

Zusammenfassung der Vorlesung EM & AFM:

Dimensionen (Einheiten), Grössenordnungen in der Biologie

Transmissions Elektronen Mikroskop (TEM):

- Grundaufbau
- Vacuum im Inneren
- Hochspannung zum Beschleunigen
- Das Elektron kann als Welle Interferenz Phänomene zeigen
- Linsen sind Magnetische Felder

Probenpräparation für TEM:

- Welche 5 Methoden wurden erwähnt ? Prinzipien ?
- Stärken und Schwächen der Methoden ?
- Welche Art von Information liefern die jeweiligen Methoden ? Auflösung ?

Drei-dimensionale Struktur Rekonstruktion aus TEM Bildern:

Prinzip

2D Kristallisation von Membran Proteinen erlaubt eine Bildverarbeitung, welche unter Ausnutzung der Periodizität der Probe das Signal-Rausch Verhältnis der Bilder wesentlich verbessern kann. (Mittelung der Bilder von vielen identisch ausgerichteten gleichen Proteinen.)

Elektronen Kristallographie löste soweit die Struktur von drei Membran Proteinen (Bacterio Rhodopsin, Light Harvesting Complex, Aquaporin-1). Im Falle von AQP1 wurde bei einer Auflösung von 3.8 Å aus den TEM Bildern ein Model erstellt, welches durch Molecular Dynamics Calculations unter Ausnutzung der Struktur-Homologie zu einem ähnlichen Protein (Glycerol Channel von *E. coli*: GlpF) verbessert werden konnte.

Elektronen Tomographie:

Was ist Elektronen Tomographie ? (Viele Bilder unter verschiedenen Winkeln von immer wieder dem selben Objekt, z.B. einem Mitochondrium). Beste bisher erreichte Auflösung ist in der Grössenordnung von 2-3 nm.

Atomic Force Microscope (AFM): Aufbau, Prinzip: (Cantilever, Laser wird reflektiert am Cantilever und auf eine gesplittete Photodiode gelenkt. So kann die Auslenkung des Cantilevers mit einer Genauigkeit von besser als 1 Å detektiert werden. Die Probe wird mit einem Piezzo unterhalb des Cantilevers in X-, Y- und Z-Richtung bewegt. Auf einem Computer Bildschirm ergibt sich ein Bild. Die Probe muss flach sein, idealer Weise ein 2D-Kristall. Sie wird in Puffer-Lösung abgebildet. Während der Untersuchung kann der Puffer gewechselt werden, also z.B. der pH oder die Salzkonzentration verändert werden.)

Beispiel F-ATPases:

- XRD untersuchte die Struktur der F-ATPase von Hefe Mitochondrien und fand 10 Untereinheiten *c* in dem Transmembran Rotor.
- AFM zeigte, dass der Rotor der F-ATPase von Chloroplasten aus 14 Untereinheiten besteht.
- TEM und AFM zeigten, dass der Rotor der F-ATPase von *Ilyobacter tartaricus* aus 11 Untereinheiten besteht.
- Verschiedene Methoden beleuchteten das Problem jede auf ihre Weise.