5 \mu\text{m}$ no kā seko, ka parametrs $L/R = 4,425$, kas saskaņā ar (3.7) dod vērtību priekš $Cm = 6$. Tagad no (3.6) ir iespējams noteikt stīgas liekuma moduli C . Aprēķinam nepieciešamo daļiņu magnetizāciju M iegūst no nomērītās feromagnētisko daļiņu magnetizācijas līknes (att. 2.8.), kas magnētiskajā laukā ar intensitāti $H < 200 \text{ Oe}$ dod daļiņas magnētiskā momenta vērtību $m = 1,4 \cdot 10^{-10} \text{ emu}$. Attiecīgi, magnetizācija $M = m/d = 3,3 \cdot 10^{-7} \text{ emu}$. Kā rezultātā, iegūtā liekuma moduļa vērtība ir $C = 1,9 \cdot 10^{-10} \text{ erg}\cdot\text{cm}$.

Attēlā 3.12. parādīti skaitliskās simulācijas rezultāti [79], kurā ir izmantota iepriekš noteiktā magnetoelastiskā skaitļa $Cm = 6$ vērtība. Redzams, ka kvalitatīvi stīgas uzvedība stipri līdzinās eksperimentālajiem novērojumiem - pēc garāka metastabila cilpas stāvokļa stīga diezgan ātri relaksē uz taisni, "izgriežoties" caur



3.12. att.: Cilpas relaksācijas dinamikas skaitliskā simulācija, ja $C_m = 6$ [79].

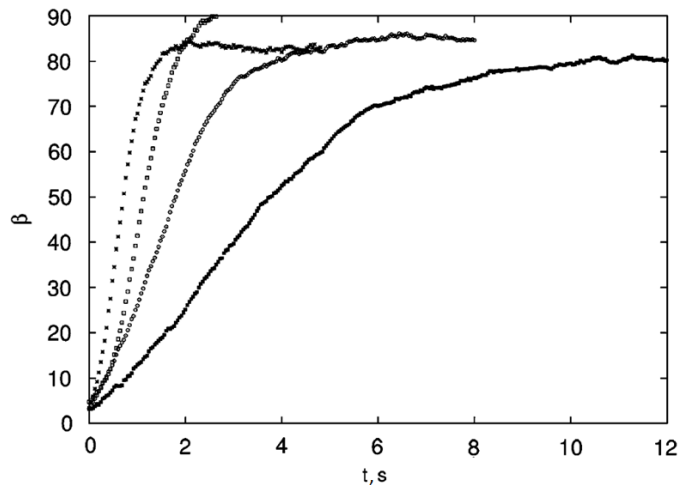
trešo dimensiju. Ja skaitliskajā simulācijā izmanto lielāku magnetoelastiskā skaitļa vērtību - $C_m = 25$ (att. 3.13.), tad parādās kvalitatīvi cita aina, kurā cilpas liekuma rādiuss ir daudz mazāks. Tas pamato eksperimentāli noteiktā magnetoelastiskā skaitļa $C_m = 6$ vērtību. Jāpiezīmē, ka lai no feromagnētiskās stīgas izveidotā cilpa izietu no metastabilā stāvokļa un relaksācija varētu attīstīties, skaitliskajā simulācijā ir ieviesta sākotnēja perturbācija.



3.13. att.: Cilpas relaksācijas dinamikas skaitliskā simulācija, ja $C_m = 25$ [79].

3.2.2. Feromagnētiskas stīgas mainīgā magnētiskajā laukā

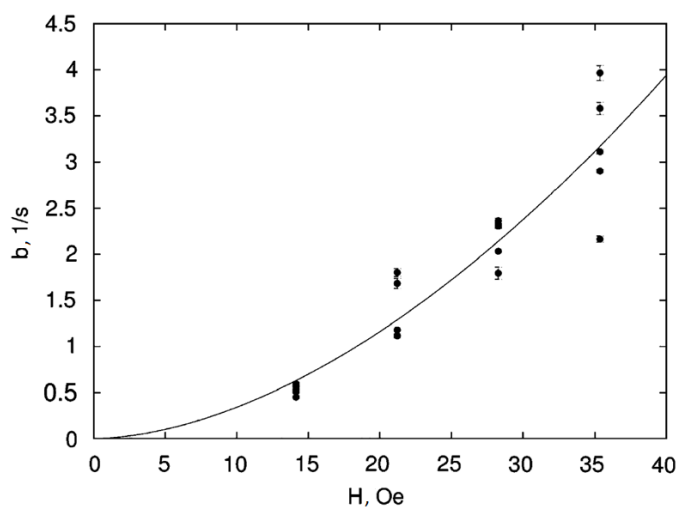
Attēlu sērijas, kur redzama feromagnētisko stīgu pagriešanās perpendikulāri uzliktam mainīgam ārējam magnētiskajam laukam, ja lauka svārstību periods ir mazāks par stīgas raksturīgo pagriešanās laiku, tika uzņemtas eksperimenta



3.14. att.: 31 μm garas feromagnētiskas stīgas orientācijas leņķis atkarībā no laika, magnētiskajā laukā ar svārstību frekvenci 50 Hz pie dažādām lauka intensitātes amplitūdām: pilnie apli - 14 Oe, tukšie apli - 21 Oe, tukšie kvadrāti - 28 Oe, krusti - 35 Oe [77].

otrajā daļā.

31 μm garas feromagnētiskas stīgas orientācijas dinamikas līknes 50 Hz frekvences, bet dažādas intensitātes magnētiskajos laukos ir parādītas attēlā 3.14. No līknēm redzams, ka stīgas pagriešanās ātrums perpendikulāri uzliktajam mainīgajam magnētiskajam laukam ir atkarīgs no magnētiskā lauka amplitūdas - pagriešanās norit straujāk, ja lauka amplitūda ir lielāka. Aproximējot šos datus ar vienādojumu (3.10) iegūst apgrieztā relaksācijas laika atkarību no magnētiskā lauka intensitātes (att. 3.15.). Iegūtajiem punktiem var meklēt atkarību no pakāpes likuma aH^x . Aproximēšana ar pakāpes funkciju dot sekojošas pakāpes funkcijas parametru vērtības: $a = 0,06$ un $x = 1,76$. Redzams, ka pakāpes rādītājs 1,76 ir tuvs teorētiski paredzētajai atkarībai H^2 . No reizinātāja a var noteikt stīgas liekuma moduli, kā rezultātā iegūst $C = 9 \cdot 10^{-13}$ erg·cm. Feromagnētiskajai stīgai ar garumu 31 μm un magnētizāciju $m = 3,3 \cdot 10^{-7}$ emu, kas noteikta no feromagnētisko daļiņu magnetizācijas līknes (att. 2.8.), 28 Oe stiprā magnētiskajā laukā, un iepriekš noteikto liekuma moduli dod magnetoelastisko skaitli $Cm \cong 25$. Kā redzams, dotā magnetoelastiskā skaitļa Cm vērtība nesaskan ar iepriekš, no cilpas relaksācijas noteikto vērtību $Cm = 6$. Pie tam, tā kā šī stīga ir vairāk kā divas reizes īsāka, tad noteiktajai Cm vērtībai, dotajā gadījumā, vajadzēja būt mazākai nekā Cm vērtībai priekš garākās stīgas, kurai $Cm = 6$. Dotā atšķirība varētu būt izskaidrojama gan ar novērojumu statistikas trūkumu, gan ar to, ka iespējams, pastāv ievērojama magnetoelastisko īpašību starpība atsevišķām fero-



3.15. att.: Apgrieztais relaksācijas laiks kā funkcija no lauka intensitātes [77].

magnētiskajām stīgām. Jāņem arī vērā, ka katrs no eksperimentiem tika veikts dažādos laika posmos un eksperimentiem nepieciešamās feromagnētiskās stīgas tika sagatavotas atsevišķos procesos.

3.3. Magnetotaktisko baktēriju kustība ārējā magnētiskajā laukā

Teorētiskajā modelī, kas apraksta magnetotaktisku baktēriju uzvedību ārēja magnētiskajā laukā ir pieņemts, ka baktērijas magnētiskais moments \vec{m} ir cieši saistīts ar tās garenasi \vec{n} . Sekojot [38], aprakstīsim virkni likumsakarību, kas raksturo magnetotaktiskas baktērijas kustību rotējošā magnētiskajā laukā. Rotējoša lauka gadījumā tas izsauc arī dotās baktērijas griešanos ar leņķisko ātrumu $\vec{\Omega}$, ko var noteikt no viskozā un magnētiskā momenta balansa vienādojuma:

$$\frac{d\vec{n}}{dt} = \vec{\Omega} \times \vec{n}; \quad \zeta \vec{\Omega} = \vec{m} \times \vec{H}, \quad (3.11)$$

kur ζ ir baktērijas rotācijas berzes koeficients. Tā kā \vec{H} rotē x, y plaknē ar leņķisko frekvenci ω ($\vec{h} = (\cos(\omega t), \sin(\omega t), 0)$), kur \vec{h} ir lauka virziena vienības vektors, tad kustības dinamikas vienādojums rotējošai baktērijai ir:

$$\zeta \frac{d\vartheta}{dt} = mH \sin(\omega t - \vartheta). \quad (3.12)$$

Šajā gadījumā baktērijas garenass pārvietojas x, y plaknē kā $\vec{n} = (\cos(\vartheta), \sin(\vartheta), 0)$. Ja ievieš nobīdi $\beta = \omega t - \vartheta$ starp lauka virzienu un baktērijas garenasi, tad no (3.12) seko:

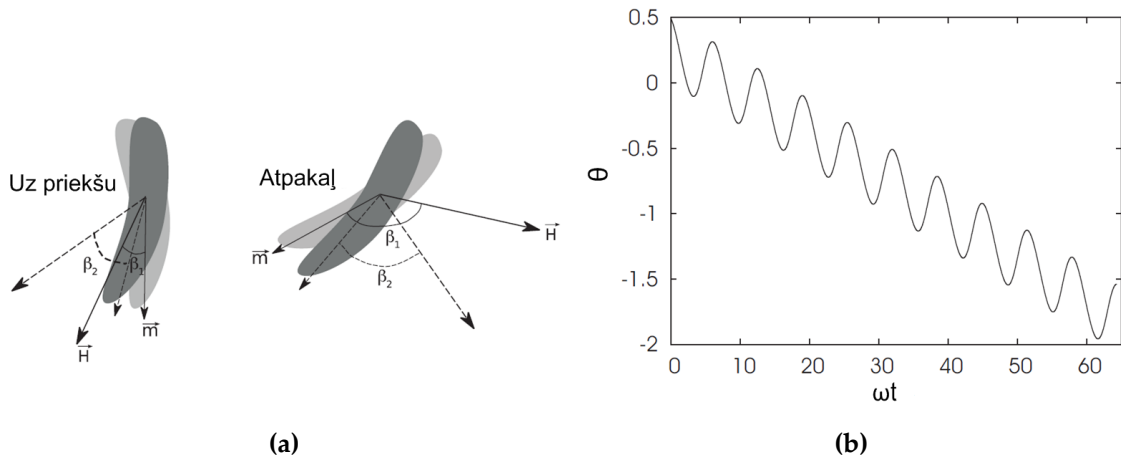
$$\frac{d\beta}{dt} = \omega - \omega_c \sin(\beta), \quad (3.13)$$

kur $\omega_c = mH/\zeta$ ir kritiskā frekvence. Ja $\omega < \omega_c$, tad ir novērojama baktērijas garenass un lauka sinhrona kustība un vienādojumam (3.13) ir atrisinājums $\sin(\beta) = \omega/\omega_c$. Ja $\omega > \omega_c$, tad vienādojumam (3.13) ir tikai periodisks atrisinājums:

$$\beta = 2 \arctan \left(\frac{\omega_c}{\omega} + \sqrt{1 - \left(\frac{\omega_c}{\omega}\right)^2} \tan \left(\sqrt{1 - \left(\frac{\omega_c}{\omega}\right)^2} \frac{\omega(t - t_0)}{2} \right) \right) \quad (3.14)$$

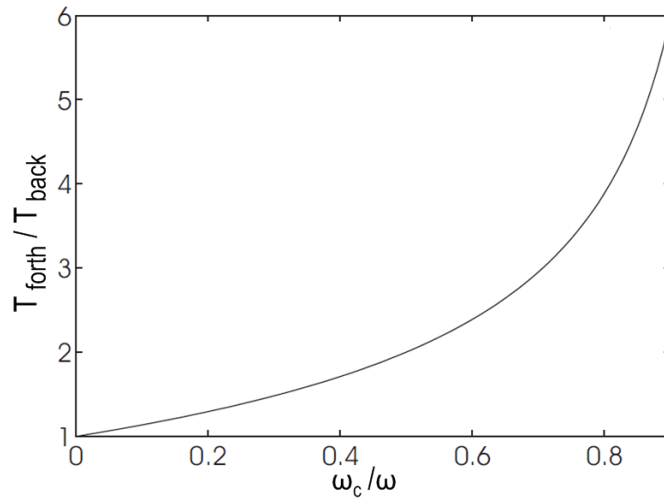
un baktērijas kustība ir asinhrona. Magnetotaktiskās baktērijas leņķiskais ātrums asinhronā režīmā ir $\omega_c \sin(\beta)$ un tā kā β mainās laikā 3.16. (a), tad bez rotācijas kustības, ir novērojamas baktērijas garenass papildus turpu-šurpu svārstību kustība. Attēlā 3.16. (b) parādīta orientācijas leņķa laika atkarības skaitliskā simulācija šādam asinhronas kustības gadījumam.

Asinhronas rotācijas gadījumā, redzams, ka laika intervālam T_{forth} , kurā baktērijas magnētiskais moments rotē vienā virzienā ar magnētisko lauku seko



3.16. att.: Baktērijas rotācija asinhronā režīmā. (a) - shematisks magnetiskā dipola svārstību attēlojums. (b) - baktērijas orientācijas leņķa ϑ turpu-šurpu kustība pie $\omega_c/\omega = 0,25$ [38].

īsāks laika intervāls T_{back} , kurā magnētiskais moments griežas pretēji rotējošajam laukam. Šo intervālu attiecību var pierakstīt kā $T_{forth}/T_{back} = (1 + a)/(1 - a)$, kur $a = 2 \arctan(\omega_c/\sqrt{\omega^2 - \omega_c^2}/\pi)$. T_{forth}/T_{back} kā funkcija no attiecības ω_c/ω parādīta attēlā 3.17.



3.17. att.: Attiecība T_{forth}/T_{back} kā funkcija no attiecības ω_c/ω [38].

Kā tika paskaidrots darba apskata daļā, magnetotaktiskās baktērijas kustību tās garenass virzienā nodrošina flagellāri motori. Gadījumā, kad baktērija pārvietojas ar šāda dzinēja palīdzību rotējošā magnētiskajā laukā, tās kustību apraksta

vienādojumi:

$$\begin{aligned}\frac{dx}{dt} &= v \cos(\omega t - \beta) \\ \frac{dy}{dt} &= v \sin(\omega t - \beta),\end{aligned}\tag{3.15}$$

kur v - baktērijas ātrums garenass virzienā, ko nodrošina flagellārā motora darbība. No kustības vienādojuma var izteikt baktērijas trajektorijas liekumu:

$$k = \frac{1}{v} \left(\omega - \frac{d\beta}{dt} \right).\tag{3.16}$$

Sinhronas kustības gadījumā $d\beta/dt = 0$, un no vienādojuma (3.16) seko, ka

$$k = \frac{\omega}{v}.\tag{3.17}$$

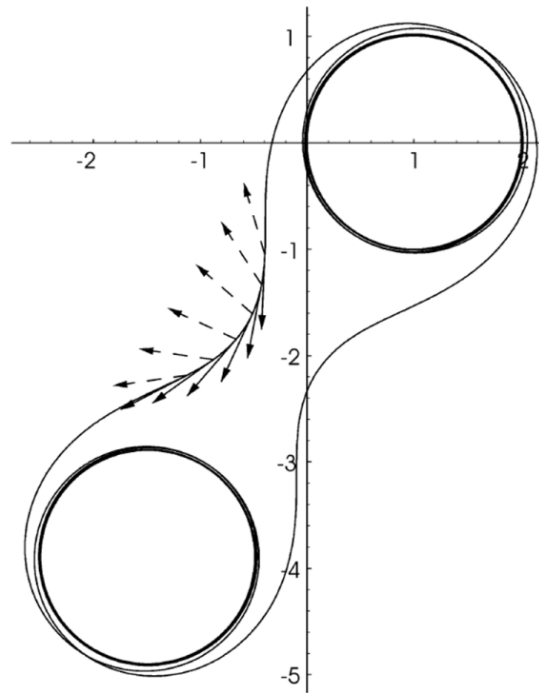
Tā kā liekums ir tieši proporcionāls rotācijas frekvencei, tad baktērijas trajektorijas izveidotās riņķa līnijas rādiuss samazināsies apgriezti proporcionāli frekvencei, kā arī, gadījumā, ja lauks kļūs konstants, baktērijas trajektorija veidos taisnu līniju. Šo lineāro sakarību var izmantot, lai noteiktu baktērijas ātrumu, ja ir zināma magnētiskā lauka rotācijas frekvence un magnetotaktiskās baktērijas trajektorija.

Eksperimentālie novērojumi parādīja, ka, reizēm, baktērija var mainīt savu kustības virzienu uz pretējo, saglabājot garenass orientāciju - notiek tikai kustības virziena un ātruma pārslēgšana pretējā virzienā, jeb ātruma reversija. Šādas reversijas neatkārtojas pēc noteikta laika intervāla, bet tām ir gadījuma raksturs. Pa riņķa līniju kustošai baktērijai ātruma reversijas var izsaukt trajektorijas riņķa līniju centra pārvietošanos. Aplūkojot šādu parādību ilgāk, redzams, ka notiek trajektorijas liekumu centru klejošana. Pieņemot, ka ātruma maiņai uz pretējo ir gadījuma raksturs ar noteiktu varbūtību laika vienībā, ir iespējams noteikt baktērijas trajektorijas centra difūzijas koeficientu:

$$D = \frac{1}{4} \frac{v^2 \tau}{1 + (\omega \tau)^2},\tag{3.18}$$

kur τ - reversijas notikuma raksturīgais laika intervāls.

Magnetotaktiskajai baktērijai kustoties rotējošā magnētiskā laukā, tās orientāciju ietekmē Brauna siltumkustība. Izmantojot magnetotaktiskās baktērijas siltumfluktuācijas ap pamatstāvokli rotējošā magnētiskā laukā, ir iespējams noteikt baktērijas magnētisko momentu. Bolcmaņa sadalījums baktērijas orientācijas leņ-



3.18. att.: Baktērijas trajektorijas negatīvā liekuma skaitliskā simulācija. Pārtrauktās līnijas norāda lauka virzienu, nepārtrauktās - baktērijas garenass virzienu [38].

ķīm ap pamatstāvokli P izsakās kā:

$$P = Q^{-1} e^{-\frac{1}{2k_B T} \frac{\partial^2 E}{\partial \beta^2} (\delta\beta)^2}, \quad (3.19)$$

kur $E = -mH\vec{n} \cdot \vec{h}$ - baktērijas enerģija tuvinājumā, kurā magnētiskā dipola mijiedarbību nosaka magnētiskais moments gar baktērijas garenasi. Kā rezultātā fluktuāciju vidējā kvadrātiskā vērtība ir:

$$\langle (\delta\beta)^2 \rangle = \frac{k_B T}{mH \cos(\beta)}. \quad (3.20)$$

Asinhrona kustības režīma gadījumā no (3.13) un (3.16) seko:

$$k = \frac{\omega_c}{v} \sin(\beta). \quad (3.21)$$

No iepriekš minētā izriet, ka asinhronā režīmā, baktērijas trajektorijā ir sastopami apgabali ar negatīvu liekumu 3.18., ko izsauc baktērijas papildus svārstības. Jāpiebilst, ka trajektorijas negatīvā liekuma gadījumā baktērijas magnētiskais moments un ārējais lauks kustas pretējos virzienos.

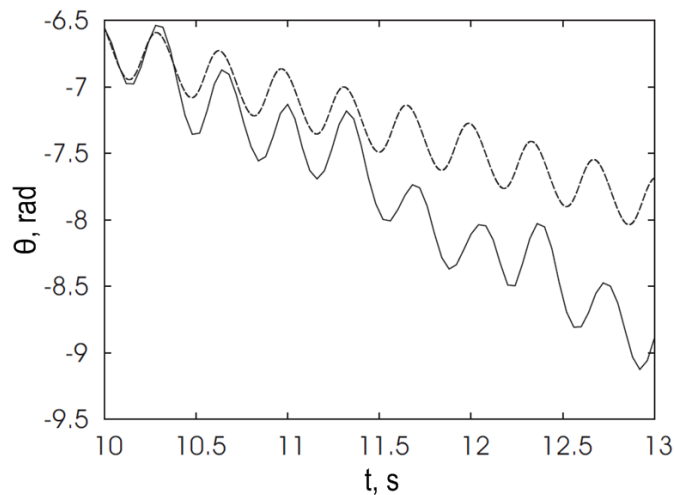
Baktēriju kustības ārējā magnētiskajā laukā eksperimentālajos pētījumos tika izmantotas magnetotaktiskās baktērijas *Magnetospirillum gryphiswaldense*, kas tika kultivētas LU Biomedicīnas pētījumu un studiju centrā atbilstoši [47]. Baktērijas, kas ņemtas no barotnes, pirms eksperimentu veikšanas tika atšķaidītas - 10 μ l baktēriju piejaucot 1 ml vārīta ūdens. Pētāmi paraugi tika izgatavoti ievadot 10 μ l šķīduma starp diviem mikroskopa segstikliņiem, kas atdalīti ar 0,028 mm biezu dubulto līmlenti, tas centrā ir 1 cm² liels atvērums. Magnetotaktisko baktēriju pētīšanai tika izmantots mikroskops *Zeiss Universal*, virs kura kondensora tika novietotas četras spoles magnētiskā lauka iegūšanai. Paraugšs tika novietots spoļu centrā uz speciāla turētāja. Strāva spolēs tika nodrošināta ar datoru vadāmiem barošanas bloku-pastiprinātāju palīdzību, spoļu centrā radot rotējošo magnētisko lauku ar frekvenci 0 - 10 Hz un amplitūdu 20 Oe. Mikroskopā tika izmantots 40X objektīvs un papildus lēca ar palielinājuma 1,6X. Mikroskops darbojās fāžu kontrasta režīmā. Lai noteiktu magnētiskā lauka virzienu, tika izmantota paštaisīta ierīce, kas katrā kadrā nomēra un uzklāj attēlam informāciju par spriegumu vērtībām uz šunta pretestībām katram spoļu pārim.

Baktēriju kustība tika filmēta izmantojot videokameru *JAI CV-S3200 (PAL, 25 kadri/s)*, iegūtie dati tika ierakstīti datora cietajā diskā kompresētu *AVI* failu veidā. Vēlāk no iegūtajiem videofailiem tika izdalītas attēlu sērijas, kas tika apstrādātas ar šim nolūkam uzrakstītu *MATLAB* kodu [38], kas no safilmētā materiāla izdala norādītās baktērijas koordinātes un garenass orientācijas leņķi (skat. pielikumu).

No eksperimentālajiem rezultātiem, tuvākai aplūkošanai, tika izdalīti divi gadījumi - nekustīga baktērija un kustīga baktērija. Ar "nekustīga" ir jāsaprot, ka baktērija kaut kādu apsvērumu dēļ pati pārvietoties nespēj (iespējams tā ir nedzīva vai zaudējusi spēju pārvietoties), tā kustas tikai siltumkustības un ārējā magnētiskā lauka ietekmē. Kustīga baktērija, dotajā gadījumā ir tāda, kas pārvietojas darbinot savus dzinējus.

3.3.1. Nekustīgas baktērijas rotējošā laukā

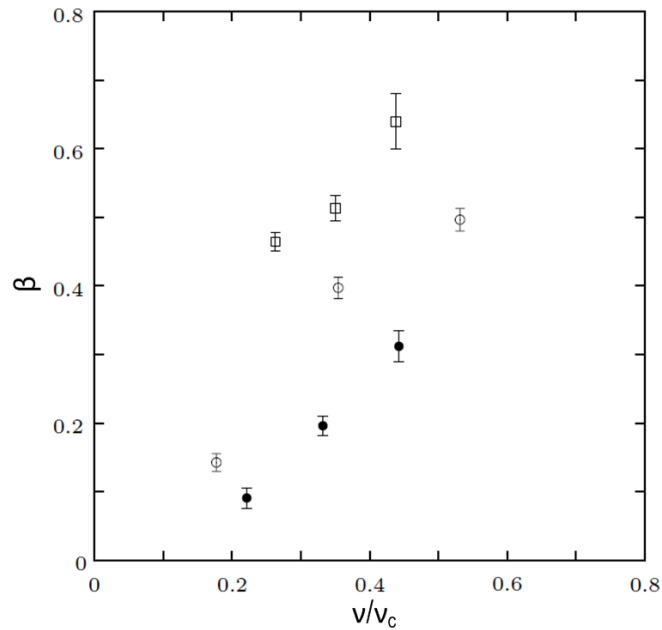
Vairumā eksperimentu novēroto nekustīgo baktēriju ir nosēdušās uz apakšējā segstikliņa, šī iemesla dēļ tika novērotas baktērijas garenass papildus turpušurpu svārstības rotējošā magnētiskajā laukā. Attēlā 3.19. redzami eksperimentāli dati par baktērijas garenass dinamiku rotējošā magnētiskā laukā, kā leņķu laika atkarība starp baktērijas garenasi un attēla horizontālo asi, ja lauka intensitāte ir $H = 14$ Oe un frekvence $\nu = 3$ Hz. Rotācija notiek pulksteņa rādītāju virzienā. Dotajā gadījumā attiecība $T_{forth}/T_{back} \approx 1,3$, izmantojot šo vērtību no līknes attēlā 3.17. iegūst, ka $\omega_c/\omega = 0,205$. Ar pārtraukto līniju attēlā 3.19. apzīmēta šiem datiem ($\omega_c/\omega = 0,205$, $\nu = 3$ Hz) atbilstoša teorētiskā līkne.



3.19. att.: Leņķa ϑ laika atkarība. Ar nepārtraukto līniju ir apzīmēti eksperimentālie dati, ar pārtraukto līniju - teorētiskā atkarība pie $\omega_c/\omega = 0,205$ [38].

Lai arī attēlā 3.19. parādīto svārstību frekvences labi sakrīt, pastāv zināma līkņu slīpuma nobīde. Teorētiska analīze liecina, ka tādu atšķirību var izsaukt nesējšķidrums viskoelastīgās īpašības un baktērijas galīgais attālums līdz segstikliņam.

Ja ir zināms baktērijas magnētiskais moments, tad no attiecības ω_c/ω , ir iespējams noteikt baktērijas rotācijas berzes koeficientu ζ . Baktērijai ar magnētisko momentu $1,3 \cdot 10^{-12}$ emu, kas atbilst 40 magnetosomām ar izmēru 50 nm, noteiktais berzes koeficients ir $4,74 \cdot 10^{-12}$ erg/s. Iegūtā vērtība ir lielāka nekā $2,4 \cdot 10^{-12}$ erg/s rotācijas berzes koeficientam priekš ūdenī esoša elipsoīda ar asu izmēriem $4 \mu\text{m} \times 0,5 \mu\text{m}$. Acīm redzot, šī starpība rodas dēļ tā, ka baktērija rotē tuvu segstikliņam vai pat saskaras ar to. Gadījumā, ja baktērija rotē stikliņa tuvumā, tās kritiskā

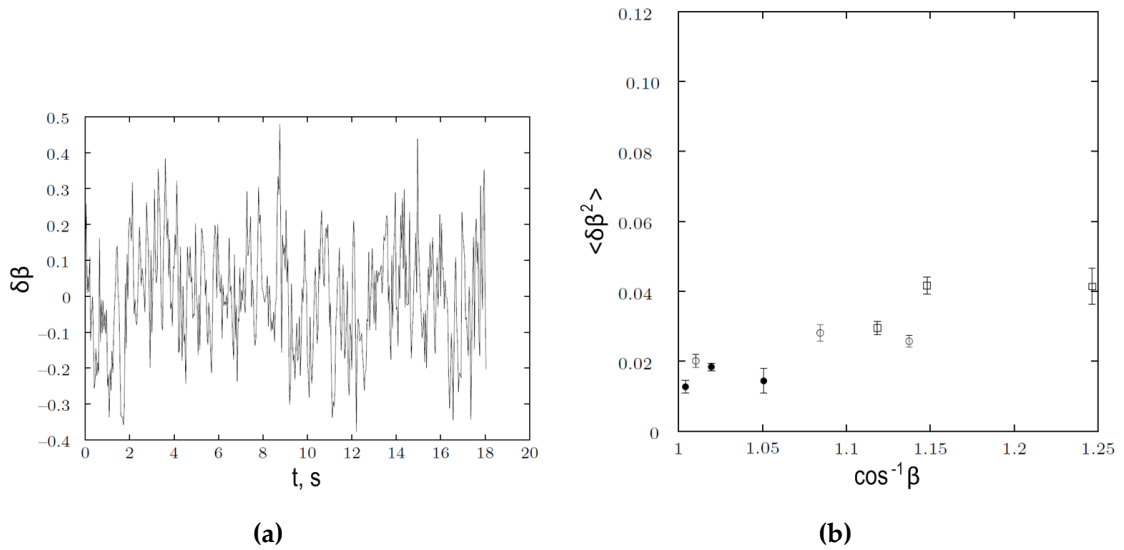


3.20. att.: Leņķa β atkarība no frekvences. Noteiktās kritiskās frekvences dažādām baktērijām: $\nu_c = 9,0$ Hz - melnie riņķi; $\nu_c = 5,7$ Hz - tukšie riņķi; $\nu_c = 11,4$ Hz - kvadrāti [80].

frekvence ir mazāka kā brīvi rotējošajai baktērijai, jo rotācijas berzes koeficients tai ir lielāks.

No baktēriju garenass orientācijas leņķiem, kas tika iegūti apstrādājot eksperimentos uzņemtās attēlu sērijas, un magnētiskā lauka virziena leņķiem, tika noteikts vidējais starpības leņķis β ar kādu baktērijas garenass atpauzē no lauka virziena. Vidējā atpauzes leņķa atkarība no frekvences 20 Oe stiprā rotējošā magnētiskajā lauka vairākām baktērijām ir parādīta grafikā 3.20. Veicot datu lineāru aproksimāciju, ir noteiktas lauka kritiskās frekvences ν_c (9,0 Hz; 5,7 Hz; 11,4 Hz). Šie dati labi saskan ar vizuāli novēroto baktēriju īpašo orientāciju dinamiku rotējošā laukā, ja lauka frekvence ir tuva kritiskajai. Iegūtās kritiskās frekvences vērtības ļauj izskaitļot baktērijas magnētisko momentu, ja ir zināms baktērijas rotācijas berzes koeficients α . Piemēram, baktērijai ar kritisko frekvenci $\nu_c = 5,7$ Hz un rotācijas berzes koeficientu, kas ir izrēķināts $4 \times 0,5 \mu\text{m}$ elipsoīdam ūdenī (viskozitāte $2,4 \cdot 10^{-12}$ erg·s), iegūtā magnētiskā momenta vērtība ir $m = 4,3 \cdot 10^{-12}$ emu.

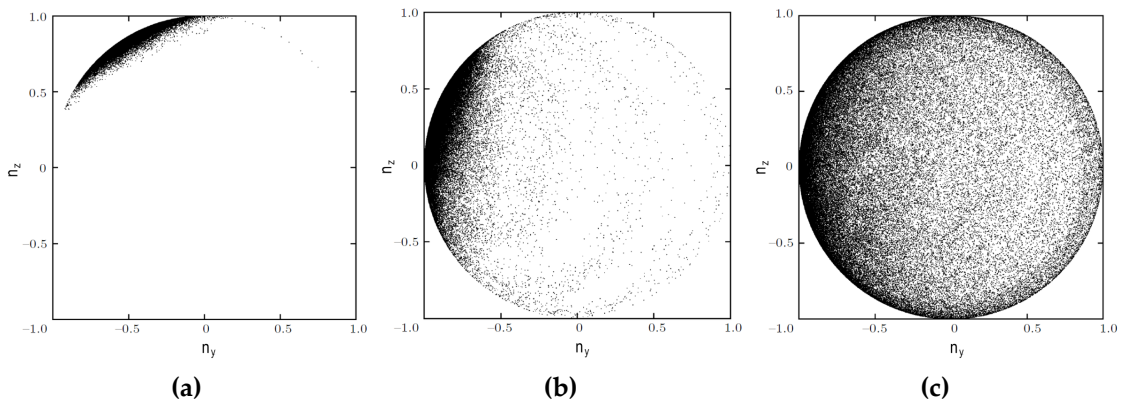
Baktērijas atpauzes leņķa fluktuāciju atkarība no laika un vidējās fluktuāciju vērtības atkarība no $1/\cos\beta$ parādītas attēlā 3.21. Kā sagaidāms no attiecības (3.20). - ja palielinās atpauzes leņķis β , palielinās arī fluktuācijas. Taču slīpuma koeficients dotajā gadījumā ir nesalīdzināmi lielāks nekā gaidāms no



3.21. att.: Baktērijas termiskās fluktuācijas. (a) - baktērijas atpalikšanas leņķa fluktuāciju atkarība no laika. (b) - vidējās fluktuāciju vērtības atkarība no $1/\cos \beta$ [80].

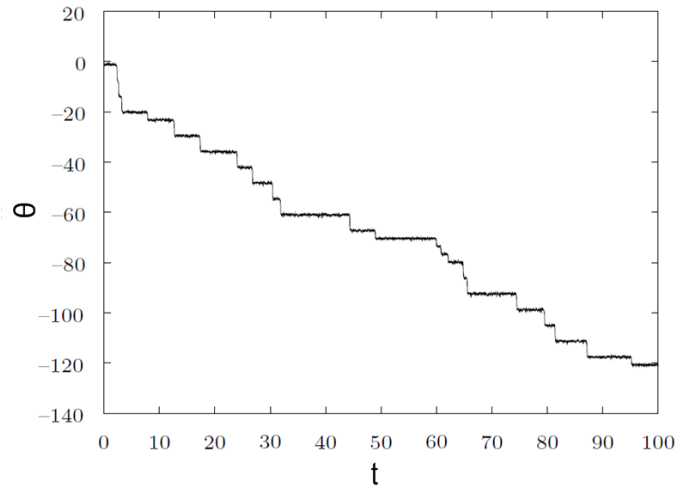
attiecības (3.20). Šāds slīpuma koeficients atbilstu tādai baktērijai, kurai magnētiskā momenta vērtība ir par divām kārtām lielāka kā iepriekš noteiktā vērtība $m = 4,3 \cdot 10^{-12}$ emu. Ļoti iespējams, ka lielu ieguldījumu baktēriju fluktuācijai dod priekšmetstikliņa tuvums, kas modulē baktērijas rotācijas berzes koeficienta vērtību.

Baktēriju termisko fluktuāciju dinamika tika modelēta arī skaitliski [80]. Attēlā 3.22. parādīti skaitliskās simulācijas rezultāti pie dažādām kritisko frekvenču



3.22. att.: Baktērijas dipola projekcija uz pussfēras virsmas skaitliskajā simulācijā pie dažādām kritisko frekvenču vērtībām: a - $\omega/\omega_c = 0,5$; b - $\omega/\omega_c = 49/50$; c - $\omega/\omega_c = 1,5$ [80].

vērtībām kā baktērijas dipola projekcija uz pussfēras virsmas, ja Lanževēna koeficienta vērtība $mH/k_B T = 50$, kas atbilst reālām vērtībām. Šeit jāpiebilst, ka skaitliskajā simulācijā laboratorijas koordinātu sistēma rotē ap x-asi kopā ar magnētisko lauku, kas piesaistīts z-asij. No attēliem redzams, ja $\omega < \omega_c$, tad ir izteikta dipolu projekciju koncentrācija noteiktā pussfēras apgabalā, kas palielinoties frekvencei samazinās, līdz kļūst stipri vienmērīga, ja $\omega > \omega_c$.

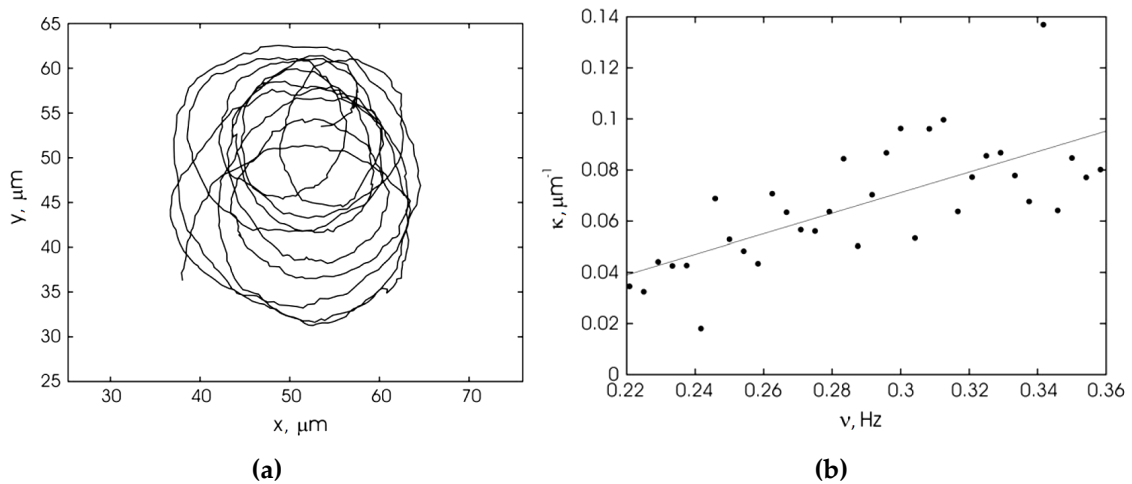


3.23. att.: Gadījuma rakstura dipola dinamika skaitliskajā simulācijā, pie $\omega/\omega_c = 49/50$ un $mH/k_B T = 50$ [80].

Skaitliskās simulācijas parādīja, ka pie attiecības $\omega/\omega_c \approx 1$, pat tad, ja $\omega < \omega_c$, var notikt ātras gadījuma rakstura virziena leņķa izmaiņas par 2π (att.3.23.). Šāda dipola uzvedība ir izskaidrojama ar to, ka termiskās fluktuācijas var novirzīt dipolu ārpus pamatstāvokļa ϑ pievilkšanās apgabala. Dotā skaitliskā simulācija atbilst eksperimentālajiem novērojumiem, kur pie pietiekoši augstām frekvencēm notiek baktērijas rotācijas kustības "aizķeršanās".

3.3.2. Kustīgas baktērijas rotējošā laukā

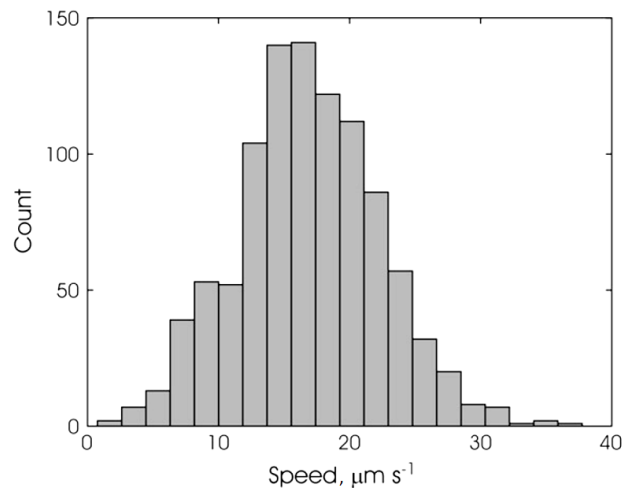
Lai noskaidrotu kā baktērijas kustību ietekmē rotējoša magnētiskā lauka parametru maiņa, tika reģistrēta baktērijas trajektorija lēnām palielinot rotējošā lauka frekvenci (att. 3.24. (a)). Uzturot magnētisko lauku ar nemainīgu intensitāti 14 Oe, 40 s garā laika intervālā vienmērīgi tika mainīta lauka rotācijas frekvence robežās no 0,2 Hz līdz 0,367 Hz un reģistrēta baktērijas trajektorija. Attēlā 3.24. (b) parādīta baktērijas trajektorijas liekuma atkarība no magnētiskā lauka rotācijas frekvences. Kā redzams, palielinoties rotācijas frekvencei, palielinās arī trajektorijas liekums. Veicot lineāro aproksimāciju, iegūst baktērijas ātrumu $15,6 \mu\text{m s}^{-1}$, tas ir ļoti tuvs ātrumam $16,9 \pm 5,3 \mu\text{m s}^{-1}$, kas iegūts no baktērijas pārvietojuma starp diviem blakus kadriem.



3.24. att.: Baktēriju kustības trekošana. (a) - baktērijas trajektorija 14 Oe stiprā rotējošā magnētiskajā laukā, $\nu = 0,2 - 0,367$ Hz. (b) - trajektorijas liekuma atkarība no rotējošā lauka frekvences [38].

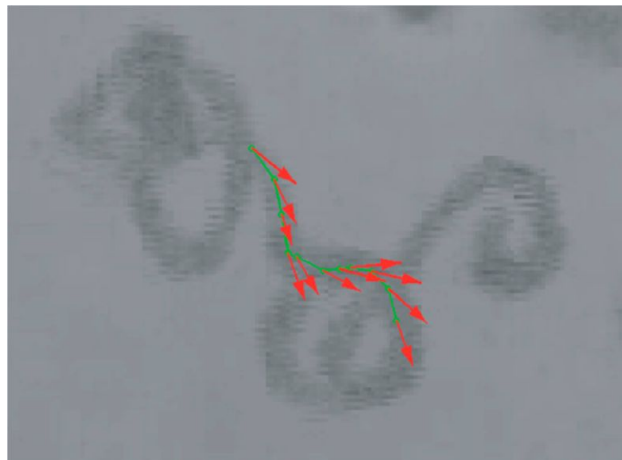
Attēlā 3.25. redzama ātrumu sadalījumu histogramma trajektorijai, kas parādīta attēlā 3.24. (a), ātrumiem, kas ir iegūti nosakot baktērijas pārvietojumu starp diviem blakus esošiem videokadriem. Histogrammas sadalījuma platums ir tuvs kļūdai $4,5 \mu\text{m s}^{-1}$, ko dod viens pikselis nosakot baktērijas pārvietojumu.

Kā tika minēts iepriekš, asinhrona kustības režīma gadījumā pastāv iespēja, ka baktērijas kustībā ir iespējamas baktērijas trajektorijas ar negatīvu liekumu. Attēlā 3.26. redzams eksperimentāls novērojums, kur 4,5 s garā laika sprīdī baktērija kustas $H = 10$ Oe stiprā rotējošā magnētiskajā laukā ar rotācijas frekvenci $\nu = 0,8$ Hz. No datiem, kas iegūti eksperimentā, ir iespējams noteikt magnetotaktiskās baktērijas magnētiskā momenta augšējo robežu. Pieņemot, ka rotācijas berzes



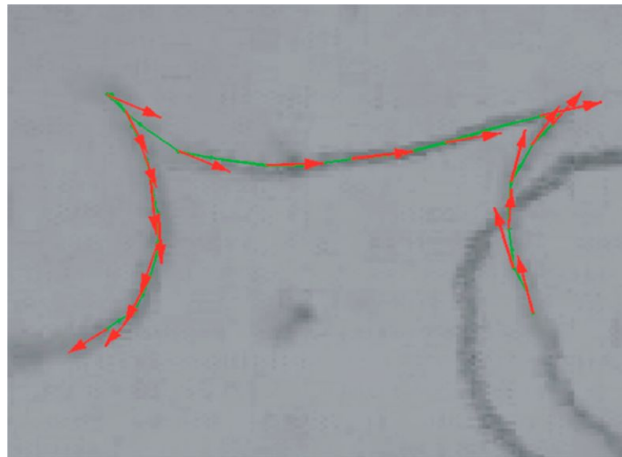
3.25. att.: Baktērijas ātrumu sadalījuma histogramma, kas noteikta no baktērijas pārvietojuma starp diviem kadriem [38].

koeficients baktērijai ir $2,4 \cdot 10^{-12}$ erg/s, kas atbilst elipsoīdam ar izmēriem $4 \times 0,5 \mu\text{m}$, iegūstam novērtējumu baktērijas magnētiskā momenta augšējai robežai: $m < 1,2 \cdot 10^{-12}$ emu.



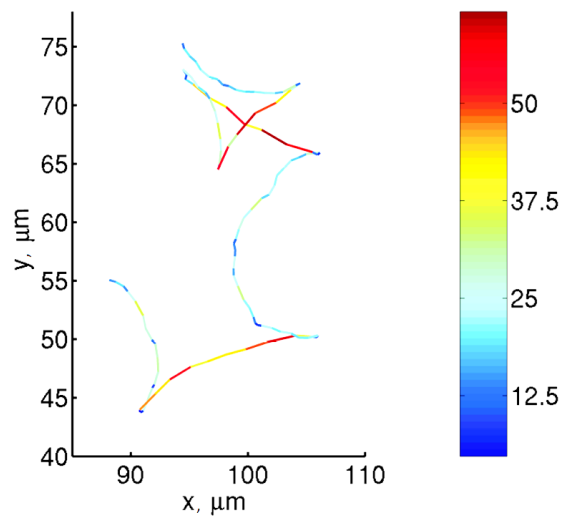
3.26. att.: Magnetotaktiskās baktērijas trajektorija ar negatīvu liekumu [38].

Interesanta parādība ir baktērijas kustības virziena strauja pārslēgšanās uz pretējo. Šāds eksperimentāls novērojums ir redzams 3.27. attēlā, kur magnetotaktiskā baktērija atrodas ārējā rotējošā magnētiskajā laukā ar nemainīgu lauka intensitāti $H = 10$ Oe un rotācijas frekvenci $\nu = 0,65$ Hz. No baktērijas trajektorijas un garenass orientācijas ir redzams, ka notiek pēkšņa baktērijas kustības virziena maiņa - baktērijas garenass un ar to saistītais magnētiskais moments turpina sekot ārējam magnētiskajam laukam, bet trajektorijā rodas asi lūzumi.



3.27. att.: Baktērijas ātruma pārslēgšanās uz pretēju rotējošā magnētiskajā laukā. Magnētiskais lauks $H = 10$ Oe rotē pulksteņrādītāju virzienā ar frekvenci $\nu = 0,45$ Hz. Šeit redzami divi ātruma reversijas gadījumi [38].

Šo parādību var izskaidrot vienīgi ar pēkšņu baktērijas ātruma virziena maiņu attiecība pret tās magnētisko momentu, kas iespējams divu flagellu baktērijai pārslēdzot dzinējus pretējā kustības virzienā.



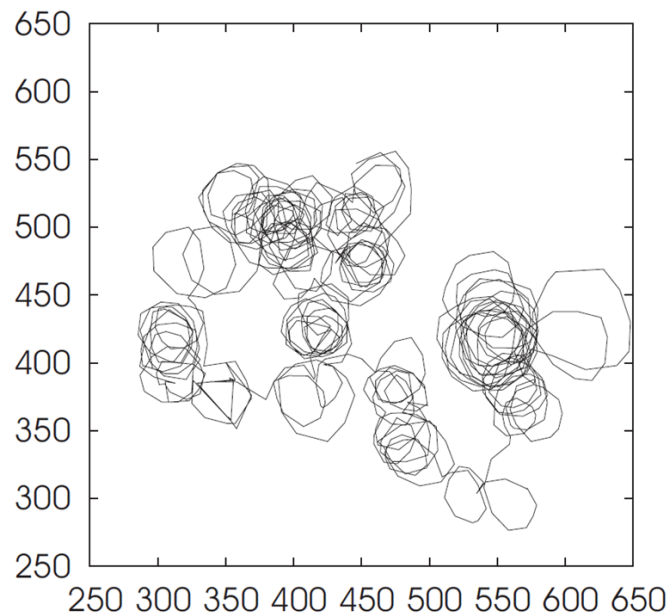
3.28. att.: Ātrumu sadalījums pie reversijas. Krāsu sadalījums atbilst vienībām $\mu\text{m/s}$ [38].

Zīmīgi, ka pēc kustības reversijas būtiski mainās baktērijas ātrums. Attēlā 3.28. parādīta novērotā magnetotaktiskās baktērijas trajektorija $H = 10$ Oe stiprā magnētiskajā laukā ar rotācijas frekvenci $\nu = 0,4$ Hz. Redzams, ka pēc katra reversijas gadījuma baktērijas vidējais ātrums pamīšus pārslēdzas starp zemāku un augstāku vidējo ātrumu, par to liecina arī vizuāli atšķirīgie baktērijas trajekto-

riju liekuma rādiusi. Lai izskaidrotu šo parādību var tikt izvirzītas divas versijas. Viena no versijām ir, ka baktērija vienu no divām flagellām lieto, lai kustētos uz priekšu un otru flagellu lieto, lai kustētos atpakaļ. Otra versija - baktēriju flagellu dzinēji maina griešanās virzienu uz pretēju, tādējādi izsaukot baktērijas kustības virziena maiņu.

Ir novērots, ka dažādu sugu magnetotaktiskās baktērijas pārslēdz kustības virzienu uz pretējo, dažādu ārēju faktoru, kā piemēram, skābekļa koncentrācijas gradienta iedarbībā. Tā kā dotajā darbā apskatītajos eksperimentos, baktērija tika ievietota viendabīgā vidē, tad, acīmredzot, kustības virziena pārslēgšana nav saistīta ar ārējo faktoru signāliem, bet drīzāk novērotajai parādībai ir gadījuma raksturs. Kopumā ņemot, šī parādība līdz galam skaidra nav.

Darbā [81], kur ir pētīta baktērijas *E.coli* kustība ir parādīts, ka gadījumā, ja baktērija maina flagellas dzinēja kustības virzienu, tad flagella transformējas no kreisās vītnes spirāles, pie rotācijas pretēji pulksteņa rādītāju virzienam, uz labās vītnes spirāli, pie rotācijas pulksteņa rādītāju virzienā. Iespējams, ka šāda īpašība piemīt arī baktērijas *Magnetospirillum gryphiswaldense* flagellām.



3.29. att.: Trajektoriju rotācijas centru klejošana, ko izsauc baktērijas ātruma virziena reversija. Koordinātes ir uzrādītas pikselos - 1 pikselis = $0,17 \mu\text{m}$ [38].

Baktērijas ātruma pārslēgšanās noved pie liekumu centru, ap ko baktērija kustas rotējošā magnētiskajā laukā, difūzijas. Tas ir parādīts 3.29. attēlā, kur 200 s garā laika intervālā baktērija kustas rotējošā magnētiskajā laukā ar intensitāti

$H = 10$ Oe un lēnām augošu rotācijas frekvenci no 0,47 līdz 0,62 Hz.

Neskatoties uz to, ka magnetotaktiskās baktērijas ir pētītas jau diezgan sen, to fizikālās īpašības joprojām nav skaidri noteiktas. Esošie pētījumi galvenokārt dot tikai kvalitatīvu informāciju par to magnētiskajām un hidrodinamiskajām īpašībām. Eksperimenti, kas veikti dotajā darbā parādīja, ka magnetotaktisko baktēriju uzvedības pētījumi rotējošā laukā var dot plašu informāciju par šāda tipa baktēriju fizikālajām īpašībām. Magnetotaktisko baktēriju novērojumi rotējošā magnētiskajā laukā deva iespēju kvantitatīvi novērtēt baktērijas ātruma reversijas procesu, kas izsauc baktērijas trajektorijas riņķa līniju klejošanu. Šāda parādība agrāk netika aplūkota. Darbā tika parādīts, ka apskatot konkrētas baktērijas termofluktuācijas rotējošā magnētiskajā laukā, var noteikt baktērijas magnētisko momentu. Vēl viena parādība, kas tika novērota, bet šeit netika smalkāk aprakstīta ir, ka rotējošā laukā baktērija var mainīt rotācijas plakni - atšķirībā no aprakstītās divdimensionālās kustības, pārvietošanās notiek visās trijās dimensijās.

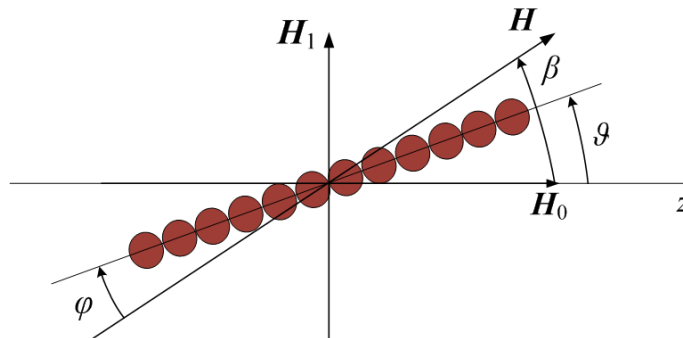
3.4. Bakteriofāga Pf1 gela viskoelastīgās īpašības

Superparamagnētisku daļiņu ķēdīte var tikt aplūkota kā cilindrisks stienītis ar magnētisko uzņēmību ass virzienā $\chi_{\parallel} = (\mu - 1)/4\pi$ un $\chi_{\perp} = (\mu - 1)/(\mu + 1)/2\pi$ perpendikulāri ass virzienam [76]. Tad ķēdītes magnetizācija ir $\vec{M} = \chi_{\perp}\vec{H} + (\chi_{\parallel} - \chi_{\perp})\vec{n}\vec{n} \cdot \vec{H}$ un spēka moments $\vec{T}_m = \vec{M} \times \vec{H}V$.

Ja ķēdītes kustību aplūko y, z plaknē ($\vec{n} = (0, \sin \vartheta, \cos \vartheta)$) mainīgā magnētiskajā laukā $(0, H_1 \cos(\omega t), H_0)$, tad pie mazām svārstībām

$$T_m = \frac{(\mu - 1)^2}{4\pi(\mu + 1)} V H_0^2 \cos(\vartheta - \beta) \sin(\vartheta - \beta), \quad (3.22)$$

kur $\beta \cong H_1 \cos(\omega t)/H_0$ (att. 3.30.) [82].



3.30. att.: Stīga magnētiskajā laukā.

Spēka momentu, ar kādu viskoelastīgā vide iedarbojas uz magnētisko stīgu var noteikt no sakarības

$$T = kV\eta\dot{\vartheta} + kGV\vartheta, \quad (3.23)$$

kur η ir viskozitāte un G - bīdes modulis. Koeficients k tiek noteikts no spēka momenta eliptiskai daļiņai, kas rotē viskozā šķidrumā. Šeit jāpiezīmē, ka koeficients k ir viens un tas pats gan viskozo, gan elastīgo spēku momentiem [63, 66]:

$$k = \frac{2N^2}{\log(2N) - 1/2}, \quad (3.24)$$

kur $N = a/b$ - elipsoīda asu attiecība.

No spēka momentu, kas darbojas uz ķēdīti, balansa $T + T_m = 0$ iegūst:

$$-kVG(\omega)\vartheta_0 e^{-i\varphi} = \frac{(\mu - 1)^2 V H_0^2}{4\pi(\mu + 1)} (\vartheta_0 e^{-i\varphi} - \beta_0), \quad (3.25)$$

kur $\beta = \beta_0 e^{i\omega t}$ un $\vartheta = \vartheta_0 e^{i(\omega t - \varphi)}$, šeit φ ir stīgas un lauka svārstību fāžu starpība un $G(\omega) = G' + iG''$ ir kompleksais modulis. Maksvela modeļa gadījumā kompleksā moduļa reālā daļa atbilst elastības modulim G un imaginārā daļa viskozitātei η ($G' = G; G'' = \omega\eta$).

Ieviešot koeficientu $\Gamma = \frac{(\mu-1)^2 H_0^2}{4\pi(\mu+1)k}$, kuru var noteikt no kalibrācijas mērījumiem, vienādojums (3.25) izsakās kā:

$$G' + iG'' = -\Gamma \left(1 - \frac{\beta_0}{\vartheta_0} e^{i\varphi}\right), \quad (3.26)$$

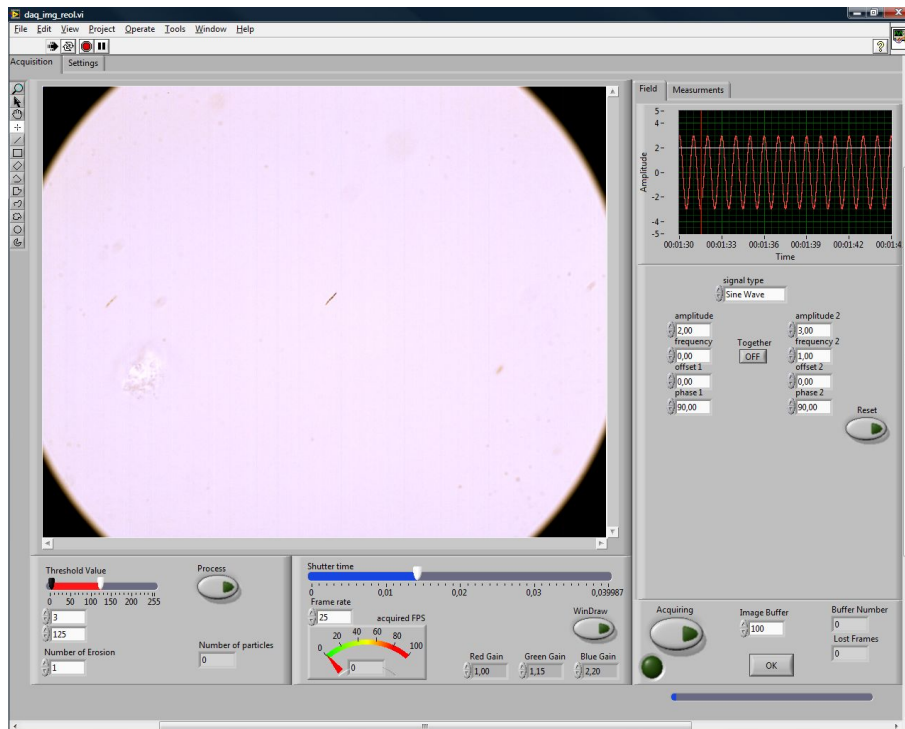
šeit jāpiezīmē, ka koeficients Γ nav atkarīgs no ķēdīti veidojošo daļiņu izmēriem. Tad no (3.26). seko:

$$G' = -\Gamma \left(1 - \frac{\beta_0}{\vartheta_0} \cos(\varphi)\right) \quad (3.27)$$

un

$$G'' = \Gamma \frac{\beta_0}{\vartheta_0} \sin(\varphi). \quad (3.28)$$

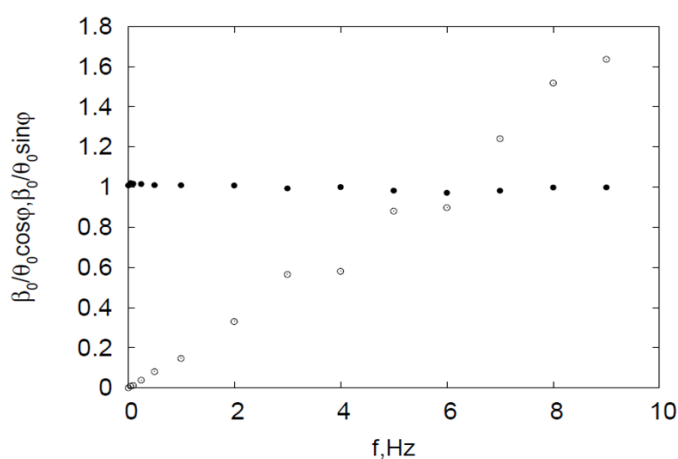
Bakteriofāga Pf1 viskoelastīgo īpašību pētīšanai tika izmantots mikroskops *Leica DMI3000 B* ar uz priekšmetgaldiņa uzmontētiem diviem spoļu pāriem magnētiskā lauka ģenerēšanai. Viens spoļu pāris paraugā radīja konstantu 54 Oe



3.31. att.: Labview programma eksperimenta vadīšanai. Redzeslauka centrā ir redzama magnētiskā stienītis (īsa stīga).

stipru magnētisko lauku, otrs - pirmajam perpendikulāru mainīgu 36 Oe stipru magnētisko lauku. Mikroskopā tika izmantots 40X objektīvs un ķēdītes svārstības tika reģistrētas uzņemot attēlu sērijas ar videokameru *Mikrotron MC-1363*, filmēšanas ātrums tika mainīts intervālā no 1 - 50 kadriem/s. Eksperimenta kontrole, datu apstrāde un to reģistrācija tika veikta ar *Labview* vidē izveidotu programmu (pielikums). Dotā programma veic magnētiskā lauka ģenerēšanas un attēlu iegūšanas sinhronizāciju, kā arī attēlu digitālo apstrādi, reģistrējot interesējošās magnētiskās stīgas orientācijas leņķa izmaiņas laikā. Aproximējot no laika atkarīgos magnētiskā lauka un stīgas orientācijas leņķa datus ar harmoniskām funkcijām tika iegūta stīgas svārstību amplitūda un fāžu starpība φ .

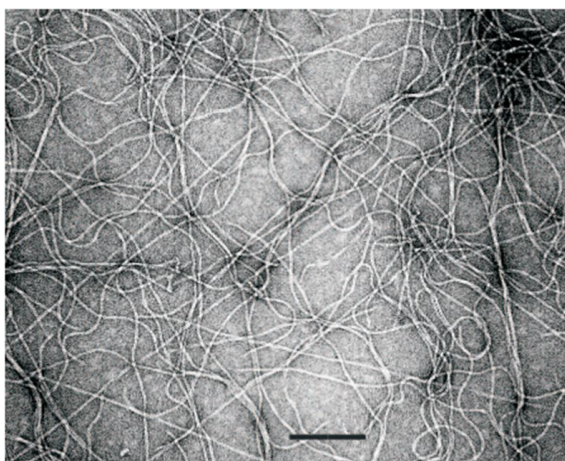
Superparamagnētiskās stīgas tika sagatavotas mēģenē atšķaidot 10 μl DNS (500 bp; 135 $\mu\text{g}/\text{ml}$) ar 60 μl TE buferšķīduma, tad pievienojot 1 μl 500 nm ar streptavidīnu funkcionalizētu superparamagnētisko daļiņu. Mēģene uz piecām minūtēm tika ievietota homogēnā magnētiskajā laukā. Pēc stīgu izveidošanās paraugs tika papildināts ar TE buferšķīdumu līdz 1 ml. Ja salīdzina stīgu iegūšanas procesu dotajā gadījumā ar stīgu iegūšanas procesu gadījumā, kad tika noteikts to liekums atkarībā no jonu spēka (nodaļa 3.1.), tad redzams, ka ir izmantotas citas daļiņu, DNS un buferšķīduma proporcijas. Šeit proporcijas ir piemeklētas tā, lai veidotos īsas stīgas, kas uzvestos, kā cieti stienīši. Vidējais apskatāmo stīgu garums bija 8,5 μm , kas atbilst $N = 17$ daļiņām un attiecīgi koeficients $k \cong 191$. Lai iegūtu magnētiskās stīgas saturošu, noteiktas koncentrācijas bakteriofāga suspensiju, mēģenē tika sajaukts attiecīga daudzuma stīgu šķīdums ar bakteriofāga koncentrātu. Iegūtais šķīdums vairākas reizes uzmanīgi tika samaisīts, izman-



3.32. att.: Fāžu un amplitūdu attiecības tīram buferšķīdumam. $\beta_0/\vartheta_0 \cos \varphi$ - pilnie apli, $\beta_0/\vartheta_0 \sin \varphi$ - tukšie apli [82].

tojojot mikropipeti, šķidrumu iesūcot pipetē un izspiežot ārā. Šeit jāpiezīmē, ka nepilnīga samaisīšana var radīt lokālas nehomogenitātes, taču pārlika samaisīšana var stīgas saplēst pārāk smalkos fragmentos, lai tās vairs nebūtu derīgas mērījumiem.

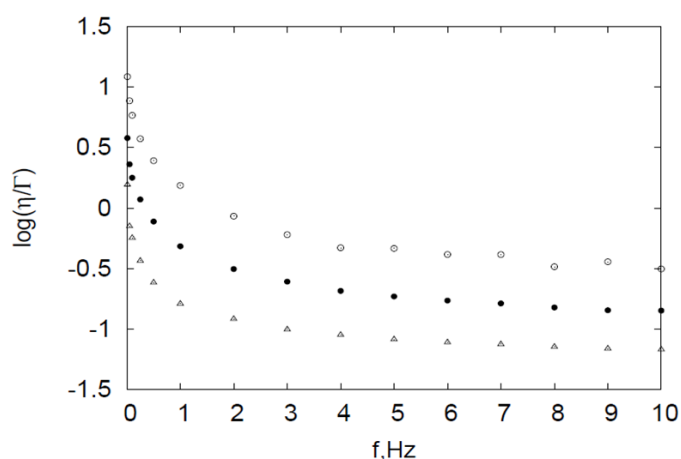
No datiem par stīgas dinamiku tīrā TE buferšķīdumā, kurā elastības modulis $G' = 0$, kā tika gaidīts saskaņā ar vienādojumu (3.26), $\beta_0/\nu_0 \cos \varphi$ paliek konstants un ir tuvs vieniniekam visā pētāmajā frekvenču apgabalā no 0,01-10 Hz (att. 3.32.). Pieņemot, ka buferšķīduma viskozitāte ir tuva ūdens viskozitātei, kas ir zināma, un izmantojot grafikā 3.32. attēlotā kompleksā moduļa G'' lineāro atkarību no frekvences, tika noteikts koeficients $\Gamma = 0,27 \pm 0,05 \text{ dyn/cm}^2$. Saskaņā ar v -mu $\Gamma = \frac{(\mu-1)^2 H_0^2}{4\pi(\mu+1)k}$ un novērtējot k no zināmā daļiņu skaitam ķēdītē, iegūstam stīgas magnētisko caurlaidību $\mu = 1,8$. Magnētiskās caurlaidības vērtību stīgas veidojošajām daļiņām iespējamas noteikt arī no magnetizācijas līknes (att. 2.1.), iegūstot vērtību $\mu = 2,8$, kas nedaudz atšķiras no vērtības, kas noteikta izmantojot koeficientu Γ .



3.33. att.: Bakteriofāgu tīklojuma elektronmikroskopa attēls, koncentrācija 0,63 mg/ml (1:80) [82]. Mērogiedaļa - 200 nm.

Bakteriofāgs Pf1 ir uz baktērijām parazitējošs vīruss, jeb fāgs. Šiem fāgiem ir ragsturīgs garš pavedienvēidīgs apvalks, to garums ir ap $2 \mu\text{m}$, bet diametrs ap 6nm (att. 3.33.). Šādu bakteriofāgu suspensija veido sarežģītu tīklveida vidi un mikroskopisks objekts kā magnētisks stienītis, kustoties šādā vidē, deformē arī apkārt esošo tīklu. No attēla var spriest, ka šie pavedieni ir ļoti lokani un tīklojuma acu izmērs dotajai koncentrācijai ir submikronu robežās.

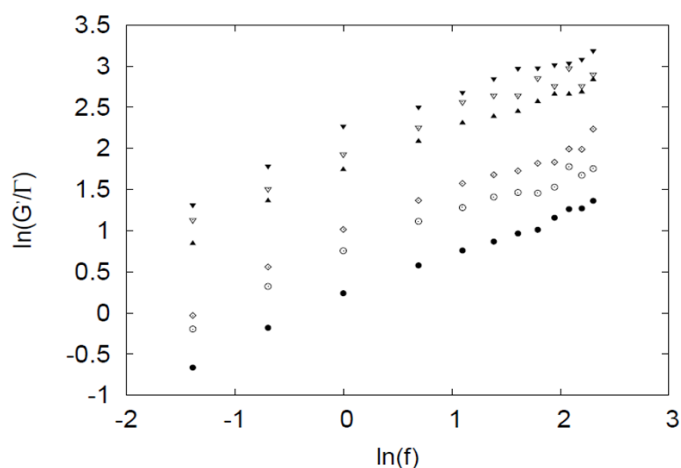
Bakteriofāga Pf1 sākotnējā koncentrācija 50 mg/ml (LU Biomedicīnas studiju un pētījumu centrs) izrādījās pārāk liela, lai izdotos novērot magnētiskās stīgas



3.34. att.: Pf1 viskozitātes atkarība no frekvences pie dažādām koncentrācijām (vidējota pieciem paraugiem). Tukšie apļi - atšķaidījums 1:20; pilnie apļi - 1:60; trijstūri - 1:120 [82].

svārstību kustību, tādēļ pētīšanai tika sagatavoti paraugi atšķaidot bakteriofāgu ar koncentrāciju 50 mg/ml 20, 30, 40, 60, 80 un 120 reizes, iegūstot koncentrācijas attiecīgi 2,5; 1,67; 1,25; 0,83; 0,63 un 0,42 mg/ml.

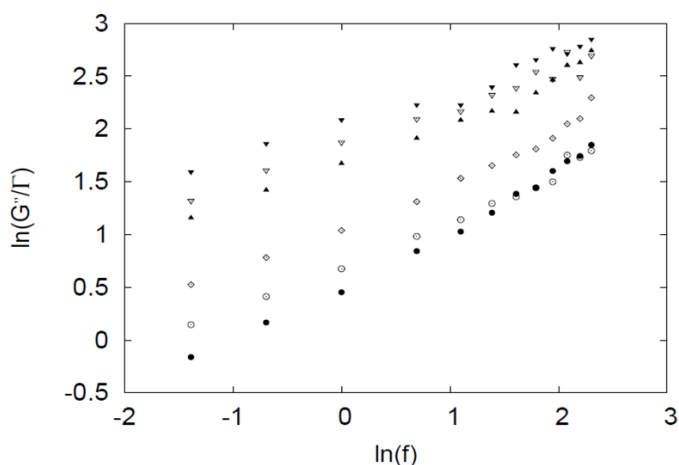
Nomērot magnētisko stīgu svārstību amplitūdas un fāžu starpības, tiem svārstoties mainīgā magnētiskajā laukā, var noteikt bakteriofāga gela viskoelastīgo īpašību atkarību no frekvences un koncentrācijas. Attēlā 3.34. ir parādīta iegūtā frekvences atkarība pie vairākām koncentrācijām. Katrai koncentrācijai atliktie punkti ir vidējoti no mērījumiem piecām magnētiskajām stīgām. Redzams,



3.35. att.: Elastības modulis pie dažādām Pf1 koncentrācijām. Pilnie apļi - atšķaidījums 1:120; tukšie apļi - 1:80; rombi - 1:60; augšupvērsti pilnie trijstūri - 1:40; tukšie trijstūri - 1:30; lejupvērsti pilnie trijstūri - 1:20 [82].

ka samazinoties koncentrācijai, samazinās arī viskozitāte.

Attēlā 3.35. ir atlikta elastības moduļa atkarība no frekvences pie dažādām bakteriofāga koncentrācijas vērtībām. Frekvenču diapazonā, kas pārsniedz 0,25 Hz elastības modulis atkarībā no frekvences atbilst pakāpes funkcijai ar pakāpes rādītāju, kas tuvs vērtībai 0,5. Līdzīga atkarība ir novērota arī F-aktīna gelam [83].

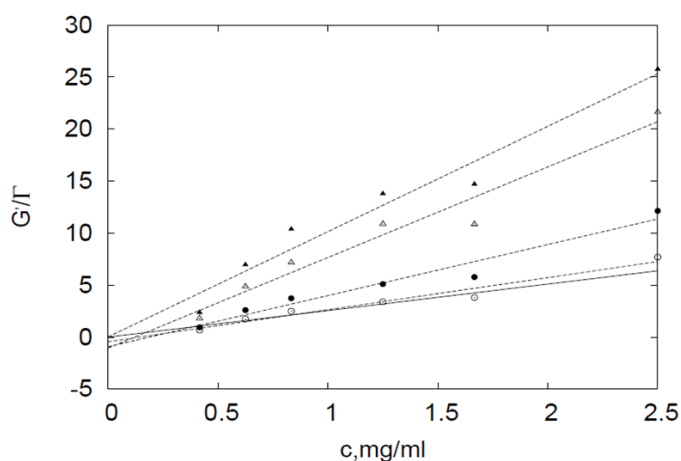


3.36. att.: Kompleksā moduļa imaginārā daļa pie dažādām Pf1 koncentrācijām. Pilnie apli - atšķaidījums 1:120; tukšie apli - 1:80; rombi - 1:60; augšupvērsti pilnie trijstūri - 1:40; tukšie trijstūri - 1:30; lejupvērsti pilnie trijstūri - 1:20 [82].

Attēlā 3.36. ir redzama kompleksā moduļa imaginārās daļas atkarība pie dažādām bakteriofāga koncentrācijām. Redzams, ka pakāpes rādītājs kompleksā moduļa imaginārajai daļai palielinās, atšķaidījumam palielinoties robežās no 1:20 līdz 1:120.

Attēlā 3.37. ir parādīta elastības moduļa atkarība no koncentrācijas pie dažādām magnētiskā lauka svārstības frekvencēm. Dotajos mērījumos, katrai koncentrācijai atliktie punkti ir vidējoti pieciem paraugiem. Grafikā redzamā nepārtrauktā teorētiskā līkne atbilst $E/\Gamma = 10^3 k_B T N_A / M / \Gamma c$ [82].

Pie līdzīgām bakteriofāga Pf1 koncentrācijām ir noteiktas viskoelastīgās īpašības arī ar klasisko (konuss-plāksne) reometriju metodi (*P. Janmey*, Pensilvānijas Universitāte). Iegūtie rezultāti salīdzinājumā ar šeit aprakstīto metodi redzami attēlos 3.38. un 3.39. Dotajos grafikos ir atlikts kompleksā moduļa apgrieztais lielums $J = 1/G$, tas raksturo tīklojuma mehānisko uzņēmību. No grafikiem redzams, ka ar mikroreoloģijas metodi iegūtie rezultāti kvalitatīvi sakrīt ar rezultātiem, kas iegūti, izmantojot klasisko reometriju. Ar mikroreoloģijas metodi tiek noteiktas vides īpašības tilpuma izmēros, kas ir samērojami ar tīkla raksturīgajiem izmēriem, turpretim klasiskajā reometrijā šie izmēri nav samērojami, tāpēc

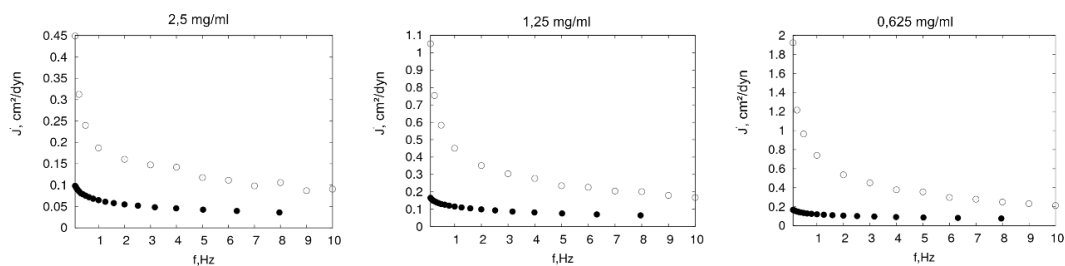


3.37. att.: Elastības moduļa atkarība no koncentrācijas pie dažādām frekvencēm. Tukšie aplī - $f = 0,5$ Hz; pilnie aplī - 1 Hz; tukšie trijstūri - 5 Hz; pilnie trijstūri - 10 Hz. Punktotās līnijas ir lineārās aproksimācijas; nepārtrauktā līnija - teorētiskā līkne [82].

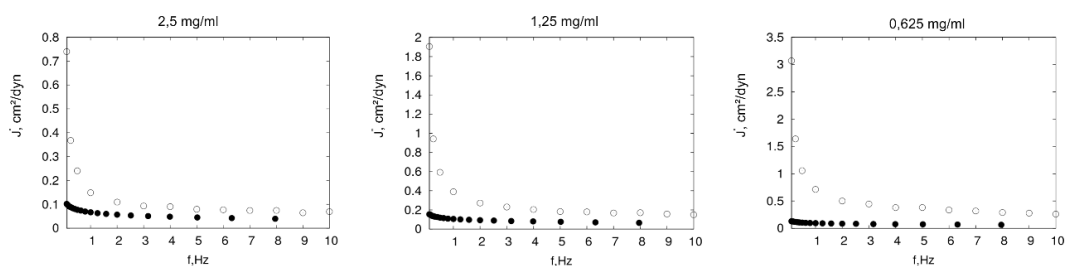
starp šo mērījumu rezultātiem pastāv zināma kvantitatīva atšķirība.

Kā redzams magnētiskās stīgas, kas izgatavotas sasaistot mikroskopiskas superparamagnētiskas daļiņas ar DNS var tikt izmantotas mikroreoloģijā, lai pētītu bakteriofāga Pf1 tīklveidīgās struktūras viskoelastīgās īpašības. Tas ļauj domāt, ka šādas stīgas varētu tikt pielietotas arī citu bioloģisku struktūru pētīšanai, kā piem., F-aktīns, fibrinogēns u.c.

Bez šīs aplūkotās magnētisko stīgu metodes, laboratorijā strādājošo studentu diplomdarbu ietvaros tika aplūkotas arī citas bakteriofāga Pf1 viskoelastīgo īpašību pētīšanas metodes. Pētījumu rezultāti tiks publicēti attiecīgajos diplomdarbos. Vienā no izstrādātajiem diplomdarbiem notiek siltumkustības analīze gan brīvai, gan ar lāzerpinceti satvertai lodītei, kas ievietota Pf1 bakteriofāga gelā. Brīvai

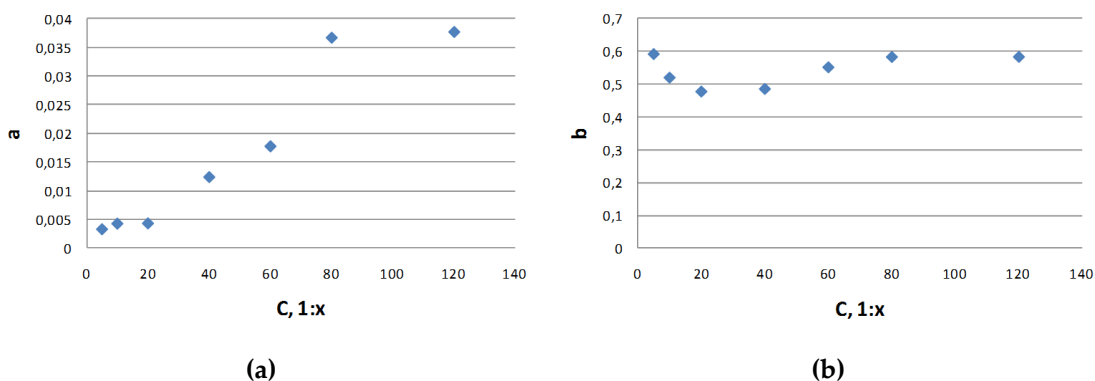


3.38. att.: Kompleksās mehāniskās uzņēmības reālā daļa atkarībā no frekvences dažādām Pf1 koncentrācijām. Pilnie riņķi - mērījumi veikti ar klasisko reometru (*P. Janmey*, Pensilvānijas Universitāte), tukšie riņķi - mērījumi ar magnētiskajām stīgām.

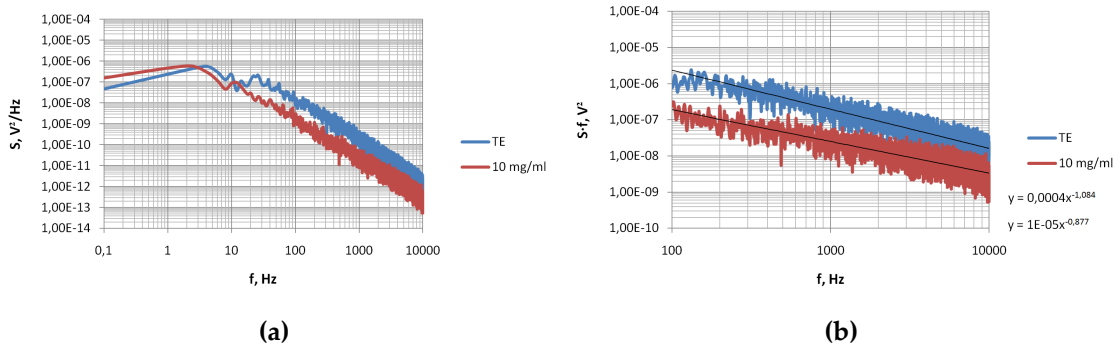


3.39. att.: Kompleksās mehāniskās uzņēmības imaginārā daļa atkarībā no frekvences dažādām Pf1 koncentrācijām. Pilnie riņķi - mērījumi veikti ar klasisko reometru (P. Janmey, Pensilvānijas Universitāte), tukšie riņķi - mērījumi ar magnētiskajām stīgām.

lodītei ar programmu *Labview* vidē tiek noteiktas masas centra koordinātes, vienu sekundi garā laika sprīdī, kas tiek filmēts ar ātrumu 2000 kadri/s. Lai rezultātus vēlāk varētu salīdzināt, mērījumi tika veikti pie līdzīgām bakteriofāga koncentrācijām kā metodē ar magnētisko stīgu svārstībām gelā. Katrai koncentrācijai tika veikti aptuveni divdesmit pieci mērījumi. No iegūtajiem datiem var secināt, ka lodītes vidējās kvadrātiskās novirzes atkarību no laika ietekmē bakteriofāgu koncentrācija. Attēlā 3.40. ir redzamai dati pēc vidējo kvadrātisko noviržu aproksimēšanas ar pakāpes funkciju ax^b dažādām koncentrācijām. Redzams, ka koeficients a ir stipri atkarīgs no koncentrācijas palielinoties gandrīz desmit reizes, bakteriofāga Pf1 koncentrācijai samazinoties no 10 mg/ml (1:5) līdz 0,42 mg/ml (1:120). Jāpiezīmē, ka koeficients $b < 1$, tas nozīmē, ka Brauna kustībai gelā ir subdifūzs raksturs.



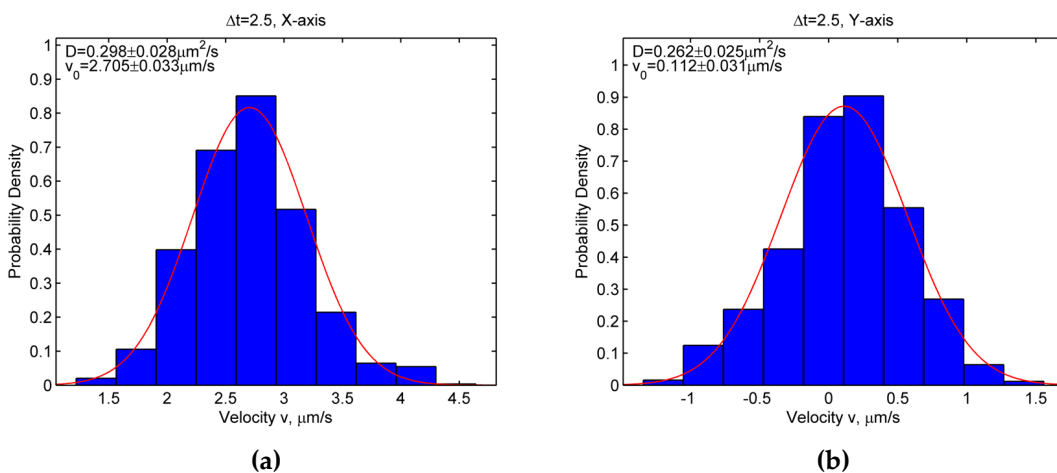
3.40. att.: Vidējās kvadrātiskās novirzes, kas aproksimētas ar pakāpes funkciju pie dažādām bakteriofāga koncentrācijām (M. Kozlovskis).



3.41. att.: Lodītes fluktuāciju spektri tīrā TE buferšķīdumā un Pf1 suspensijā ar koncentrāciju 10 mg/ml.

Līdzīgā veidā, savācot datus no pozīcijas detektora par lodītes novirzēm lāzerpincetē, var iegūt gan vidējo kvadrātisko noviržu atkarību no bakteriofāga koncentrācijas, gan pozīcijas signāla spektra izmaiņas, mainoties vides īpašībām, att. 3.41.

Otrajā darbā ir izmantota magnetoforēzes iekārta, kas izveidota uz PIV (*Particle Image Velocimetry, Dantec*) bāzes. Dotajā gadījumā $1,3 \mu\text{m}$ superparamagnētiskas daļiņas interesējošā paraugā kustas x-ass virzienā, magnētiskā lauka gradienta ietekmē, ko rada priekšmetgaldiņā iemontēts neodīma magnēts. Bez magnētiskā lauka lodītes kustību ietekmē arī siltumkustība, radot ātrumu sadalījumu, kas redzams attēlā 3.42.. No sadalījumiem noteiktais difūzijas koeficients labi atbilst teorētiski aprēķinātajam. Kā parādīja eksperimenti, ļoti labi ir pamanāma di-



3.42. att.: Lodītes ātrumu sadalījumu histogrammas pa x un y asīm $1,3 \mu\text{m}$ lodītei TE buferšķīdumā (G. Kitenbergs).

fūzijas koeficienta un lodītes ātruma izmaiņa, gadījumā, ja lodīte kustas vidē ar viskoelastīgām īpašībām, tādām kā bakteriofāga Pf1 gels.

Iepriekš aprakstītie darbi ir labs turpinājums dotajā promocijas darbā aizsāktajam bakteriofāga Pf1 viskoelastīgo īpašību pētījumiem. Šeit vēl nepieciešami gan papildus dati, gan iegūto mērījumu interpretācija.

Tā kā bakteriofāgi pazīstami ar spēju inficēt baktērijas, kas ir interesanti arī no medicīniskā viedokļa, tāpēc interese par to īpašībām nemitīgi pieaug. Kā liecina pēdējā informācija (*P.Janmey*) ir novērojama divvērtīga sāls ietekme uz bakteriofāga Pf1 gela viskoelastību, kas varētu būt viens no nākotnes pētījumiem šajā jomā.

Nākamis solis, kas plānots kompleksas vides pētījumos, ir esošās lāzerpincetes aprīkošana ar akusto-optisko modulatoru, iegūstot mikroreometru, kas darbojas plašā frekvenču diapazonā.

3.5. Lokans magnētisks peldētājs

Dažādu mikroorganismu kustība ir viena no aktuālām problēmām šķidrumu mehānikā [84]. Tāpēc ir interesanti izveidot mikroierīci, kas atdarinot mikroorganisma kustības, varētu pārvietoties apkārtesošajā šķidrumā. Mākslīgs peldētājs, kas izgatavots no superparamagnētiskām daļiņām eksperimentāli tika pamatots darbā [28]. Arī skaitliskais modelis [27] parāda šāda peldētāja iespējamību, kā arī nosaka tā īpašības. Darbā [85] parādīts, ka var tikt realizēts peldētājs, kas izgatavots no feromagnētiskas stīgas un kurš kustas mainīga magnētiskā lauka ietekmē. Dotajā darbā ir parādīts, ka peldētāja pašdzenošais spēks ir vērsts perpendikulāri svārstīgajam laukam, kas stīgā rada periodiskas U-veida deformācijas. Šāda peldēšanas maniere raksturīga zaļajām aļģēm *Chlamydomonas* [86].

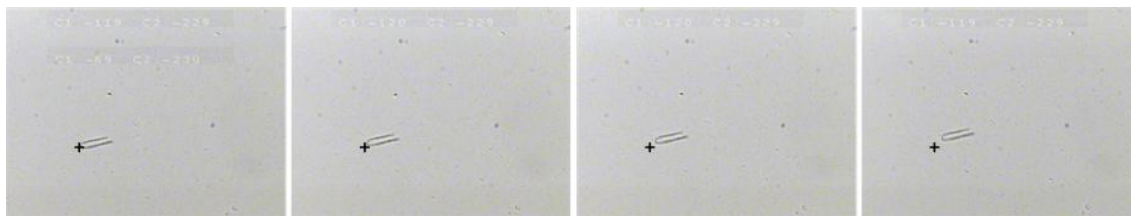
Izmantojot lokanas magnētiskas stīgas, kas aprakstītas iepriekšējās nodaļās, darbā tika pētīta iespēja izgatavot ar ārēju magnētisko lauku darbināmu un vadāmu pašdzenošu peldētāju un iespēju robežas noteikt peldētāja parametrus. Šāda peldētāja darbība balstās uz stīgas simetrijas izjaukšanu, kā rezultātā peldētāja gali kustas dažādi, radot pašdzenošu spēku.

3.5.1. Superparamagnētisks peldētājs

No sasaistītām superparamagnētiskām daļiņām izveidots peldētājs tika realizēts divos variantos. Pirmajā variantā peldētājs tika izgatavots no U veidā saliektām apmēram 20-100 μm garām magnētiskajām stīgām (att. 3.43.). Lai iegūtu matadatas formu, stīga vispirms tiek orientēta 40-60 Oe stipra konstanta lauka virzienā, tad lauka virziens tiek strauji izmainīts par $\pi/2$. Šo darbību rezultātā stīga var pagriezties jaunajā lauka virzienā saglabājot savu taisno formu vai saliekties matadatas formā. Ja stīga pagriežas lauka virzienā saglabājot izstieptu formu, tad darbība ar lauka pārslēgšanu par $\pi/2$ tiek atkārtota līdz stīgu izdodas saliekt U-veida formā.

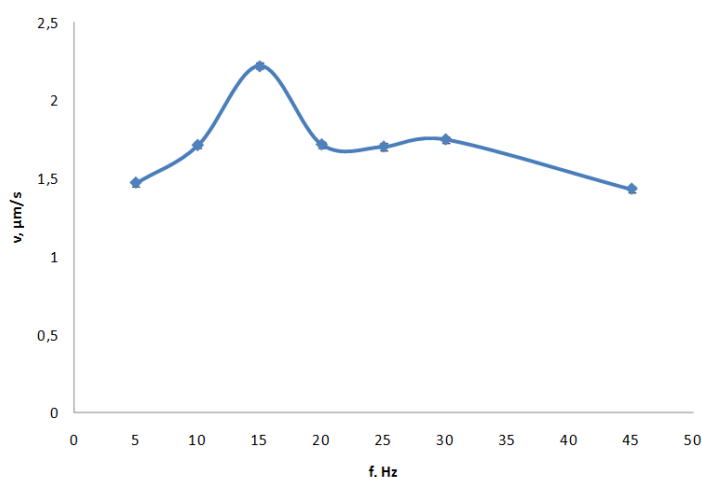
Otrajā variantā peldētājs tika izgatavots piestiprinot ar streptavidīnu pārklātu polistirola lodīti pie viena no 15-50 μm garas magnētiskās stīgas galiem (att. 3.45.). Šo piestiprināšanu veic satverot polistirola lodīti ar lāzerpinceti un pienesot to klāt stīgas vienam galam, līdz izdodas panākt stīgas un lodītes saķeršanos. Acīmredzot, šāda saķeršanās ir iespējama, jo ap magnētisko stīgu ir izveidojušies brīvi biotinizētā DNS gali, kas var saķerties ar streptavidīnu uz piestiprināmās lodītes virsmas.

Peldētāja ātruma noteikšana. Pirms veikt peldētāju pašdzenošā spēka novērtējumu, bija interesanti noskaidrot šo peldētāju attīstīto ātrumu. Uz attēlā 3.43.



3.43. att.: Peldētājs, kas izveidots no saliektas U-veida stīgas. Izvēlētie kadri ir ar laika intervālu 2 s.

redzamo $29 \mu\text{m}$ U-veidā saliektu magnētisko stīgu iedarbojas ar magnētisko lauku, kas sastāv no divām komponentēm: pastāvīgā komponente ar lauka intensitāti 108 Oe ir vērsta peldētāja simetrijas ass virzienā, bet mainīgā komponente ar lauka intensitāti 90 Oe svārstās ar frekvenci robežās no $5 - 45 \text{ Hz}$ perpendikulārā virzienā.

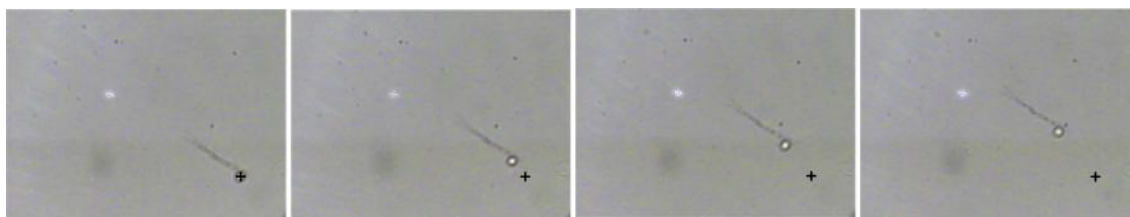


3.44. att.: Matadatas formas peldētāja ātruma atkarība no frekvences.

Attēlā 3.44. ir atlikta šāda peldētāja attīstītā ātruma atkarība no frekvences. Redzams, ka pie frekvences $f = 15 \text{ Hz}$, peldētāja attīstītais ātrums ir vislielākais: $2,22 \mu\text{m/s}$.

Pie tādas pašas lauka konfigurācijas $30 \mu\text{m}$ garš peldētājs ar vienu kājiņu attīsta līdzīgu ātrumu $2,34 \mu\text{m/s}$, taču šeit ātrums ir maksimālais pie magnētiskā lauka frekvences $f = 5 \text{ Hz}$.

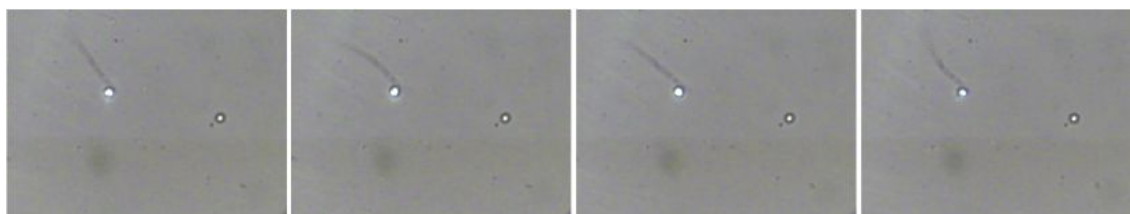
Kā redzams, abi dzinēju tipi vienlīdz labi var tikt izmantoti kā ar ārēju lauku vadāmi peldētāji. Šeit parādītās ātrumu sakarības ir vairāk kvalitatīvas, jo aplū-



3.45. att.: Peldētājs pārvietojas mainīgā magnētiskajā laukā ar vidējo ātrumu $2,34 \mu\text{m/s}$, ja lauka svārstību frekvence ir 5 Hz un $1,10 \mu\text{m/s}$, ja lauka svārstību frekvence ir 15 Hz. Izvēlētie kadri ir ar laika intervālu 2 s.

kots ir diezgan šaurs parametru diapazons, kas varētu ietekmēt šādu peldētāju ātrumu. Lai precīzāk varētu novērtēt šos parametrus būtu jāuzņem mērījumi ar peldētāja ātruma atkarību dažāda garuma stīgām gan atkarībā no magnētiskā lauka svārstību amplitūdas, gan lauka frekvences.

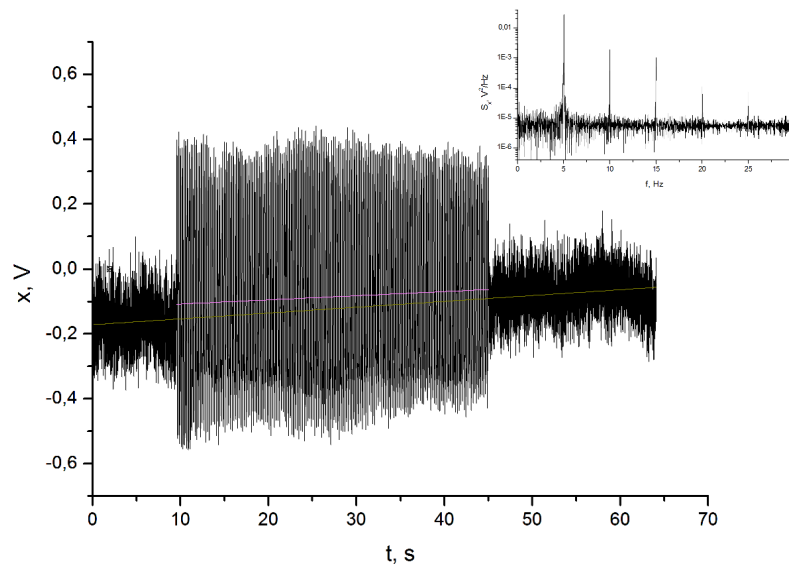
Peldētāja attīstītā spēka noteikšana ar lāzerpinceti. Peldētāja attīstītā spēka noteikšanai tika izmantota lāzerpincete, ar kuru tika satverta pie magnētiskās stīgas piestiprinātā lodīte. Peldētāju dzenošais spēks rada lodītes novirzi spēka virzienā, šo novirzi iespējams noteikt izmantojot nokalibrētu lāzerpincetes pozīcijas detektoru (kvadrant-fotodiodi). Attēlā 3.46. redzama ar lāzerpinceti satverta peldētāja kustība.



3.46. att.: Ar lāzerpinceti satverts peldētājs.

Eksperimentālā iekārta lodītes satveršanai sastāv no lāzerpincetes, kas uzkonstruēta izmantojot mikroskopu *Reichert One-Fifty* ar objektīvu, kura skaitliska apertūra ir 1,25 un palielinājums 100X (att. 2.9. pa kreisi). Pārējās iekārtas komponentes aprakstītas nodaļā 2.1, izņemot fotodetektoru, kas šajā iekārtā ir paštaisīts, izmantojot kvadrantfotodiodi *QD7-5T* (pielikums).

Dotajā eksperimentā magnētiskās stīgas tika iegūtas pēc jau iepriekš aprakstītas procedūras: $10 \mu\text{l}$ 456 bp gari DNS fragmenti ($c = 185 \mu\text{g/ml}$) tiek atšķaidīti ar $30 \mu\text{l}$ TE buferšķīdumu, kuram pievieno $1 \mu\text{l}$ iepriekš mazgātu 500 nm superparamagnētisku daļiņu. Paraugs uz 5 minūtēm tiek ievietots homogēnā magnētiskajā



3.47. att.: Signāls no fotodevēja x asij peldētājam, kam tiek uzlikts 140,6 Oe mainīgs magnētiskais lauks ar frekvenci 5 Hz. Signāla spektrā (labajā stūrī) labi redzamas 5 Hz svārstības.

laukā starp diviem neodīma magnētiem. Iegūtās stīgas tiek atšķaidītas ar 1 ml TE buferšķīduma. Pie magnētiskajām stīgām tiek pievienoti 0,5 μ l 3,2 μ m polistirola lodīšu (*Spherotech PP-30-10*) ar koncentrāciju 5%. Paraugs tiek ievietots starp diviem mikroskopa segstikliņiem, kas atdalīti ar divpusējo līmlentu, izveidojot tilpumu 10 x 10 x 0,028 mm.

Pirms mērījumu veikšanas peldētāja pašdzenošā spēka noteikšanai, lāzerpincete tika kalibrēta, izmantojot tās pašas polistirola lodītes, ko izmanto arī peldētāja izgatavošanā. Kalibrēšanas procesā tika noteikta fotosensora jūtība, kas aprēķināta izmantojot (1.17). Rezultātā, lodītēm ar rādiusu 1,76 μ m tika iegūti šādi kalibrācijas lielumi: robežfrekvence $f_0 = 18,2$ Hz, sensora jūtība $\rho = 0,84$ V/ μ m, lāzerpincetes stinguma koeficients $k = 3,4$ pN/ μ m.

Peldētāja attīstītā spēka mērījumi notika pie lauka konfigurācijas, kurā nemainīgais lauks stīgas virzienā bija ar intensitāti 108 Oe, bet mainīgais lauks stīgai perpendikulārā virzienā, svārstījās ar frekvenci 5 Hz un 15 Hz, un amplitūdu 90 Oe. Grafikā 3.47. attēlā ir redzama kvadrantfotodiodes x ass signāla maiņa laikā, kad laika intervālā $t = 10 - 45$ s tiek ieslēgts mainīgs magnētiskais lauks. Ir redzams, ka pēc magnētiskā lauka ieslēgšanas, signāla vidējā vērtība (zilā līnija) ir novirzījusies uz augšu no signāla vidējās vērtības bez lauka (dzeltenā līnija). Nosakot šo vidējo vērtību starpību un zinot lāzerpincetes stinguma koeficientu,

iespējams noteikt spēka komponenti x ass virzienā. Līdzīgi apstrādājot datus y ass virzienā iegūst, ka dotajā gadījumā, peldētāja attīstītais spēks ir 0,59 pN. Pie tādas pašas lauka konfigurācijas, bet mainīgā lauka frekvences 15 Hz, peldētāja noteiktā attīstītā spēka vērtība ir 0,23 pN.

No attēla 3.47. redzams, ka uzņemtais signāls dreifē (dzeltenā un zilā līnija nav paralēlas laika asij), tāpēc mērījuma precizitāte ir grūti novērtējama. Šo dreifu, izsauc lāzerpincetes mehāniskās komponentes. Taču salīdzinot šos datus ar iepriekšējā nodaļa noteikto šī paša peldētāja ātrumu, redzams, ka līdzīgi kā ātrumi, kas pie 5 un 15 Hz atšķiras 2,13 reizes, arī peldētāja attīstītais spēks pie šīm divām frekvencēm atšķiras ar līdzīgu attiecību - 2,56.

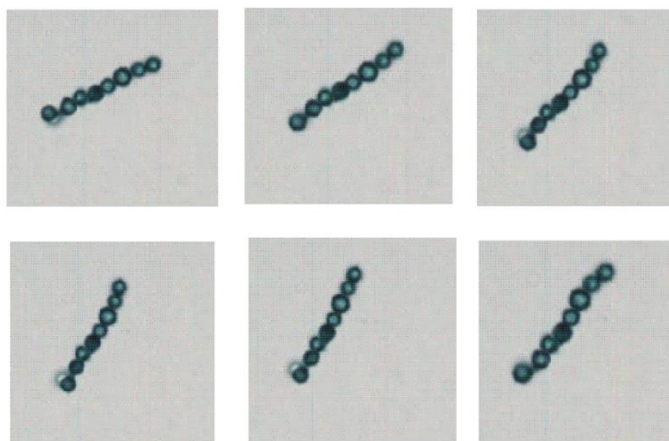
Pēc lāzerpincetes pārceļšanas uz mikroskopu *Leica DMI3000 B*, kura izmantošanas gadījumā pozīcijas signāla dreifam būtu jābūt novērstam, tika atkārtota peldētāja izgatavošanas procedūra. Diemžēl, peldētāja izgatavošanu atkārtot neizdevās, lāzerpincetes darbības apgabals, dotajā gadījumā, atrodas tālāk ārpus satvertās lodītes robežām. Tas iedarbojas arī uz magnētisko stīgu, to sadalot fragmentos. Tam par iemeslu ir, tas ka šeit ir izmantots inversijas mikroskops. Tā kā stīgas un lodītes ir apakšējā segstikliņa tuvumā, tad lāzerpincete iedarbojas, neizejot caur šķidrums slāni, kā tas ir parastā mikroskopa gadījumā. Kā zināms, šķidrums slānis ievērojami pavājinā lāzerpincetes radīto spēku. No tā seko, ka iespējams risinājums ir lāzerpincetes jaudas samazināšana, kas arī būtu dotā pētījuma turpmākais attīstības virziens.

3.5.2. Feromagnētisks peldētājs

Tāpat kā superparamagnētisku peldētāju gadījumā arī feromagnētisks peldētājs var tikt izveidots nojaucot stīgas abu galu simetriju. Šāds peldētājs var rasties, ja stīgai ir pieķērusies kāda lieka lodīte, kas neatrodas uz stīgas garenass.

Feromagnētiskās stīgas dotajā gadījumā ir izgatavotas, sasaistot ar streptavidīnu funkcionalizētas $4,26 \mu\text{m}$ feromagnētiskas daļiņas ar 1000 bp gariem DNS fragmentiem, izmantojot procesu, kas ir aprakstīts nodaļā 3.2. Iegūtās stīgas ir ievietotas tilpumā starp diviem mikroskopa segstikliņiem, kas atdalīti ar divpusējās līmlentes diviem slāņiem (0,056 mm). Mainīgs magnētiskais lauks ar frekvenci no 0 līdz 100 Hz tiek iegūts izmantojot divus spoļu pārus, kur viens pāris rada 9 Oe stipru konstantu magnētisko lauku, otrs - tam perpendikulāri mainīgu lauku ar intensitāti 18 Oe. Stīgu novērošanai tika izmantots mikroskops *Leica DMI3000 B* un ātrā videokamera *Mikrotron MC1363* ar filmēšanas ātrumu 1000 kadri/s.

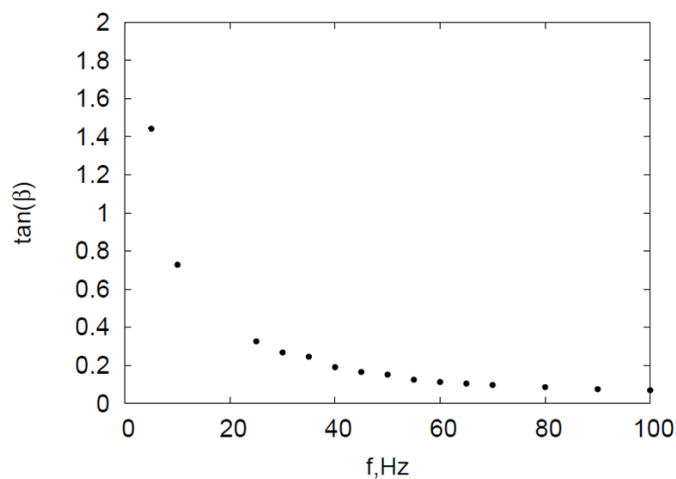
Attēlā 3.48. ir redzams peldētājs, kas ir izveidojies no feromagnētiskas stīgas,



3.48. att.: Feromagnētiska peldētāja konfigurācija ar laika intervālu 0,005 s. Magnētiskā lauka svārstību frekvence $f = 25$ Hz.

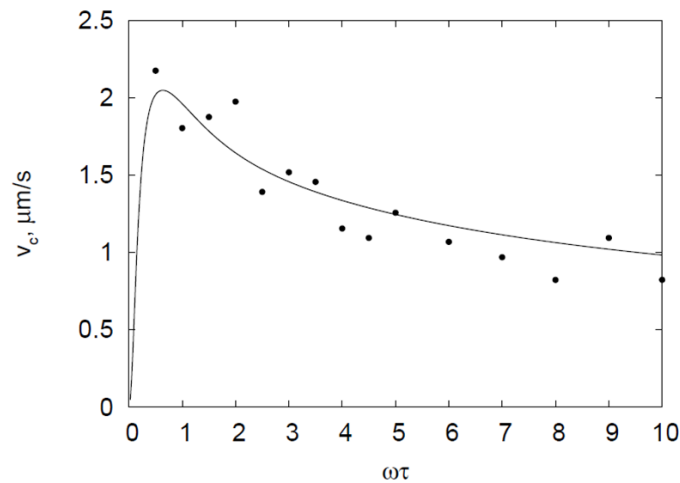
kas sastāv no 9 feromagnētiskām lodītēm. Redzams, ka devītā lodīte ir pieķērusies stīgas apakšēja galā, perpendikulāri pēdējai lodītei, tas nodrošina simetrijas izjaukšanu, kas nepieciešama pašdzenoša spēka radīšanai. Apskatītajā gadījumā magnētiskais lauks svārstās ar frekvenci 25 Hz.

Peldētāja orientācija katrā kadrā tika noteikta izmantojot *Matlab* digitālās attēlu apstrādes kodu. Attēlā 3.49. redzama nomērītā peldētāja svārstību amplitūdas tangensa atkarība no svārstību frekvences



3.49. att.: Feromagnētiska peldētāja orientācijas leņķa amplitūdas atkarība no frekvences.

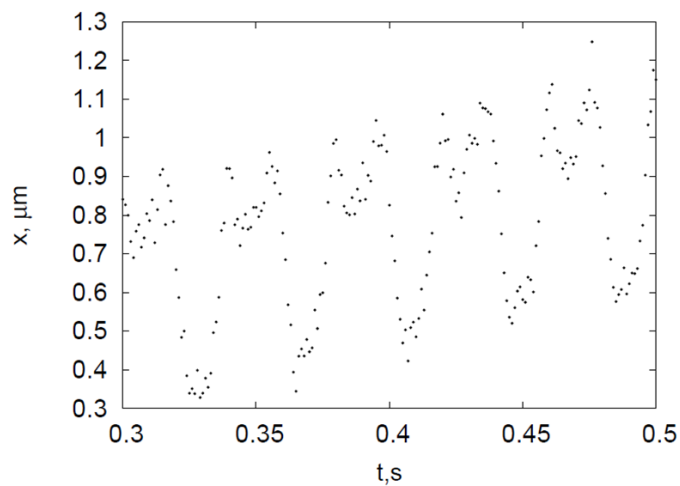
Bez periodiskām orientācijas izmaiņām aplūkotais peldētājs pārvietojas arī konstantā magnētiskā lauka virzienā, ko ir izsaucis peldētāja abu galu nesimetrisks, dēļ pievienotās liekās lodītes. Divu sekunžu garā laika intervālā noteiktā



3.50. att.: Feromagnētiska peldētāja ātruma atkarība no magnētiskā lauka frekvences.

peldētāja attīstītā ātruma atkarība no frekvences ir parādīta attēlā 3.50., redzams, ka ātruma maksimums ir zemākajā frekvenču diapazonā.

Feromagnētiska peldētāja dinamika laika intervālā no 0,3 līdz 0,5 s pie lauka svārstību frekvences 25 Hz ir redzama attēlā 3.51., kā peldētāja masas centra koordinātu punktu kopa. Redzams, ka masas centrs pārvietodamies uz priekšu rada sarežģītas turpu-šurpu kustības.



3.51. att.: Feromagnētiska peldētāja masas centra koordinātes laika intervālā no 0,3 līdz 0,5 s. Lauka frekvence ir 25 Hz.

Diemžēl, uz doto brīdi nav teorētiskā modeļa, kas spētu aprakstīt feromagnētiska peldētāja pašdzenošā spēka radīto kustību mainīgā magnētiskajā laukā. Salīdzinot superparamagnētiska un feromagnētiska peldētāja attīstītos ātru-

mus, redzamas, ka tie ir tuvi, apmēram $2 \mu\text{m/s}$, bet feromagnētiskajam peldētājam uzliktais magnētiskais lauks ir vājāks. Īsākiem, bet sarežģītākas formas feromagnētiskiem peldētājiem vizuāli tika novērots, ka pie spēcīgāka magnētiskā lauka, to attīstītais ātrums var būt arī daudz lielāks. Taču tie tuvāk netiek aplūkoti to sarežģītās formas dēļ, kas liedz saprast šādu peldētāju pašdzenošo spēku rašanās principus.

Kopsavilkums un secinājumi

Darba autors aizstāv tēzi, ka mīkstus magnētiskus materiālus ir iespējams izmantot jauna tipa mikroierīču radīšanai. Šo tēzi apstiprina sekojoši darbā iegūtie rezultāti:

- Pirmo reizi pasaulē parādīts, ka lokanas feromagnētiskas stīgas ir iespējams sintezēt no ar streptavidīnu funkcionalizētām mikrodaļiņām un attiecīga garuma biotinizētiem DNS fragmentiem;
- Parādīts, ka lokanas superparamagnētiskas stīgas ir iespējams sintezēt no komerciāli pieejamām funkcionalizētām superparamagnētiskām mikrodaļiņām un attiecīga garuma biotinizētiem DNS fragmentiem;
- Stīgu elastības moduļi noteikti pēc to deformācijas magnētiskajā laukā, kā rezultātā parādīts, ka izmantoto stīgu formu termiskās fluktuācijas neietekmē;
- Atrastas feromagnētisku stīgu deformācijas magnētiskajā laukā, tai skaitā cilpas relaksācija caur trešo dimensiju pie magnētiskā lauka virziena inversijas;
- Atrasts, ka pie pietiekami augstām frekvencēm feromagnētiskas stīgas nostājas perpendikulāri uzliktajam mainīgajam magnētiskajam laukam;
- Parādīts, ka uz izveidoto magnētisko stīgu bāzes iespējams izveidot pašdeņošas magnētiskas stīgas, kuru radīto dzinējspēku var noteikt izmantojot lāzerpinceti;
- Parādīts, ka sintezētās stīgas iespējams izmantot mikroreoloģijā, kā rezultātā noteiktas bakteriofāga Pf1 gela viskoelastīgās īpašības;
- Parādīts, ka nekustīgu magnetotaktisku baktēriju magnētisko momentu var noteikt izmantojot kritisko frekvenci turpu-šurpu orientācijai rotējoša laukā;

- Atrasta virkne magnetotaktisku baktēriju kustības rotējošā laukā raksturojošie lielumi un īpašības: trajektorijas liekuma atkarība no frekvences; liekuma centru gadījuma klejošana, ko izsauc baktērijas motoru pārslēgšanās; trajektorijas ar negatīviem liekumiem kritisko frekvenču diapazonā; nedzīvas baktērijas nostāšanās perpendikulāri rotējoša lauka plaknei pie pietiekami augstas lauka frekvences.

Izmantotā literatūra

- [1] Mallouk, T.E. and A. Sen: *Powering nanorobots*. Scientific American, 09:60–65, 2009.
- [2] Dobson, J.: *Remote control of cellular behaviour with magnetic nanoparticles*. Nature Nanotechnology, 3:139–143, 2008.
- [3] Rosensweig, R.E.: *Directions in ferrohydrodynamics (invited)*. Journal of Applied Physics, 57:4259–4264, 1985.
- [4] Cebers, A. and M.M. Maiorov: *Magnetostatic instabilities in plane layers of magnetizable fluids*. Magnitnaya Gidrodinamika, 1:27–35, 1980. in Russian.
- [5] Cebers, A. and M.M. Maiorov: *Structure of the interface between air bubble and magnetic liquid in magnetic field*. Magnitnaya Gidrodinamika, 3:15–20, 1980. in Russian.
- [6] Frankel, D., H.N.W. Lekkerkerker, and Th. Odijk: *Ordering in supramolecular fluids*. Physica A, 176(1):37–53, 1991.
- [7] Helgesen, G., P. Pieranski, and A.T. Skjeltorp: *Dynamic behavior of simple magnetic hole systems*. Phys. Rev. A, 42(12):7271–7280, 1990.
- [8] Helgesen, G., P. Pieranski, and A.T. Skjeltorp: *Nonlinear phenomena in systems of magnetic holes*. Phys. Rev. Lett., 64(12):1425–1428, 1990.
- [9] Hoffmann, B. and W. Köhler: *Reversible light-induced cluster formation of magnetic colloids*. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 262(2):289–293, 2003.
- [10] Pu, Shengli, Xianfeng Chen, Weijun Liao, Lijun Chen, Yuping Chen, and Yuxing Xia: *Laser self-induced thermo-optical effects in a magnetic fluid*. Journal of Applied Physics, 96(10):5930–5932, 2004.

- [11] Pu, Shengli, Xianfeng Chen, Weijun Liao, Lijun Chen, Yuping Chen, and Yuxing Xia: *Suppressing the thermal lens effect by magnetic-field-induced mass transfer and phase separation in a magnetic fluid*. Applied Physics Letters, 87(2):021905, 2005.
- [12] McTague and P. John: *Magnetoviscosity of magnetic colloids*. Journal of Chemical Physics, 51(1):133–136, 1969.
- [13] Цеберс, А.О.: *Межфазные напряжения в гидродинамике жидкостей с внутренними вращениями*. Магнитная гидродинамика, 1:79–82, 1975.
- [14] Пшеничников, А.Ф. и А.В. Лебедев: *О действии вращающегося магнитного поля на погруженный в магнитную жидкость диэлектрический цилиндр*. Прикладная механика и техническая физика, 37(3):3–10, 1996.
- [15] Шлиомис, М.И.: *Магнитные жидкости*. Успехи физических наук, 112(3):427–458, 1974.
- [16] Rosensweig, R.E.: *Fluid dynamics and science of magnetic liquids*. Advances in Electronics and Electron Physics, 48:103–199, 1979.
- [17] Розенцвейг, Р.: *Феррогидродинамика*. Мир, 1989.
- [18] Блум, Э.Я., М.М. Майоров, и А.О. Цеберс: *Магнитные жидкости*. Зинатне, 1989.
- [19] Bean, C.P. and J.D. Livingston: *Superparamagnetism*. Journal of Applied Physics, 30(4):120–129, 1959.
- [20] Hayes, M.A., N.A. Polson, and A.A. Garcia: *Active control of dynamic superparticle structures in microchannels*. Langmuir, 17(9):2866–2871, 2001.
- [21] Furst, E.M., C. Suzuki, M. Fermigier, and A.P. Gast: *Permanently linked monodisperse paramagnetic chains*. Langmuir, 14(26):7334–7336, 1998.
- [22] Biswal, S.L. and A.P. Gast: *Mechanics of semiflexible chains formed by poly(ethylene glycol)-linked paramagnetic particles*. Phys. Rev. E, 68(2):021402, 2003.
- [23] Goubault, C., F. Leal-Calderon, J.L. Viovy, and J. Bibette: *Self-assembled magnetic nanowires made irreversible by polymer bridging*. Langmuir, 21(9):3725–3729, 2005.

- [24] Goubault, C., P. Jop, M. Fermigier, J. Baudry, E. Bertrand, and J. Bibette: *Flexible magnetic filaments as micromechanical sensors*. *Physical Rev. Lett.*, 91(26):260802, 2003.
- [25] Biswal, S.L. and A.P. Gast: *Magnetically actuated micromixers*. *Analytical Chemistry*, 76:6448–6455, 2004.
- [26] Cebers, A.: *Flexible magnetic filaments in a shear flow*. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 300:67–70, 2006.
- [27] Cēbers, A.: *Flexible magnetic filaments*. *Magneto hydrodynamics*, 41:63–72, 2005.
- [28] Dreyfus, R., J. Baudry, M.L. Roper, M. Fermigier, J. Bibette, and H.A. Stone: *Microscopic artificial swimmer*. *Nature*, 437:862–865, 2005.
- [29] Roper, M., R. Dreyfus, J. Baudry, M. Fermigier, J. Bibette, and H.A. Stone: *Do magnetic micro-swimmers move like eukaryotic cells?* *Proc. R. Soc. A*, 464:877–904, 2008.
- [30] Koenig, A., P. Hébraud, C. Gosse, R. Dreyfus, J. Baudry, E. Bertrand, and J. Bibette: *Magnetic force probe for nanoscale biomolecules*. *Phys. Rev. Lett.*, 95(12):128301, 2005.
- [31] Manning, G.S.: *The persistence length of DNA is reached from the persistence length of its null isomer through an internal electrostatic stretching force*. *Biophys J*, 91(10):3607–3616, 2006.
- [32] Blakemore, R.: *Magnetotactic bacteria*. *Science*, 190:377–379, 1975.
- [33] McKay, C.P., E.I. Friedmann, R.B. Frankel, and D.A. Bazylinski: *Magnetotactic bacteria on Earth and on Mars*. *Astrobiology*, 3:263–270, 2003.
- [34] Urban, J.E.: *Adverse effects of microgravity on the magnetotactic bacterium Magnetospirillum Magnetotacticum*. *Acta Astronautica*, 47(10):775–780, 2000.
- [35] Komeili, A., Zhuo Li, D.K. Newman, and G.J. Jensen: *Magnetosomes are cell membrane invaginations organized by the actin-like protein MamK*. *Science*, 311(5758):242–245, 2006.
- [36] Scheffel, A., M. Gruska, D. Faivre, A. Linaroudis, JM. Plitzko, and D. Schuler: *An acidic protein aligns magnetosomes along a filamentous structure in magnetotactic bacteria*. *Nature*, 440(7080):110–114, 2006.

- [37] Grunberg, K., C. Wawer, B.M. Tebo, and D. Schuler: *A large gene cluster encoding several magnetosome proteins is conserved in different species of magnetotactic bacteria*. *Applied and Environmental Microbiology*, 67:4573–4582, 2001.
- [38] Erglis, K., Qi Wen, V. Ose, A. Zeltins, A. Sharipo, P. Janmey, and A. Cebers: *Dynamics of magnetotactic bacteria in a rotating magnetic field*. *Biophysical Journal*, 93:1402–1412, 2007.
- [39] Baker, M.D., P.M. Wolanin, and J.B. Stock: *Systems biology of bacterial chemotaxis*. *Current Opinion in Microbiology*, 9:187–192, 2006.
- [40] Bahaj, A.S., P.A.B. James, and F.D. Moeschler: *An alternative method for the estimation of the magnetic moment of non-spherical magnetotactic bacteria*. *IEEE Transactions of Magnetics*, 32(5):5133–5135, 1996.
- [41] Esquivel, D.M.S. and H.G.P. Lins de Barros: *Motion of magnetotactic microorganisms*. *Journal of Experimental Biology*, 21:153–163, 1986.
- [42] Kalmijn, A.: *Biophysics of geomagnetic field detection*. *IEEE Transactions of Magnetics*, 17(1):1113–1124, 1981.
- [43] Proksch, R.B., T.E. Schäffer, B.M. Moskowitz, and E.D. Dahlberg: *Magnetic force microscopy of the submicron magnetic assembly in a magnetotactic bacterium*. *Appl. Phys. Lett*, 66(19):2582–2584, 1995.
- [44] Rosenblatt, C., F.F. Torres de Araujo, and R.B. Frankel: *Light scattering determination of magnetic moments of magnetotactic bacteria*. *Appl. Phys. Lett*, 53(3):2727–2729, 1982.
- [45] Chemla, Y.R., H.L. Grossman, T.S. Lee, J. Clarke, M. Adamkiewicz, and B.B. Buchanan: *A new study of bacterial motion: superconducting quantum interference device microscopy of magnetotactic bacteria*. *Biophysical Journal*, 76(6):3323–3330, 1999.
- [46] Saiyed, ZM, SD Telang, and CN Ramchand: *Application of magnetic techniques in the field of drug discovery and biomedicine*. *BioMagnetic Research and Technology*, 1, 2003.
- [47] Heyen, U. and D. Schuler: *Growth and magnetosome formation by microaerophilic magnetospirillum strains in an oxygen-controlled fermentor*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 61:536–544, 2003.

- [48] Faivre, D. and D. Schuler: *Magnetotactic bacteria and magnetosomes*. Chem. Rev., 108(11):4875–4898, 2008.
- [49] Prozorov, T., S.K. Mallapragada, B. Narasimhan, L. Wang, P. Palo, M. Nilsen-Hamilton, T.J. Williams, D.A. Bazylinski, R. Prozorov, and P.C. Canfield: *Protein-mediated synthesis of uniform superparamagnetic magnetite nanocrystals*. Advanced Functional Materials, 17(6):951–957, 2007.
- [50] Bazylinski, D.A. and R.B. Frankel: *Magnetosome formation in prokaryotes*. Nature Reviews Microbiology, 2:217–230, 2004.
- [51] Ashkin, A.: *Acceleration and trapping of particles by radiation pressure*. Phys. Rev. Lett., 24:156–159, 1970.
- [52] Ashkin, A., J.M. Dziedzic, J.E. Bjorkholm, and Steven Chu: *Observation of a single-beam gradient force optical trap for dielectric particles*. Optics Lett., 11(5):288–290, 1986.
- [53] Mangeol, P., D. Cote, T. Bizebard, O. Legrand, and U. Bockelmann: *Probing DNA and RNA single molecules with a double optical tweezer*. The European Physical Journal E, 19:311–317, 2006.
- [54] Rohrbach, A. and E.H.K. Stelzer: *Trapping forces, force constants, and potential depths for dielectric spheres in the presence of spherical aberrations*. Applied Optics, 41(13):2494–2507, 2002.
- [55] Neuman, K.C. and S.M. Block: *Optical trapping*. Review of Scientific Instruments, 75(9):2787–2809, 2004.
- [56] Svoboda, K. and S.M. Block: *Biological applications of optical forces*. Ann. Rev. Biophys. Biomol., 23:247–285, 1994.
- [57] Amblard, F., A.C. Maggs, B. Yurke, A.N. Pargellis, and S. Leibler: *Subdiffusion and anomalous local viscoelasticity in actin networks*. Phys. Rev. Lett., 77(21):4470–4473, 1996.
- [58] Bausch, A.R., W. Möller, and E. Sackmann: *Measurement of local viscoelasticity and forces in living cells by magnetic tweezers*. Biophysical Journal, 76(1):573–579, 1999.
- [59] Schmidt, F.G., B. Hinner, E. Sackmann, and J.X. Tang: *Viscoelastic properties of semiflexible filamentous bacteriophage fd*. Phys. Rev. E, 62(4):5509–5517, 2000.

- [60] Möller, W., Nemoto I., T. Matsuzaki, T. Hofer, and J. Heyder: *Magnetic phagosome motion in J774A.1 macrophages: Influence of cytoskeletal drugs*. Biophysical Journal, 79(2):720–730, 2000.
- [61] Fabry, B., G.N. Maksym, J.P. Butler, M. Glogauer, D. Navajas, and J.J. Fredberg: *Scaling the microrheology of living cells*. Phys. Rev. Lett., 87(14):148102, 2001.
- [62] Mizuno, D., C. Tardin, C.F. Schmidt, and F.C. MacKintosh: *Nonequilibrium mechanics of active cytoskeletal networks*. Science, 315(5810):370–373, 2007.
- [63] Wilhelm, C., F. Gazeau, and J. C. Bacri: *Rotational magnetic endosome microrheology: Viscoelastic architecture inside living cells*. Phys. Rev. E, 67(6):061908, 2003.
- [64] Yamada, S., D. Wirtz, and S.C. Kuo: *Mechanics of living cells measured by laser tracking microrheology*. Biophysical Journal, 78(4):1736–1747, 2000.
- [65] Gittes, F., B. Schnurr, P.D. Olmsted, F.C. MacKintosh, and C.F. Schmidt: *Microscopic viscoelasticity: Shear moduli of soft materials determined from thermal fluctuations*. Phys. Rev. Lett., 79(17):3286–3289, 1997.
- [66] Wilhelm, C., J. Browaeys, A. Ponton, and J. C. Bacri: *Rotational magnetic particles microrheology: The maxwellian case*. Phys. Rev. E, 67(1):011504, 2003.
- [67] Gardel, M.L., M.T. Valentine, and D.A. Weitz: *Microrheology*. In (Ed), K. Breuer (editor): *Microscale Diagnostic Techniques*, pages 1–50. Springer, 2005.
- [68] Vuppu, A.K., A.A. Garcia, and M.A. Hayes: *Video microscopy of dynamically aggregated paramagnetic particle chains in an applied rotating magnetic field*. Langmuir, 19(21):8646–8653, 2003.
- [69] Melle, S., O.G. Calderon, M.A. Rubio, and G.G. Fuller: *Rotational dynamics in dipolar colloidal suspensions: video microscopy experiments and simulations results*. Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics, 102(2):135–148, 2002.
- [70] Goubault, C.: *Colloïdes magnétiques: auto-organisation et applications biologiques*. PhD thesis, Université Pierre et Marie Curie, Paris, 2004.
- [71] Melle, S., O.G. Calderón, M.A. Rubio, and G.G. Fuller: *Microstructure evolution in magnetorheological suspensions governed by Mason number*. Phys. Rev. E, 68(4):041503, 2003.

- [72] Лайонс, Р.Г.: *Цифровая обработка сигналов*. БИНОМ, 2009.
- [73] Odijk, T.: *Polyelectrolytes near the rod limit*. J. Polym. Sci. Polym. Phys, 15:477–483, 1977.
- [74] Skolnick, J. and M. Fixman: *Electrostatic persistence length of a wormlike polyelectrolyte*. Macromolecules, 10(5):944–948, 1977.
- [75] Ērglis, K., D. Zhulenkovs, A. Sharipo, and A. Cēbers: *Elastic properties of DNA linked flexible magnetic filament*. Journal of Physics: Condensed Matter, 20(20):204107, 2008.
- [76] Cebers, A.: *Dynamics of a chain of magnetic particles connected with elastic linkers*. Journal of Physics: Condensed Matter, 15(15):1335–1344, 2003.
- [77] Ērglis, K., M. Belovs, and A. Cēbers: *Flexible ferromagnetic filaments and the interface with biology*. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 321:650–654, 2009.
- [78] Belovs, M. and A. Cebers: *Nonlinear dynamics of semiflexible magnetic filaments in an ac magnetic field*. Phys. Rev. E, 73(5):051503, 2006.
- [79] Ērglis, K., R. Livanovičs, and A. Cēbers: *Three dimensional instability of flexible ferromagnetic filament loop*. 2010. submitted.
- [80] Ērglis, K., L. Alberte, and A. Cēbers: *Thermal fluctuations of non-motile magnetotactic bacteria in ac magnetic fields*. Magnetohydrodynamics, 44:223–236, 2008.
- [81] Berg, H.C.: *E. coli in Motion*. Springer, 2003.
- [82] Ērglis, K., V. Ose, A. Zeltiņš, and A. Cēbers: *Viscoelasticity of the bacteriophage Pf1 network measured by magnetic microrheology*. Magnetohydrodynamics, 46:3–9, 2010.
- [83] Morse, D.C.: *Viscoelasticity of concentrated isotropic solutions of semiflexible polymers. 1. model and stress tensor*. Macromolecules, 31(20):7030–7043, 1998.
- [84] Brennen, C. and H. Winet: *Fluid mechanics of propulsion by cilia and flagella*. Annual Review of Fluid Mechanics, 9:339–398, 1977.
- [85] Cebers, A. and M. Belovs: *Ferromagnetic microswimmer*. Phys. Rev. E, 79:051503, 2009.

- [86] Ringo, D.L.: *Flagellar motion and fine structure of the flagellar apparatus in chlamydomonas*. Journ.Cell.Biol., 33(3):543–571, 1967.

Pateicības

Izsaku pateicību darba vadītājam Prof. Andrejam Cēberam, par teorētisko bāzi un doto iespēju strādāt pie promocijas darba tapšanas.

Paldies Dr. Paulim Janmejam (*P. Janmey*, Pensilvānijas universitāte) par sadarbību, kā arī palīdzību pētījumos nepieciešamo materiālu un iekārtu sagādē.

Paldies kolēģiem A. Šaripo, A. Zeltiņam, D. Žuļenkovam no LU Biomedicīnas studiju un pētījumu centra par bioloģisko materiālu sagatavošanu un sadarbību.

Paldies M. Majorovam (LU Fizikas institūts) par palīdzību daļiņu magnētisko īpašību noteikšanā.

Darbs tapis ar ESF projektu "Atbalsts doktora studijām Latvijas Universitātē" (Nr.2009/0138/1DP/1.1.2.1.2/09/IPIA/VIAA/004) un "Doktorantu un jauno zinātnieku pētniecības darba atbalsts Latvijas Universitātē" (Nr. 2004/0001/VPD1/ESF/PIAA/04/NP/3.2.3.1/0001/0063) atbalstu.



LATVIJAS
UNIVERSITĀTE
ANNO 1919

Pielikums

Buferšķīdumi

TE buferšķīdums sastāv no 10 mM TRIS un 1 mM EDTA. Buferšķīduma pH var palielināt TRIS šķīdumam pievienojot HCl vienlaicīgi kontrolējot ar pH-metru.

C++ programma punktu pārkārtošanai

```
//-----
#include <vcl.h>
#pragma hdrstop

#include "Unit1.h"
#include <stdio.h>
#include <fstream>
#include <math.h>

//-----
#pragma package(smart_init)
#pragma resource "*.dfm"
TForm1 *Form1;
//-----
__fastcall TForm1::TForm1(TComponent* Owner)
    : TForm(Owner)
{
}

//-----
void __fastcall TForm1::SpeedButton1Click(TObject *Sender)
{
    using namespace std;
    ifstream FILE;
    count=0;
    countf=0;
    Memo1->Clear();
    Memo2->Clear();
    Chart1->Series[0]->Clear();
    Chart2->Series[0]->Clear();
    XY->x=0;
    XY->y=0;
    Edit1->Clear();
    Edit2->Clear();
    SpeedButton2->Enabled=true;

    // Nolasam failu
    if (OpenDialog1->Execute())
    {
        FName= OpenDialog1->FileName;
        FILE.open(FName.c_str());
        while(FILE)
        {
            FILE >> X[countf];
            FILE >> Y[countf];
            FILE >> fr [countf];
            FILE >> z;
            countf++;
        }
        FILE.close();
    }
}

```

```

}
f = 0;

}
//-----

void __fastcall TForm1::Button1Click(TObject *Sender)
{
// Kartojam
// Skirojam pieliekot numuru

    struct XYStr XYs;
    int i, j, n, m;
    double att1, att2, minatt;
    AnsiString str;
    bool main;
    Form1->XY[0].x=StrToFloat(Edit1->Text);
    Form1->XY[0].y=StrToFloat(Edit2->Text);
    for (i=1; i<count; i++)
        XY[i].panemts = false;
    for (i=1; i<count; i++)
    {
        if ((XY[0].x==XY[i].x)&&(XY[0].y==XY[i].y))
        {
            XY[i].n = 0;
            XY[i].panemts= true;
            n=i;
        }
    }
    m=1;
    n=0;
    while(m<count)
    {
        minatt=9999999;
        for (i=1; i<count; i++)
        {
            att1 = sqrt(abs((XY[n].x-XY[i].x)*(XY[n].x-XY[i].x)+(XY[n].y-XY[i].y)*
                (XY[n].y-XY[i].y)));
            if ((att1<minatt)&&(XY[i].panemts==false))
            {
                minatt=att1;
                XY[i].n=m;
                j=i;
            }
        }
        XY[j].panemts= true;
        n=j;
        m++;
    }
// sakarto augosa sec.
i=0;
j=0;
n=0;
main = true;
}

```

```

while(main==true)
{
    if (XY[i+1].n<XY[i].n)
    {
        XYs=XY[i];
        XY[i]=XY[i+1];
        XY[i+1]=XYs;
        j++;
    }
    i++;
    if (i==count)
    {
        i=0;
        if (j==0) main = false;
        j=0;
    }
}

for (i=0; i<count-1;i++)
{
    str.sprintf("%.f %.f",XY[i].x, XY[i].y);
    Chart2->Series[0]->AddXY(XY[i].x, XY[i].y, "");
    Memo2->Lines->Append(str);
}

}
//-----
// Saglabajam faila

void __fastcall TForm1::SpeedButton2Click(TObject *Sender)
{
    AnsiString FNamec, FNamet, str;

    FNamet=FName;
    FNamec=FNamet.Delete((FNamet.Length()-3),4);
    str.printf("_%d.txt",f-1);
    FNamet=FNamec.Insert(str,FNamec.Length()+1);
    Memo2->Lines->SaveToFile(FNamet.c_str());
    // SpeedButton2->Enabled=false;
}
//-----
// Izvelamies pirmo punktu

void __fastcall TForm1::Chart1ClickSeries(TCustomChart *Sender,
TChartSeries *Series, int ValueIndex, TMouseButton Button,
TShiftState Shift, int X, int Y)
{
    double x,y;
    Chart1->Series[0]->GetCursorValues(x,y);
    Edit1->Text=FloatToStr(RoundTo(x,0));
}

```

```
        Edit2->Text=FloatToStr(RoundTo(y,0));
    }
//-----
// Attelo grafiski un ieks memo

void __fastcall TForm1::Button2Click(TObject *Sender)
{
    int i,k;
    AnsiString str;

        k = 0;
        Memo1->Clear();
Memo2->Clear();
Chart1->Series[0]->Clear();
Chart2->Series[0]->Clear();
XY->x=0;
XY->y=0;
Edit1->Clear();
Edit2->Clear();
        for (i=0; i<countf-1; i++)
        {
            if (f == fr[i]){
                XY[k].x = X[i];
                XY[k].y = Y[i];
                k++;
            }
        }

        for (i=0; i<k; i++)
        {

            str.sprintf("%.f      %.f",XY[i].x, XY[i].y);
            Chart1->Series[0]->AddXY(XY[i].x, XY[i].y,""),
            Memo1->Lines->Append(str);
        }
        Button2->Caption=f;

        count = k;
        f++;
    }
//-----
```

Matlab programma baktēriju trajektoriju noteikšanai

```

%-----orienttrack.m-----
%% Crop image and use John Crocker's Algorithm to find the centers of
%% bacterium in the images
global xa xb ya yb
clear all
close all
filh='D:\KDocuments\TFK\Bakterijas\augstfr\bakt23\0,5_25a\0,5_';
filt='.jpg';
lsr=dir([ filh , '*' , filt ]);
NFrames=size(lsr,1);
n_dig=num2str(length(num2str(NFrames)));
n_fmt=['%',n_dig,'.',n_dig,'d'];
% NFrames=200;
% summg=zeros(201,201);
ptpos=struct('imag',[ ],'FrameNum',1,'ObjPos',[ ]);
pps=[];
for ii=1:NFrames
clear cpt cpta;
imtread=[ filh , num2str(ii-1,n_fmt) , filt ];
rea=imread(imtread);
imshow(rea,[ ])
if ii==1
rect=getrect;
xcr=rect(1);
ycr=rect(2);
end
a=imcrop(rea,rect);
gra=rgb2gray(a);
grb=double(255-gra);
agrb=bpass(grb,1.5,21);
cpt=pkfnd(agrb,0.5*max(agrb(:)),21);
cpta=cntrd(agrb,cpt,31);
ptpos(ii).FrameNum=ii;
ptpos(ii).ObjPos=cpta(:,1:2);
ptpos(ii).imag=a;
end
%sf_name=[ dirn , ' track_result.mat ' ]
%save(sf_name,'ptpos')
%% Get Trace of bacterium , when computer confuses , you have to input the
%% trace point by clicking on the real moving bacterium.
%getorientation

%-----getorientation.m-----
global xa xb ya yb
frame=zeros(1,NFrames);
orientation=zeros(1,NFrames);
garums=zeros(1,NFrames);
xaa=zeros(1,NFrames);
xsa=zeros(1,NFrames);
yaa=zeros(1,NFrames);
yba=zeros(1,NFrames);
C=zeros(NFrames,2);

```



```

E=zeros(NFrames,2);
D=zeros(NFrames,4);
for ii=1:NFrames
imshow(ptpos(ii).imag,[]);
xs=ptpos(ii).ObjPos(:,1);
ys=ptpos(ii).ObjPos(:,2);
hold on, plot(xs,ys,'or')
    if ii==1
        [x,y]=ginput(1);
    end
xs=ptpos(ii).ObjPos(:,1);
ys=ptpos(ii).ObjPos(:,2);
dist=sqrt((xs-x).^2+(ys-y).^2);
ptid=find(dist<10);
if length(ptid)~=1
g_h1=figure(10)
imshow(ptpos(ii).imag,[]);
hold on
disp(ii);
title('I am confused Here, Please help to input the Point');
plot(tracex(ii-1),tracey(ii-1),'.b')
plot(xs,ys,'or')
% zoom(g_h1,3)
[xtn,ytn]=ginput(1);
xgs=xs(ptid);
ygs=ys(ptid);
ndist=sqrt((xgs-xtn).^2+(ygs-ytn).^2);
ftid=find(ndist<2);
    if length(ftid)==0
        tracex(ii)=xtn;
        tracey(ii)=ytn;
        x=xtn;
        y=ytn;
    else
        tracex(ii)=xgs(ftid);
        tracey(ii)=ygs(ftid);
        x=xgs(ptid);
        y=ygs(ptid);
    end
end
else
    tracex(ii)=xs(ptid);
    tracey(ii)=ys(ptid);
    x=xs(ptid);
    y=ys(ptid);
end
end
%hold on, plot(tracex(ii),tracey(ii),'.or')
%hold off
    ptcl=ctrnAng(x,y,ptpos(ii).imag);
    frame(ii)=ii;
    orientation(ii)=ptcl(3);
    garums(ii)=ptcl(4);
    xaa(ii)=xa;
    xba(ii)=xb;
    yaa(ii)=ya;
    yba(ii)=yb;

```

```

%plot([xa xb],[ya yb], 'r', 'LineWidth', 3);
%hold on
end
C(:,1)=frame(:);
C(:,2)=orientation(:);
D(:,1)=xaa(:);
D(:,2)=xba(:);
D(:,3)=yaa(:);
D(:,4)=yba(:);
E(:,1)=frame(:);
E(:,2)=garums(:);
fid=fopen('orientbac16_25Hz.txt','w');
fprintf(fid,'%11.8f %11.8f\n',C');
fclose(fid);
fid=fopen('garums16_25Hz.txt','w');
fprintf(fid,'%11.8f %11.8f\n',E');
fclose(fid);
fid=fopen('rodbact16_25Hz.txt','w');
fprintf(fid,'%11.8f %11.8f %11.8f %11.8f\n',D');
fclose(fid);
figure,
plot(tracex, tracey)
figure(6)
hold on
for ii=1:NFrames
plot([xaa(ii) xba(ii)],[yaa(ii) yba(ii)], 'r', 'LineWidth', 3)
end
hold off
res=[1:NFrames]; tracex; tracey];
dfilen=['tracebact7_20.txt']
fid=fopen(dfilen, 'a')
fprintf(fid, 'Frame \t x (pixel) \t y (pixel)\n')
fprintf(fid, '%5.5d \t %7.3f \t %7.4f\n', res);
fclose(fid)

%----- correlation.m -----
dati=zeros(2500,2);
fid=fopen('D:\KDocuments\TFK\Bakterijas\augstfr\bakt17\nykvadbact17_05_25.txt','r')
dati=fscanf(fid, '%f %f',[2 inf]);
fclose(fid)
len=length(dati)
dati=dati';
nykv=0;
for i=1:len
nykv=nykv+dati(i,2);
end
nykv=nykv/len
corry=zeros(200,1);
tt=zeros(200,1);
for k=1:200
sumy=0;
for i=1:len-k
sumy=sumy+(dati(i,2)-nykv)*(dati(i+k,2)-nykv);
end;
corry(k)=sumy/(len-k);

```

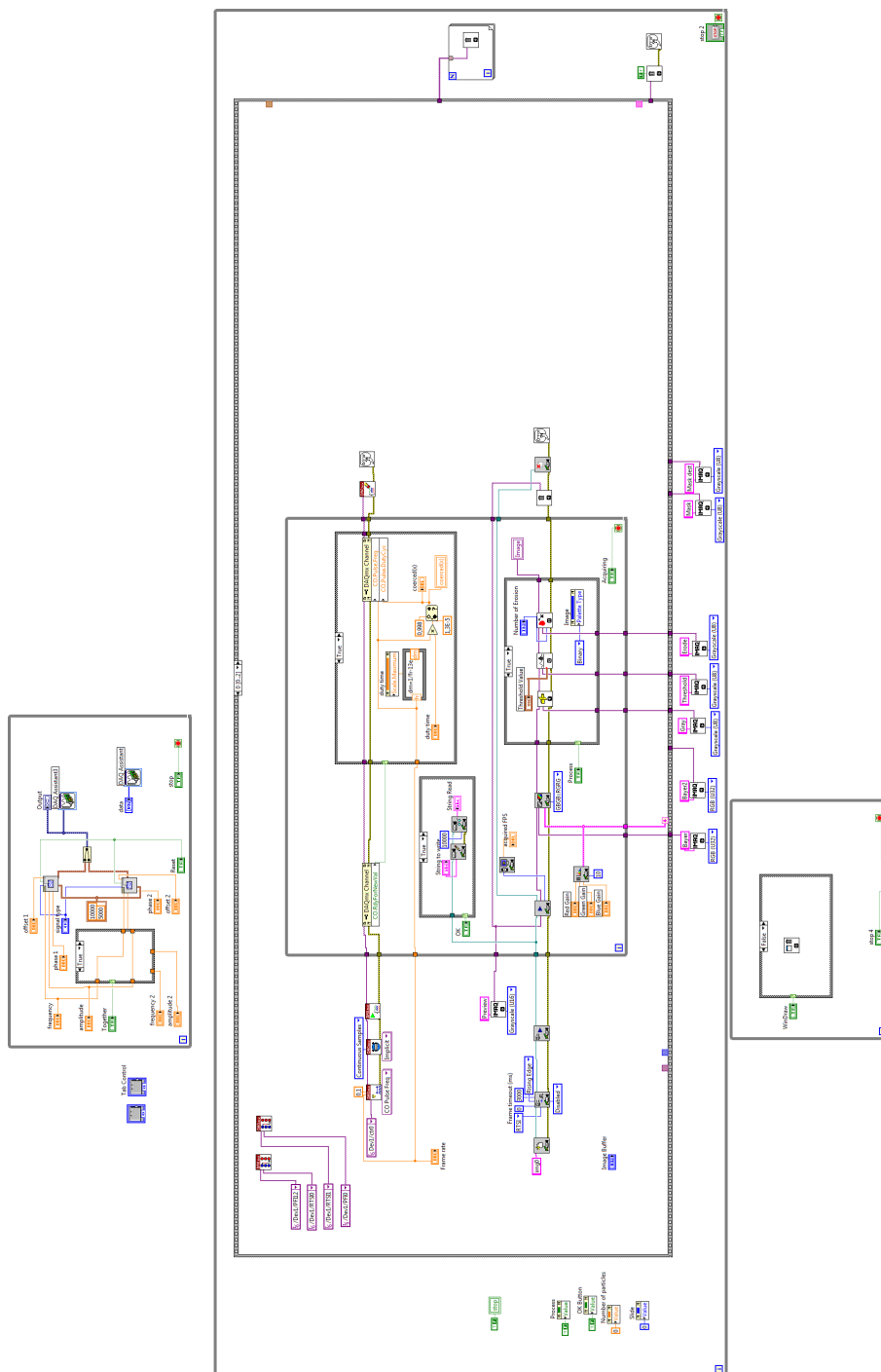
```

    tt(k)=k/25;
end;
plot(tt, corry, 'r')

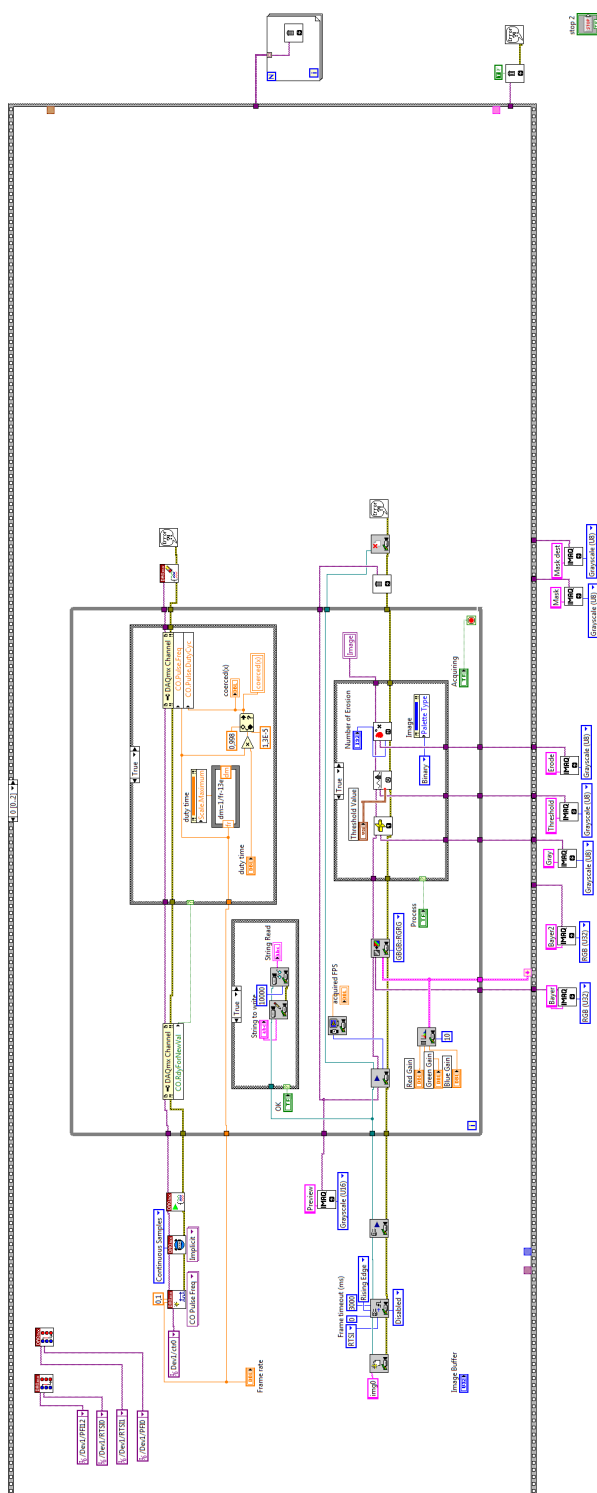
%-----flustuations.m-----
clear all
daa=zeros(2,681);
fid=fopen('orientbac74_2.txt','r')
daa=fscanf(fid,'%f %f',[2 inf]);
fclose(fid)
ang=daa(2,1:681);
tt=(daa(1,1:681)-1)/25;
diffag=diff(ang);
idx=find(diffag>70);
%ids=find(diffag<-70);
%ids
idx
length(ang)
dg=diffag;
dg(idx)=dg(idx)-180;
%dg(ids)=dg(ids)+180;
angr(1)=ang(1);
for i=2:length(ang)
    angr(i)=angr(i-1)+dg(i-1);
end
figure(1)
plot(tt(1:681),-pi*angr(1:681)/180,'r')
tol=0.05;
figure(2)
cv=spaps(tt,-pi*angr(1:681)/180,tol);
fnplt(cv,[0 27],'g')
B=zeros(681,2);
B(:,1)=tt(:)';
cvt=fnval(cv,tt);
%B(:,2)=cvt;
B(:,2)=-pi*angr(:)'/180;
fid=fopen('flucorientanglebact74_2_70.txt','w')
fprintf(fid,'%11.8f %11.8f\n',B')
fclose(fid)
anbrown=zeros(681,1);
anbrown(:)=B(:,2)-26.3948*tt(:)-0.958242;
%anbrown(:)=B(:,2)-9.40805*B(:,1)+0.953814;
C=zeros(681,2);
C(:,1)=tt(:)';
C(:,2)=anbrown(:);
fid=fopen('flucorientbrownbact74_2_70.txt','w')
fprintf(fid,'%11.8f %11.8f\n',C')
fclose(fid)
mean(anbrown(1:300))
std(anbrown(1:300))

```

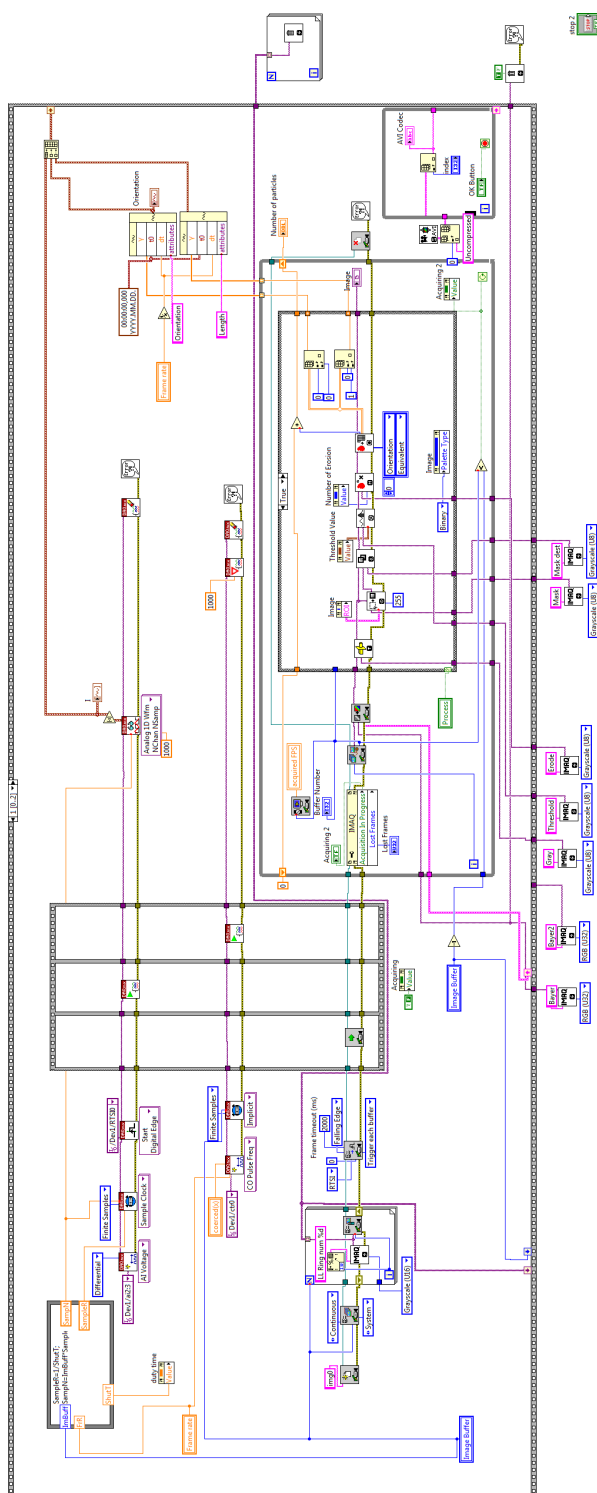
Labview programma reoloģijas mērījumiem



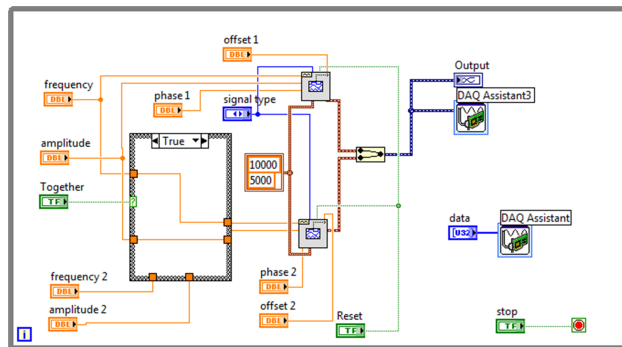
1. att.: Programmas kopskats



2. att.: Kameras attēla aplūkošana un attēla analīzes parametru iestastīšana reālā laikā.

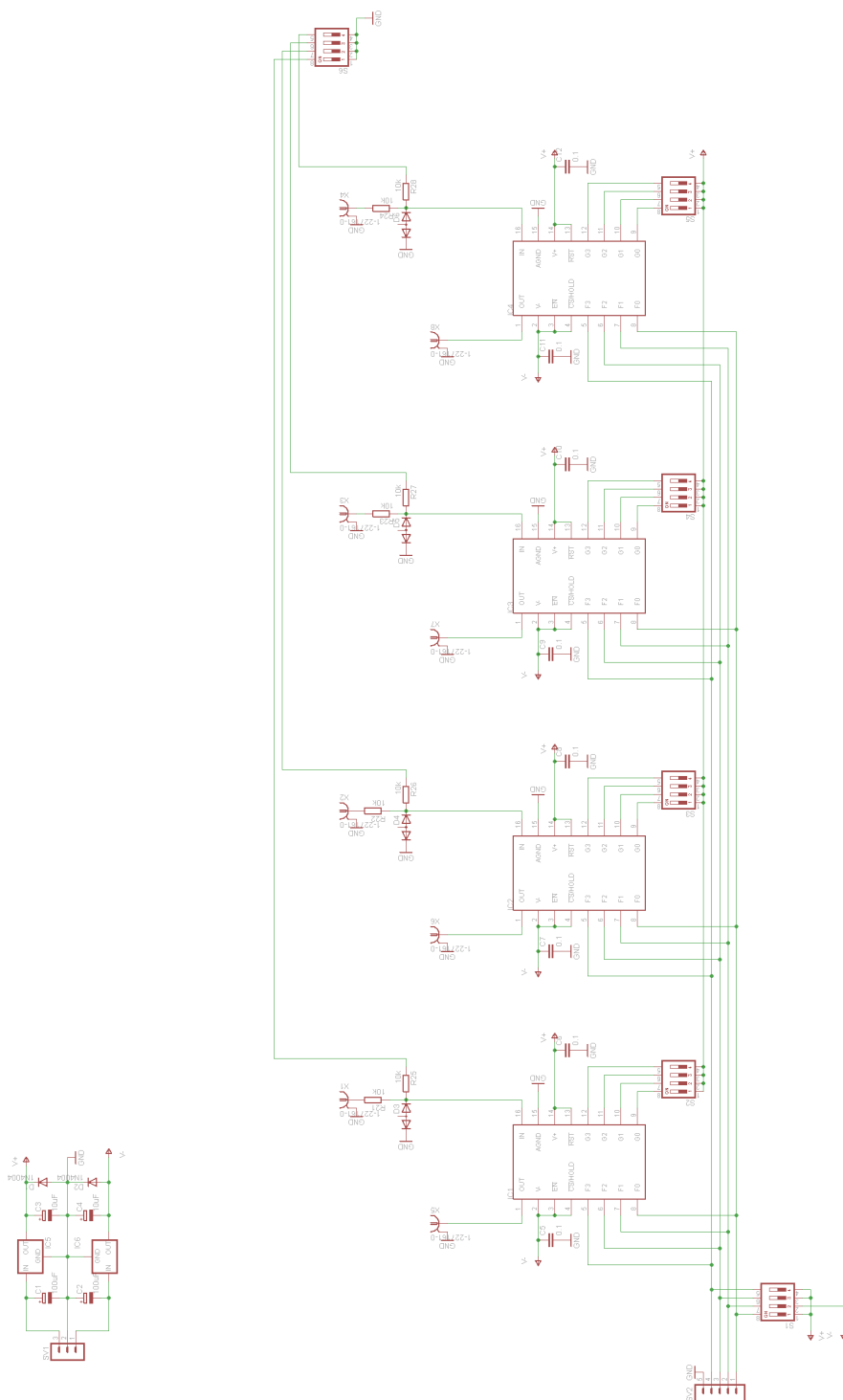


3. att.: Attēlu uzkrāšana buferī un to sekojoša analīze pēc iepriekš uzdotiem parametriem. Sinhroni ar attēlu uzkrāšanu uzsākas arī strāvas vērtību mērīšana spolēs.



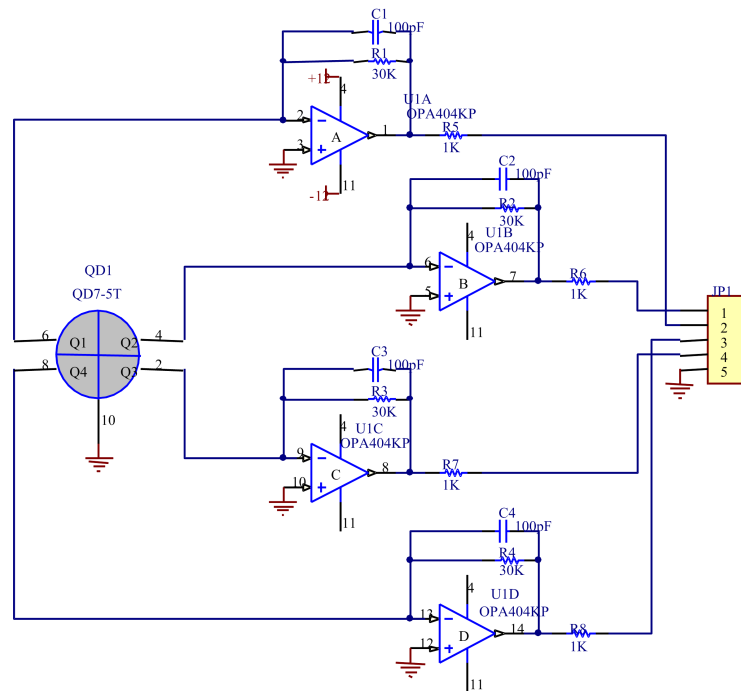
5. att.: Magnētiskā lauka kontroles cikls.

Filtrs Lāzerpincetei



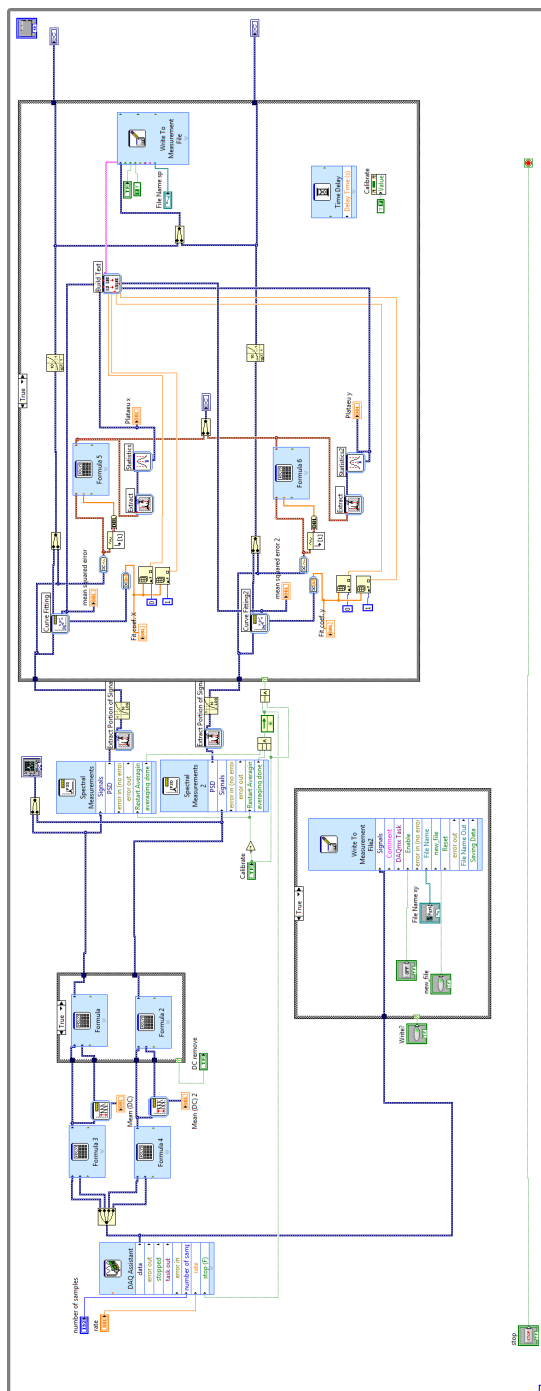
6. att.: Filtrs lāzerpincetei.

Kvadrant-fotodiode



7. att.: Kvadrant-fotodiodes moduļa shēma.

Labview programma lāzerpincetei



8. att.: Lāzerpincetes kalibrēšanas programma. Signālam tiek veikta Furjē transformācija, tiek veikta aproksimācija uz Lorenca funkciju un noteikts plato.