

Das Rasterkraftmikroskop in der biomedizinischen Forschung: Übersicht und ophthalmologische Anwendungen

von

Armin Ettl, Eduard Schmid & Albert Daxer *)

The Scanning Force Microscope in biomedical Research: Overview and ophthalmological Applications

Synopsis: The atomic force microscope (AFM) or scanning force microscope which was developed from the scanning tunneling microscope, is a valuable instrument for the ultrastructural investigation of surfaces down to the molecular and atomic level. After a short introduction to the physical principles of the atomic force microscope, we present applications of scanning force microscopy in biology and medicine. In biology, the AFM has been used to image living cells, chromosomes, bacteria, viruses, cell membranes, S-layers of bacteria, ion channels, proteins, aminoacids, single DNA bases, DNA and many other substances. It is possible to observe dynamic biological processes such as the binding of antibodies to an antigen, the polymerisation of fibrinogen or the infection of cells by a virus. Exciting is that the AFM may be used to sequence DNA in the future. In the biomedical material sciences, the AFM may become a useful tool for the quality control of implant materials. Here, we present some examples of the investigation of artificial lenses used for intraocular implantation after cataract extraction, where the AFM was used to measure the surface roughness of different lens materials.

1. Einleitung:

1986 erhielten G. Binnig und H. Rohrer für die Erfindung des Rastertunnelmikroskops (scanning tunneling microscope, abgekürzt STM) den Nobelpreis für Physik (BINNIG et al. 1982).

Kurze Zeit danach haben Sie daraus das Rasterkraftmikroskop (atomic force microscope, abgekürzt AFM) entwickelt (BINNIG et al. 1986). Beide Mikroskope werden zusammen mit anderen Mikroskopen mit ähnlicher Funktionsweise wie beispielsweise dem Magnetic Force Mikroskop, dem Lateral Force Mikroskop oder dem elektrochemischen Kraftmikroskop unter dem Oberbegriff "Rastersondenmikroskope" zusammengefaßt.

Im folgenden möchten wir vor allem das AFM beschreiben, da im Gegensatz zum STM, damit auch nicht-leitende Strukturen, die den Großteil der biologischen Präparate darstellen, ohne Probenpräparation, wie Beschichtung mit Metallen untersucht werden können.

2. Physikalisches Prinzip:

Bei der Rasterkraftmikroskopie wird eine mikroskopisch kleine Spitze, die sich am Ende eines Auslegers ("cantilever") befindet, der Probenoberfläche angenähert. Dabei kommt es zu

*) Anschrift der Verfasser: Dr. A. Ettl, Abteilung für Augenheilkunde, a.ö. Krankenhaus St. Pölten, Probst-Führer-Straße 4, A-3100 St. Pölten, Dr. E. Schmid und A. Daxer, Univ.-Klinik f. Augenheilkunde, Anichstraße 35, A-6020 Innsbruck, Österreich.

Wechselwirkungen zwischen Atomen der Spitze und der Probenoberfläche (anziehende Van der Waal'sche Kräfte und Abstoßung der äußersten Spitzenatome nach dem Pauli-Prinzip). Der Cantilever wird rasterförmig über die Probe geführt. Bei dieser Bewegung des Cantilevers über die Probe, kommt es aufgrund der obengenannten atomaren Kräfte durch Unebenheiten der Probenoberfläche zu einer unterschiedlichen Auslenkung der Spitze. Dieser Mechanismus wurde oft mit der Funktionsweise eines Plattenspielers veranschaulicht, wobei der Arm des Plattenspielers dem Cantilever, die Tonabnehmernadel der AFM-Spitze und die Schallplattenoberfläche der Probenoberfläche entsprechen würde. Die Auslenkung des Cantilevers wird meist durch einen am Cantilever reflektierten und auf eine Photodiode gerichteten Laserstrahl registriert. Bei Betrieb im constant-force-Modus regelt eine Rückkoppelungselektronik das piezoelektrische Störellement des Probenhalters so, daß die Auslenkung der Spitze konstant bleibt. Das Spannungssignal des Piezostellers wird in ein Oberflächenprofil umgesetzt (BINNIG et al. 1986, HANSMA et al. 1988).

Der Informationsgehalt in AFM-Bildern wird entscheidend von der Geometrie des Sensors (der "Spitze") beeinflusst: Ist der Spitzenradius groß, können entsprechend kleine Strukturen nicht mehr aufgelöst werden. Durch zu kurze Spitzen oder zu große Konuswinkel werden tiefere Gräben und Löcher nicht mehr erfaßt. Im Idealfall liegt die Auflösung des AFM im atomaren Bereich. Derzeit werden Spitzen aus Siliziumnitrid und einkristallinem Silizium mit Radien zwischen 10 - 50 nm verwendet.

Das AFM kann im Kontakt-Modus (repulsive mode) oder im Non-Kontakt-Modus (attractive mode) betrieben werden. Bei Betrieb im Kontakt-Modus berührt die Spitze die Probenoberfläche. Um dabei ein Abheben der Spitze zu vermeiden, ist eine bestimmte Anpreßkraft des Cantilevers erforderlich. Die Gesamtauflagekraft ergibt sich aus der Summation der Anpreßkraft, den obengenannten Wechselwirkungen zwischen Spitze und Probe und störenden Kapillarkräften und elektrostatischen Kräften. Der Vorteil des Kontakt-Modus ist die im Vergleich zum Non-Kontakt-Modus höhere Auflösung, was durch die Nähe der Spitze zur Probe bedingt ist. Ein Nachteil des Kontakt-Modus ist die Mindestauflagekraft von 10^{-7} N, die bei weichen Proben, wie biologischen Präparaten, zu Deformationen oder Beschädigungen führen kann. Biologische Proben können unter physiologischen Bedingungen in einer speziellen Flüssigkeitsmeßzelle untersucht werden. Bei der Rasterkraftmikroskopie im Non-Kontakt-Modus kommt es nicht zur Berührung zwischen Spitze und Probenoberfläche. Die dabei hauptsächlich wirkenden Wechselwirkungen sind die Van-der-Waal'schen Anziehungskräfte zwischen Probe und Spitze. Die molekulare Wasserschicht auf Proben kann dazu führen, daß sich zusätzlich Kapillarkräfte ausbilden, welche die Tastspitze auf der Probenoberfläche festhalten, was zu einer Unterbrechung der Messung führen kann. Der Vorteil des Non-Kontakt-AFM besteht darin, weiche Proben destruktionsärmer zu untersuchen. Nachteile sind jedoch die geringere Auflösung und Meßstabilität. Der Anwendungsbereich kommerziell erhältlicher Rastersondenmikroskope läßt sich durch verschiedene Meßköpfe erweitern: Mit Hilfe des Rastertunnelmikroskops (STM) können leitende Präparate durch Messung des Tunnelstroms untersucht werden (BINNIG et al. 1982). Das Elektrochemische AFM dient zur Beobachtung elektrochemischer Prozesse in situ. Mit dem Magnetic force Mikroskop können magnetische Mikrofelder lokalisiert werden. Beim Lateral Force Mikroskop können unterschiedliche Probeneigenschaften mit Hilfe der lateralen Kraftereinwirkung auf den Cantilever nachgewiesen werden. Auf eine detaillierte Beschreibung dieser und verwandter Techniken (POHL 1989) wird im Rahmen dieser Übersichtsarbeit, die dem AFM gewidmet ist, verzichtet.

Die Kombination eines AFM mit einem Umkehrlichtmikroskop (z. B. Bioscope, Digital Instruments, USA) ermöglicht die gleichzeitige optische und rastermikroskopische Untersuchung von biologischen Präparaten.

Rasterkraftmikroskope werden beispielsweise von den Firmen Digital Instruments (Santa Barbara, USA), Park Scientific Instruments (Mountain View, USA) and Topometrix (Santa Clara, USA) hergestellt.

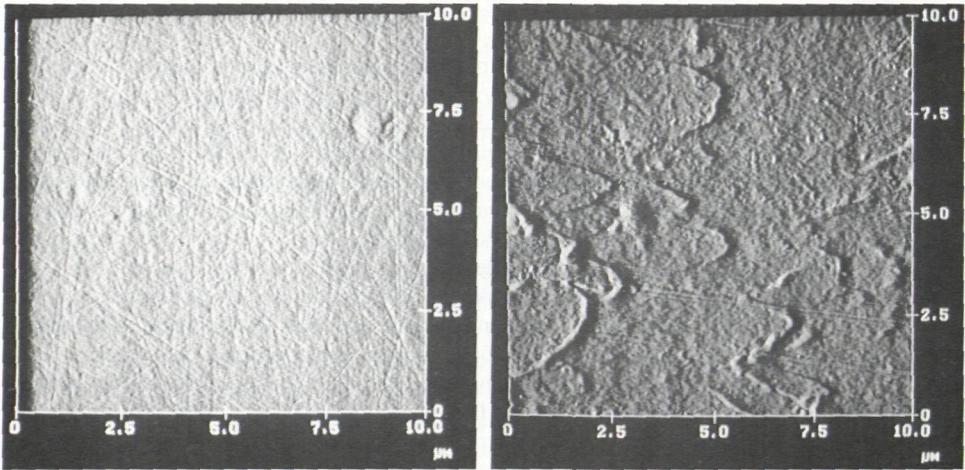
3. Anwendungen in Biologie und Medizin:

Zahlreiche biologische Moleküle konnten mit Hilfe des Rasterkraftmikroskops abgebildet werden: Aminosäuren (GOULD et al. 1988), Proteine wie beispielsweise Aktin (WEISENHORN et al. 1990), Immunglobuline (LIN et al. 1990) oder Bacteriorhodopsin (BUTT et al. 1990) und Lipide (HANSMA et al. 1991). In einer kombinierten STM/AFM-Studie konnte die Bindung des Skelettmuskelenzyms Phosphorylasekinase an Phosphorylase B direkt beobachtet werden (EDSTROM et al. 1990). Auch die Polymerisierung von Fibrinogen konnte mit Hilfe der Rastersondenmikroskopie visualisiert werden (WIGREN et al. 1991), was zur Untersuchung der Thrombogenizität cardiovascularer Implantmaterialien ausgenutzt werden könnte. Das AFM wurde auch verwendet, um Moleküle mit Hilfe der AFM-Spitze im Nanometerbereich zu bewegen (LEA et al. 1992). Die AFM-Bilder, die von künstlich erzeugten Phospholipid-Membranen erhalten wurden, stimmten teilweise mit den röntgenkristallographischen Daten überein (EGGER et al. 1990). Weiters wurden Transportproteine, wie Acetylcholinrezeptor-Ionenkanäle (HÖRBER et al. 1991) oder einzelne Leberzell-Gap junctions (HOH et al. 1991) abgebildet und mit TEM-Bildern verglichen. Mit dem Rasterkraftmikroskop können nicht nur einzelne Biomoleküle, sondern auch Chromosomen (RASCH et al. 1992) und ganze Zellen, wie beispielsweise Leukozyten oder Erythrozyten (HÄBERLE et al. 1991) dargestellt werden. Obwohl dabei eine Auflösung von unter 100 nm erzielt wurde, ist dabei die durch die Abtastung mit der AFM-Spitze hervorgerufene Deformation der Zellen problematisch. W. HÄBERLE, J. HÖRBER und Mitarbeiter konnten erstmals AFM-Bilder von kultivierten Nierenzellen, die mit Vaccinia-Viren infiziert wurden, zeigen. In dieser Studie wurden AFM-Bilder zu verschiedenen Zeitpunkten angefertigt und als AFM-Film gezeigt. Dabei konnte wie die Autoren vermuteten, sogar die Extrusion von Viren aus einzelnen Zellen sichtbar gemacht werden (HÄBERLE et al. 1992). Auch Bakterien sind mittels AFM ohne spezielle Präparationsmaßnahmen abgebildet worden (GOULD et al. 1990). Mittels Kraftmodulation bei der Rasterkraftmikroskopie ist es möglich, Elastizitätsmessungen an lebenden Zellen durchzuführen, wie an aktivierten Thrombozyten gezeigt wurde (FRITZ-STEPHAN et al. 1992).

Problematisch ist derzeit in der Rastersondenmikroskopie die Vorbereitung der Proben, die zur Untersuchung mittels verschiedener Methoden (ENGEL 1991) immobilisiert werden müssen. Als Objektträger (Substrat) für biologische Präparate und Moleküle werden häufig atomar glatter Graphit (highly oriented pyrolytic graphite) oder Mica verwendet (AMREIN 1992). Brüche oder periodische Strukturen des Substrats (z. B. Graphit) sollten nicht mit Strukturen der Proben selbst verwechselt werden. So können beispielsweise nicht nur Stufen auf Graphit, sondern auch Domänenwände im Graphitgitter als DNA-Stränge fehlinterpretiert werden (HECKL et al. 1992).

Die Lufttrocknung von biologischen Proben führt zur Bildung von Artefakten, weshalb biologische Präparate möglichst in ihrem physiologischen Milieu (meist Wasser) untersucht werden sollen.

Die Auflösung eines AFM ist bei weichen und unebenen Proben, wie biologischen Makromolekülen, limitiert. Bei Untersuchungen an S-Schichten des Archaeobakteriums *Thermoproteus tenax* konnte eine laterale Auflösung von 2.8 nm erzielt werden (PUM et al. 1992). Die extrem hohe Auflösung der Rastersondenmikroskopie begrenzt ihre Anwendung in der Histologie und Zytologie auf die Abbildung von Oberflächen von Zellmembranen, intrazellulären Strukturen (z. B. Zytoskelett) und festen Interzellularsubstanzbestandteilen (z. B. Kollagenfibrillen (VOELKER et al. 1988)). Besonders gut zur Abbildung mit dem AFM eignen sich harte Gewebe wie Zahnschmelz oder Zahnzement (KASAS et al. 1992). Da gezeigt wurde, daß mit Hilfe der rastermikroskopischen Technik Antigen-Antikörperreaktionen sichtbar gemacht werden können, erscheint in naher Zukunft die Anwendung eines rastersondenmikroskopischen Immunoassays



1a

1b

Abb. 1: Vergleich der Oberflächenstruktur von Intraokularlinsen (IOL) aus PMMA zweier verschiedener Hersteller. Eine IOL (Abb. 1b, Dr. Schmidt) wurde im Drehschneiderverfahren und die andere IOL (Abb. 1a, 3M) im Spritzgußverfahren hergestellt. Auffällig ist die höhere Oberflächenrauigkeit der IOL in Abb. 1b. Die schuppenartigen Aufrauungen können zu einer verstärkten Adhäsion von Fremdkörperriesenzellen und Bakterien auf der IOL-Oberfläche führen. Die Rasterkraftmikroskopie erfolgte mit einem Nanoscope III (Digital Instruments, Santa Barbara, USA) im Kontaktmodusbetrieb in Luft unter Verwendung von Siliziumnitridspitzen (Scan size: 10 x 10 μm).

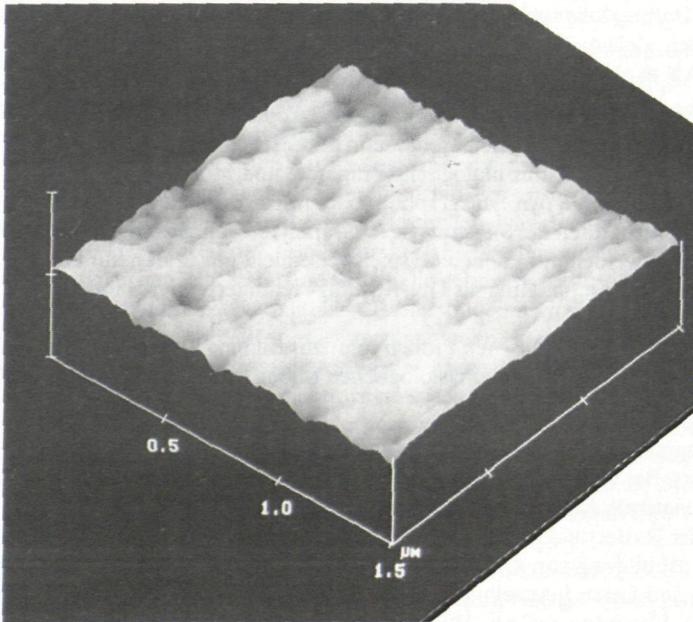


Abb. 2: 3-dimensionale Darstellung der Oberfläche einer IOL aus PMMA, abgebildet mit dem AFM. Im Anschluß an die Darstellung der Oberfläche können statistische Rauigkeitsanalysen durchgeführt werden (ETTLE et al. 1995) (Scan size: 1.5 x 1.5 μm).

möglich (MASAI 1990). In der Genetik könnte das AFM zur Chromosomenkartierung durch in situ Hybridisierung hilfreich werden (RASCH et al. 1992).

Noch im Anfangsstadium steht die Anwendung der Rastersondenmikroskopie zur DNA-Sequenzierung. Obwohl bereits einzelne DNA-Basen mit Hilfe eines Rastertunnelmikroskops abgebildet werden konnten (HECKL et al. 1992), gibt es noch große Probleme mit den durch die Probendrift hervorgerufenen Effekten und der Reproduzierbarkeit der Experimente (HANSMA et al. 1991).

4. Anwendung in der biomedizinischen Materialforschung zur Oberflächenanalyse künstlicher Augenlinsen:

Wir haben das AFM zur Qualitätskontrolle von künstlichen Linsen, die nach operativer Entfernung des grauen Stars in das Auge implantiert werden, verwendet (ETTL et al. 1994) (Abb. 1). Da die Oberflächenrauigkeit dieser sogenannten Intraokularlinsen (IOL) die Biokompatibilität beeinflusst, haben wir mit Hilfe des AFM Rauigkeitsanalysen durchgeführt und dabei festgestellt, daß (entgegen der Behauptung des Herstellers) oberflächenmodifizierte IOL aus Polymethylmethacrylat (PMMA) bezüglich der Oberflächenrauigkeit keine Vorteile gegenüber herkömmlichen PMMA IOL aufweisen (ETTL et al. 1995, ETTL et al. 1995) (Abb. 2). Eine experimentelle Biokompatibilitätsstudie (BOULTON et al. 1994) und klinischen Untersuchungen haben unser Ergebnis bestätigt (AMON et al. 1995). Zur Verbesserung der Biokompatibilität von IOL, wurden verschiedene Methoden zur Oberflächenmodifikation entwickelt. Mittels AFM gelang es uns, Heparinoberflächenbeschichtungen auf IOL abzubilden, was bislang mit Hilfe des REM aufgrund seiner limitierten Auflösung nicht möglich war (ETTL et al. 1994). Somit könnte das AFM zur ultrastrukturellen Überwachung von Oberflächenmodifikationsverfahren herangezogen werden.

Das AFM ist auch zur Untersuchung der Interaktion zwischen Biomaterialien und körpereigenem Gewebe hilfreich, da die Messungen im physiologischen Milieu erfolgen können. Beispielsweise konnte die Adsorption von Proteinen der Tränenflüssigkeit auf Kontaktlinsenoberflächen analysiert werden (BAGUET et al. 1994). Diesen Untersuchungen kommt eine praktische Bedeutung zu, da Proteinablagerungen auf Kontaktlinsenmaterialien die Verträglichkeit der Linsen beeinträchtigen können.

5. Schlußbemerkung:

Das Rasterkraftmikroskop ist ein faszinierendes Instrument zur Ultrastrukturanalyse der Oberfläche organischer und anorganischer Materialien. Aufgrund seiner im Vergleich zur Rasterelektronenmikroskopie höheren Auflösung, ermöglicht es uns, einzelne biologische Moleküle abzubilden. Auch die direkte Beobachtung dynamischer biologischer Prozesse ist möglich. Obwohl die Proben im Vergleich zur Elektronenmikroskopie nicht präpariert werden müssen, stellt die Rasterkraftmikroskopie keine völlig artefaktfreie Untersuchung dar, was bei der Interpretation von AFM-Bildern berücksichtigt werden sollte. Verschiedene Studien haben gezeigt, daß die Rastersondenmikroskopie neben herkömmlichen mikroskopischen Methoden eine bedeutende Rolle in der biomedizinischen Forschung erlangen könnte. In naher Zukunft wären auch Anwendungen in der klinischen Medizin denkbar.

D a n k : Wir danken Herrn Univ.-Doz. Dipl.-Ing. Dr. D. Pum vom Zentrum für Ultrastrukturforschung und Ludwig-Boltzmann-Institut für Molekulare Nanotechnologie der Universität für Bodenkultur in Wien für die Unterstützung bei der Durchführung unserer Untersuchungen und für die kritische Durchsicht der vorliegenden Arbeit. Weiters danken wir den Firmen Croma Pharma (Industriezeile 6, A-2100 Leobendorf) und Adatomed (D-85609 Dornach) für die finanzielle Unterstützung unserer Arbeit.

6. Literatur:

- AMON, M., R. MENAPACE, U. RADAX & H. FREYLER (1995): Der Einfluß der Oberflächeneigenschaften intraokularer Implantate aus PMMA auf deren Biocompatibilität. — *Spektrum Augenheilkd.* **9**(1): 30 - 35.
- AMREIN, M. (1992): Präparationsmethoden für die Raster-Tunnel-Mikroskopie biologisch-makromolekularer Strukturen. — *Diskussionstagung, Max-Planck-Institut für Biochemie, Martinsried*, 8. - 10.7.1992.
- BAGUET, J., F. SOMMER & T.M. DUC (1994): Analysis of worn soft contact lenses by atomic-force microscopy (AFM). — *Doc. Ophthalmol.* **85** (Suppl): 369 p.
- BINNIG, G., C.F. QUATE & C. GERBER (1986): Atomic force microscope. — *Phys. Rev. Lett.* **56**: 930 - 933.
- BINNIG, G., H. ROHRER, C. GERBER & E. WEIBEL (1982): Surface studies by scanning tunneling microscopy. — *Phys. Rev. Lett.* **49**: 57 - 61.
- BOULTON, M., S.P. KELLY, P. MORIARTY, J. JARVIS-EVANS & E.S. ROSEN (1994): Cell attachment to standard and surface-modified intraocular lenses. — *Eur. J. Implant. Ref. Surg.* **6**: 190 - 194.
- BUTT, H.J., K.H. DOWNING & P.K. HANSMA (1990): Imaging the membrane protein bacteriorhodopsin with the atomic force microscope. — *Biophys. J.* **58**: 1473-1480.
- EDSTROM, R.D., M.H. MEINKE, X. YANG, R. YANG & V. ELINGS (1990): Direct visualization of phosphorylase-phosphorylase kinase complexes by scanning tunneling and atomic force microscopy. — *Biophys. J.* **58**: 1437 - 1448.
- EGGER, M., F. OHNESORGE, A.L. WEISENHORN, S.P. HEYN, B. DRAKE, C.B. PRATER & S.A.C. GOULD (1990): Wet lipid-protein membranes imaged at submolecular resolution by atomic force microscopy. — *J. Struct Biol* **103**: 89 - 94.
- ENGEL, A. (1991): Biological applications of scanning probe microscopes. — *Annu. Rev. Biophys. Biophys. Chem.* **20**: 79 - 108.
- ETTL, A., A. DAXER & D. PUM (1995): Quality control and ultrastructural evaluation of surface modified intraocular lenses in vitro by atomic force microscopy. — *Eur. J. Implant. Ref. Surg.* **7**: 186 - 187.
- ETTL, A., D. PUM, E. SCHMID, A. DAXER & W. GÖTTINGER (1994): Ultrastrukturanalyse oberflächenmodifizierter Intraokularlinsen mit Hilfe der Rasterkraftmikroskopie. — In: WOLLENSACK, J. (eds.) 8. Kongreß der DGII. — Springer, Berlin, Heidelberg, p. 371 - 377.
- ETTL, A., D. PUM, E. SCHMID & W. GÖTTINGER (1995): Rasterkraftmikroskopie oberflächenmodifizierter Intraokularlinsen. — *Spektrum Augenheilkd.* **9**: 177 - 182.
- ETTL, A., E. SCHMID & D. PUM (1994): Atomic force microscopy of intraocular lenses. — *Doc. Ophthalmol.* **85** (Suppl): 369 - 370.
- FRITZ-STEPHAN, M., M. RADMACHER & H. GAUB (1992): Zytoskelett-Untersuchungen an Thrombozyten mit Hilfe des Scanning Force Mikroskops. — *Diskussionstagung Max-Planck-Institut für Biochemie, Martinsried*, 8. - 10. Juli 1992.
- GOULD, S., O. MARTI, B. DRAKE, L. HELLMANS, C.E. BRACKER, P.K. HANSMA, N.L. KEDER, M.M. EDDY & G.D. STRUCKY (1988): Molecular resolution images of amino acid crystals with the atomic force microscope. — *Nature* **332**: 332 - 334.
- GOULD, S.A.C., B. DRAKE, C.B. PRATER, A.L. WEISENHORN, S.M. ANNE, H.G. HANSMA, J. MAS-SIE, M. LONGMIRE, V. ELINGS, W. STOECKENIUS, T.R. ALBRECHT & C.F. QUATE (1990): From atoms to integrated circuit chips, blood cells, and bacteria with the atomic force microscope. — *J. Vac. Sci. Technol.* **8**: 369 - 373.
- HÄBERLE, W., J.K.H. HÖRBER & G. BINNIG (1991): Force microscopy on living cells. — *J. Vac. Sci. Technol.* **9**: 1210 - 1213.
- HÄBERLE, W., J.K.H. HÖRBER, F. OHNESORGE, D.P.E. SMITH & G. BINNIG (1992): In situ investigations of single living cells infected by viruses. — In: (eds.) IBM Research Report. — IBM Research Division, Tokyo, Zürich, p. 1 - 10.
- HANSMA, H.G., A.L. WEISENHORN, A.B. EDMUNDSON, H.E. GAUB & P.K. HANSMA (1991): Atomic force microscopy: seeing molecules of lipid and immunoglobulin. — *Clin. Chem.* **37**: 1497 - 1501.
- HANSMA, P., V.B. ELINGS & O. MARTI (19988): Scanning tunneling microscopy and atomic force microscopy: application to biology and technology. — *Science* **242**: 209 - 216.
- HECKL, W.M., D.P.E. SMITH, G. BINNIG, H. KLAGGES, T. HÄNSCH, J. MADDOCKS & J.F. HOLZ-RICHTER (1992): DNA-Basen im Rastertunnelmikroskop. — *Diskussionstagung, Max-Planck-Institut für Biochemie, Martinsried*, 8. - 10.7.1992.
- HOH, J.H., R. LAI, S.A. JOHN, J.P. REVEL & M.F. ARNSDORF (1991): Atomic force microscopy and dis-

section of gap junctions. — *Science* **253**: 1405 - 1408.

- HÖRBER, J.K.H., V. WITZMANN, H. MÜLLER & J.P. RUPPERSBERG (1991): Acetylcholine receptor ion channel proteins imaged by the scanning tunneling microscope. — International Conference on Scanning Tunneling Microscopy, Interlaken, 12. - 16.8.1991.
- KASAS, S., A. BERDAL & M.R. CELIO (1992): Tooth structure studies using the atomic force microscope (AFM). — Diskussionstagung, Max-Planck-Institut für Biochemie, Martinsried, 8. - 10.7.1992.
- LEA, A.S., A. PUNGOR, V. HLADY, J.D. ANDRADE, J.N. HERRON & E.W.V. JR (1992): Manipulation of protein on mica by atomic force microscopy. — *Langmuir* **8**: 68 - 73.
- LIN, J.N., B. DRAKE, A.S. LEA, P.K. HANSMA & J.D. ANDRADE (1990): Direct observation of immunoglobulin adsorption dynamics using the atomic force microscope. — *Langmuir* **6**: 509 - 511.
- MASAI, J. & T. SORIN (1990): Scanning tunneling microscopic immunoassay: a preliminary experiment. — *Journal of Vacuum Science and Technology* **8**: 713 - 717.
- POHL, D.W. (1989): Scanning tunneling microscopy and related techniques. — In: BENEDEK, G., A. CAVALINI & W. SCHROTER (eds.) *Points and extended defects in semiconductors*. — Plenum publishing cooperation, p. 183 - 200.
- PUM, D., C. HÖDL, A. NEUBAUER & U.B. SLEYTR (1992): Vergleichende Abbildung periodischer Strukturen mit dem Rasterkraft- und dem Elektronenmikroskop. — Diskussionstagung, Max-Planck-Institut für Biochemie, Martinsried, 8. - 10.7.1992.
- RASCH, P., W.M. HECKEL, U. WIEDEMANN & J. WIENBERG (1992): Analyse gebänderter menschlicher Chromosomen und in Situ Hybridisierungsmuster mit dem SFM. — Diskussionstagung, Max-Planck-Institut für Biochemie, Martinsried, 8. - 10.7.1992.
- VOELKER, M.A., S.R. HAMEROFF, J.D. HE, E.L. DERENIAK, R.S. McCUSKEY, C.W. SCHNEIKER, T.A. CHVAPIL, L.S. BELL & L.B. WEISS (1988): STM imaging of molecular collagen and phospholipid membranes. — *Journal of Microscopy* **52**: 557 - 566.
- WEISENHORN, A.L., B. DRAKE, C.B. PRATER, S.A.C. GOULD, P.K. HANSMA, F. OOHNESORGE & M. EGGER (1990): Immobilized proteins in buffer imaged at molecular resolution by atomic force microscopy. — *Biophys. J.* **58**: 1251 - 1258.
- WIGREN, R., H. ELWING, R. ERLANDSSON, S. WELIN & I. LUNDSTROEM (1991): Structure of adsorbed fibrinogen obtained by scanning force microscopy. — *FEBS* **280**: 225 - 228.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Berichte des naturwissenschaftlichen-medizinischen Verein Innsbruck](#)

Jahr/Year: 1996

Band/Volume: [83](#)

Autor(en)/Author(s): Ettl Armin, Daxer Albert, Schmid Eduard

Artikel/Article: [Das Rasterkraftmikroskop in der biomedizinischen Forschung: Übersicht und ophthalmologische Anwendungen. 317-323](#)