Streszczenie pracy doktorskiej

Konstrukcja map właściwości mechanicznych próbek biologicznych w mikroskopii sił atomowych

Przygotowanej przez mgr Pawła Hermanowicz

Promotor: prof. Dr hab. Halina Gabryś

Mikroskopia sił atomowych (AFM) pozwala na pomiar niewielkich (rzędu pN lub nN) sił oddziaływań pomiędzy próbką a mikroskopijnym ostrzem. Ostrze umieszczone jest na dźwigni, pełniącej rolę sensora siły. AFM umożliwia badanie właściwości mechanicznych próbek poprzez pomiar krzywych siłowych, tj. zależności pomiędzy przyłożoną siłą a położeniem dźwigni. Jeżeli próbka jest niejednorodna, jak większość próbek biologicznych, krzywe siłowe mierzone są w wielu punktach, zazwyczaj w węzłach regularnej siatki. Zbiory tak zebranych krzywych siłowych określane są jako mapy siłowe. Pozwalają one na utworzenie szeregu komplementarnych obrazów komórki, przedstawiających jej topografię i właściwości mechaniczne. Wymaga to zastosowania odpowiednich modeli mechaniki kontaktu ostrza mikroskopu z próbką. Analiza map siłowych zebranych na próbkach biologicznych wiąże się ze szczególnymi trudnościami. W trakcie doświadczeń z komórkami lub tkankami eksperymentator ma ograniczoną kontrolę nad grubością i kształtem preparatu oraz stopniem jego związania z podłożem. Zachowanie tkanek i komórek zwierzęcych w trakcie deformacji odbiega od przewidywań teorii materiałów liniowo-sprężystych. Do jego pełnego opisu niezbędne jest zastosowanie odpowiednich modeli hipersprężystych. Na sztywność komórek i tkanek wpływają także naprężenia początkowe, których źródłem jest nierównomierny wzrost organów lub efekty osmotyczne. Wpływ tych czynników może być częściowo skorygowany na etapie analizy wyników.

Pierwsza część pracy poświęcona jest efektowi skończonej grubości próbki na sztywność kontaktu z ostrzem. Przedstawione są fizyczne podstawy zjawiska. Omówione są znane z literatury, dokładne rozwiązania tego zagadnienia, wyrażone jako równania całkowe. Określamy je jako równania Lebiediewa-Uflianda. Nie są one stosowane do analizy krzywych siłowych, ze względu na złożoność niezbędnych obliczeń. W pracy wykorzystujemy równania Lebiediewa-Uflianda, udowadniając, że promień kontaktu z ostrzem jest większy dla cienkiej próbki, wspartej na sztywnym podłożu, niż dla nieskończenie grubej. Analizujemy konsekwencje tego faktu dla praktyki pomiarów AFM. Równania Lebiediewa-Uflianda wykorzystujemy także do wyznaczenia wyrażeń na promień kontaktu i obciążenie w trakcie deformacji cienkiej próbki przez osiowosymetryczne ostrze o kształcie sfery lub bryły otrzymanej przez obrót funkcji potęgowej. Występują w nich parametry, które muszą być obliczane numerycznie. Proponujemy procedury umożliwiające sprawne wyznaczenie tych parametrów, w tym rozwinięcie jądra równania Lebiediewa-Uflianda w szereg funkcji Christowa i wykorzystanie formuły Gohberga-Semencula. Dla cienkich próbek wspartych na sztywnym podłożu, parametry numeryczne rozwijamy za pomocą wielomianów Czebyszewa, otrzymując przybliżone wyrażenia o zaniedbywalnym błędzie. Korzystając z dokładnych rozwiązań, porównujemy błędy opracowanych przybliżeń z błędami innych metod korekcji efektu grubości preparatu.

W drugiej części pracy analizujemy efekt naprężeń początkowych na sztywność kontaktu ostrza z cienkimi próbkami, wspartymi na sztywnym podłożu. Rozważamy naprężenia powstałe w wyniku dwuosiowego ściskania lub rozciągania. Zakładamy, że zachowanie materiału w odpowiedzi na naprężenia początkowe opisują modele Funga i Ogdena. Są one standardowo wykorzystywane do opisu własności sprężystych tkanek. Oba modele przewidują sztywnienie próbki w próbach

jednoosiowego rozciągania, obserwowane dla materiałów biologicznych. Model Funga opisuje wykładniczy wzrost sztywności wraz ze stopniem rozciągnięcia próbki, charakterystyczny dla tkanek i organów bogatych we włókna kolagenowe. Model Ogdena, przewidujący wolniejszy wzrost sztywności, jest często stosowany do opisu mechaniki miąższu wątroby i tkanek mózgu. Przedstawiona w pracy analiza sztywności kontaktu wykorzystuje teorię Biota zlinearyzowanych przyrostów odkształceń. Równania ruchu rozwiązujemy metodą transformacji Hankela. Wyprowadzamy wyrażenia opisujące związek pomiędzy obciążeniem próbki a naprężeniami początkowymi. Znajomość tych zależności może pozwolić na wyznaczanie parametrów opisujących nieliniowo-sprężyste zachowanie materiałów biologicznych na podstawie krzywych siłowych zbieranych na próbkach poddawanych dwuosiowemu rozciąganiu. Wyniki numeryczne wskazują, że sztywność kontaktu z próbką zbudowaną z materiału typu Funga wzrasta, gdy jest ona poddana początkowym naprężeniom rozciągającym. Podobny efekt obserwujemy dla materiału typu Ogdena, o ile parametr opisujący sztywnienie wraz z rozciągnięciem jest wystarczająco duży. Dla obu materiałów, obecność naprężeń początkowych ściskających może prowadzić zarówno do obniżenia, jak i wzrostu sztywności kontaktu, w zależności od wielkości naprężeń i wartości parametrów charakteryzujących materiał.

W trzeciej części pracy analizujemy kontakt ostrza ze ścianą w kształcie cylindra, której brzegi są sztywno podparte. Wyznaczamy zależność pomiędzy obciążeniem a głębokością penetracji ściany przez ostrze. Wykorzystujemy w tym celu metodę Levinsona rozwiązywania równań ruchu dla płyt, w połączeniu z metodą Cooke'a i Trantera rozwiązywania par dualnych szeregów Bessela. Wykonane obliczenia numeryczne sugerują, że wartości równowagowe promienia kontaktu ze ścianą są zazwyczaj znacznie mniejsze niż wartości przewidywane przez modele próbek nieskończenie grubych. Obciążenie niezbędne do deformacji ściany zależy od jej grubości w sposób sigmoidalny. Analizujemy również zagadnienie ściany poddanej działaniu naprężeń początkowych, korzystając z teorii Biota. Wyniki numeryczne uzyskane dla materiału typu Ogdena wskazują, że skończona grubość ściany ma mniejszy wpływ na promień kontaktu i obciążenia, jeżeli jest ona poddana naprężeniom początkowym rozciągającym.

W ostatniej części omówione są architektura i możliwości przygotowanego w ramach pracy programu AtomicJ, przeznaczonego do analizy pomiarów AFM. Program napisany jest w języku Java i jest publicznie dostępny poprzez platformę SourceForge. Zaimplementowano w nim rozwiązania znane z literatury oraz część procedur opracowanych w pracy. Program umożliwia analizę pomiarów uzyskanych przy użyciu mikroskopów wszystkich głównych producentów. Do pracy dołączony jest obszerny podręcznik użytkownika programu (na płycie CD).

Część wyników przedstawionych w pracy opublikowano w

Hermanowicz P, Sarna M, Burda K, Gabrys H (2014) *Atomic J: an open source software for analysis of force curves*. Rev Sci Instrum 85: 063703. doi: 10.1063/1.4881683.

16 -05- 2018

Paweł Hermanowicz