ZAFH – PHOTONⁿ PHOTONische Verfahren in neuen Dimensionen

Hochschule Aalen



(Sprecher: Prof. Dr. Herbert Schneckenburger)

im Verbund mit den Hochschulen

Furtwangen, Konstanz, Mannheim,







Offenburg und Reutlingen





Struktur und Teilprojekte

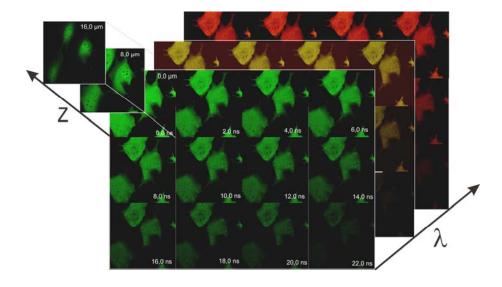
ZAFH – PHOTONⁿ: PHOTONische Verfahren in neuen Dimensionen

Multidimensionale Mikroskopie	Photonische Sensorik	
TP 1.1. Tiefenauflösendes Imaging	TP 2.1. Miniatur-Lasersensor	
TP 1.2. 3D-Laserpinzette	TP 2.2. Faseroptischer Gassensor	
TP 1.3. Multispektrales Imaging	TP 2.3. Fabry-Pérot-Biosensor	
	TP 2.4. 4D-Fertigungsmesstechnik	

Multidimensionale Mikroskopie

Ziele:

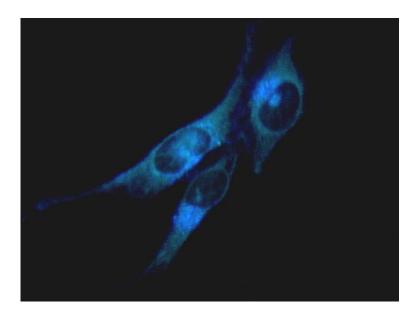
- Tiefenauflösung
- Spectral Imaging
- Fluorescence Lifetime Imaging
- Diffus-optische Abbildung
- Laser-Mikromanipulation



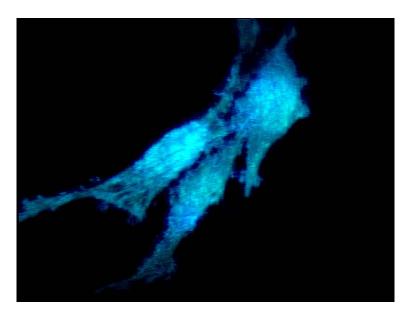
Teilproje	ekte	Kurztitel	Kooperationen	Leitung
-	1.1.	Tiefenauflösendes Imaging	AA, KN, FU und MA (ILM UL u. Uni HD)	HS AA
	1.2.	3D-Laserpinzette	OG, FU und AA (ILM UL)	HS OG 📫
	1.3.	Multispektrales Imaging	RT und MA (ILM UL)	HS RT

Tiefenauflösende Mikroskopie

U373-MG menschliche Glioblastomzellen + Laurdan (8 µM; 1h)

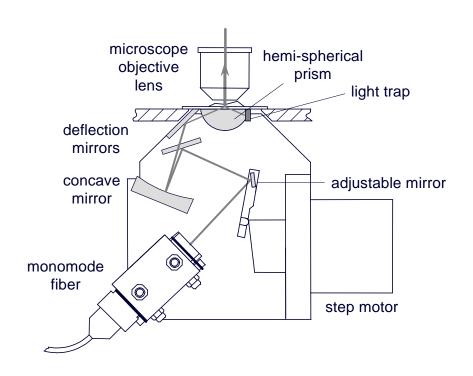


Gesamte Zellen: ∆z ≈ 10 µm

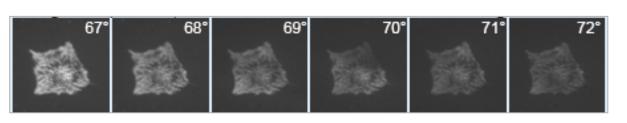


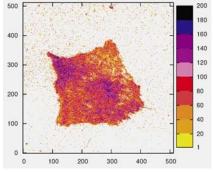
Plasmamembran: $\Delta z \approx 150 \text{ nm}$

Tiefenauflösende Totalreflexionsmikroskopie (TIRFM)



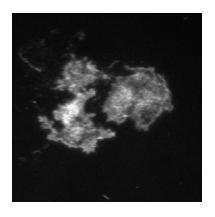




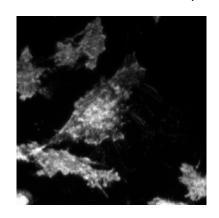


Zell-Substrat-Nanotomographie

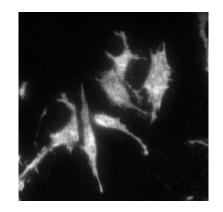
Laurdan

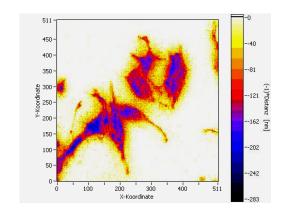


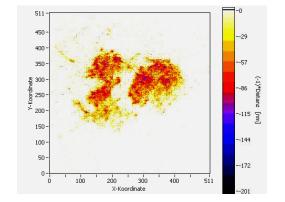
Laurdan – Cholesterin (30%)

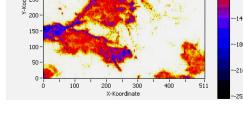


Laurdan – Cholesterin (50%)

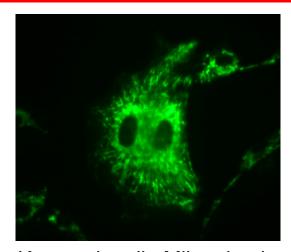




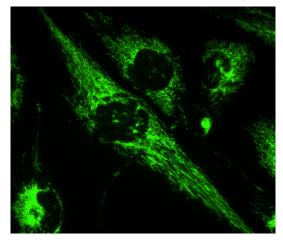




Tiefenauflösende Mikroskopie (konfokale LSM)



Konventionelle Mikroskopie



Konfokale LSM.

Vorteile der konfokalen Laser-Scanning-Mikroskopie (LSM):

- Axiale Auflösung im Submikrometerbereich
- Selektion von Schichten in beliebiger
 Probentiefe

Nachteile der konfokalen LSM:

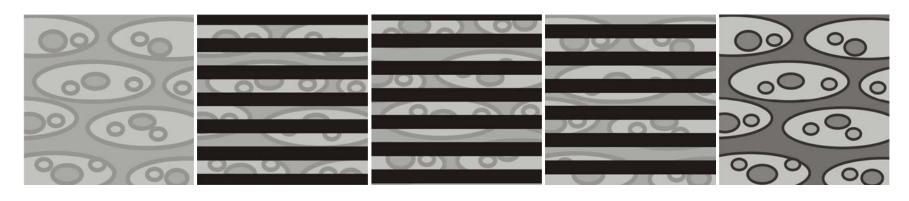
- Limitierte Anregungswellenlängen
- Lange Messzeiten
- Hohe Lichtbelastung der Proben
- Aufwendig und teuer

Tiefenauflösung durch Strukturierte Beleuchtung

Optisches Gitter $I = I_0 + I_C \cos \Phi + I_S \sin \Phi$ wird in die Probenebene abgebildet

 $I = [(I_1 - I_2)^2 + (I_1 - I_3)^2 + (I_2 - I_3)^2]^{1/2}$ Schnittbild:

Konventionelles Bild: $I = I_1 + I_2 + I_3 / 3$



Ursprüngl. Bild

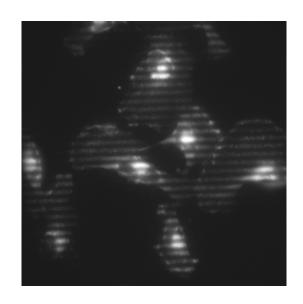
 $\Phi_1 = 0 \to I_1$ $\Phi_2 = 2\pi/3 \to I_2;$ $\Phi_3 = 4\pi/3 \to I_3$

Schnittbild

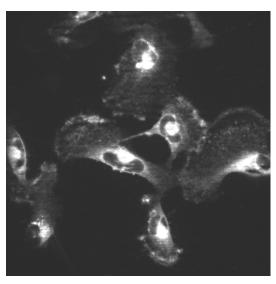
A.A. Neil, R. Juskaitis, T. Wilson: Opt. Lett. 22 (1997) 1905–1907

Fluoreszenzmikroskopie / Strukturierte Beleuchtung

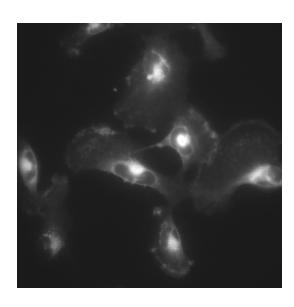
U373-MG Glioblastomzellen + Laurdan (8 µM; 1h)



Strukturierte Beleuchtung



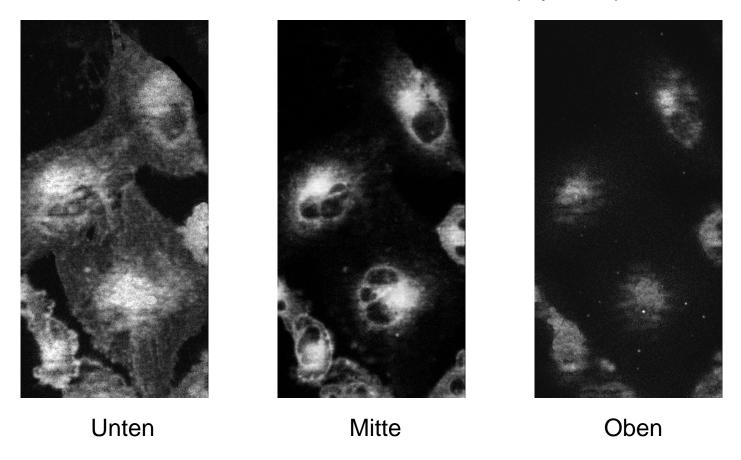
Schnittbild



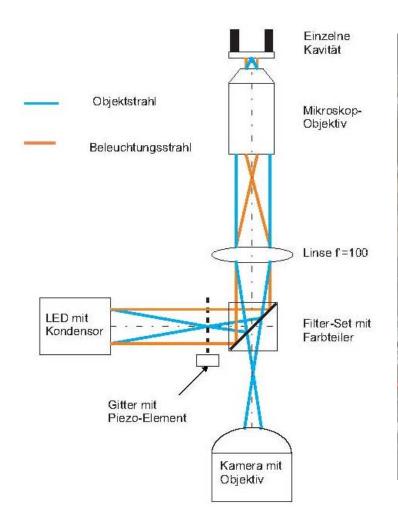
konventionelles Bild

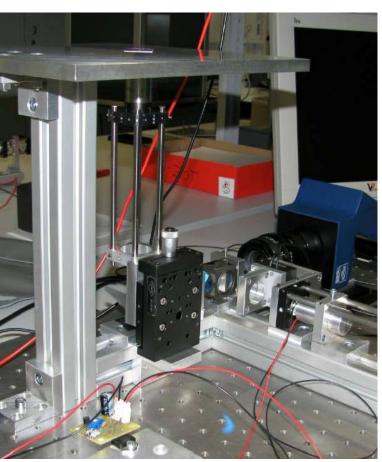
Strukturierte Beleuchtung: Schnittbilder

U373-MG Glioblastomzellen + Laurdan (8 μM; 1h)

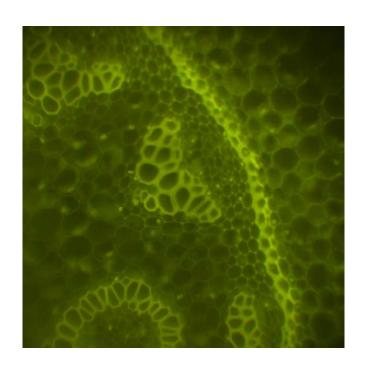


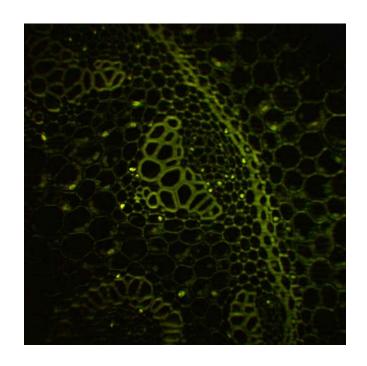
Strukturierte Beleuchtung (Messaufbau)



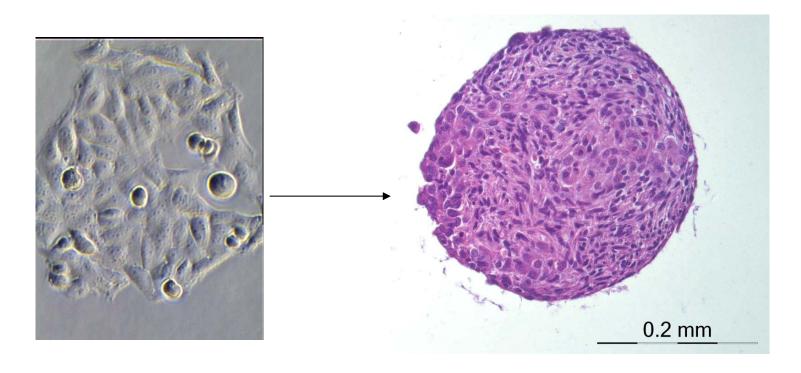


Strukturierte Beleuchtung (Testprobe)





Anwendung: Tumor-Sphäroide



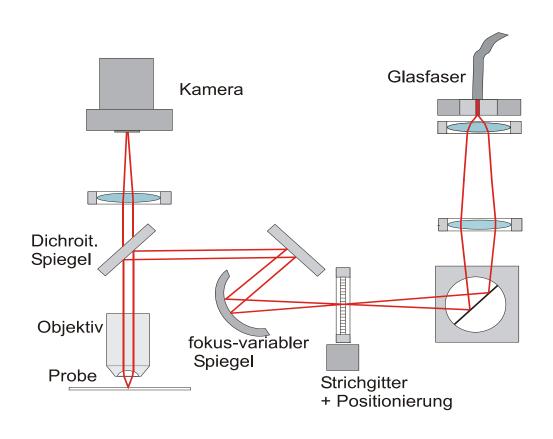
2-dimensionale Zellkultur (auf Glasträger)

- artifizielles Modell

3-dimensionales Sphäroid:

- beschreibt Zellen im Gewebeverband
- beschreibt realen Tumor
- ermöglicht Wirkstoffforschung

Tiefenselektion durch Fokus-variablen Spiegel



Tiefenauflösende Mikroskopie: Anwendungen

- Markerfreie Mikroskopie (Autofluoreszenz, Raman)
 - → Folgeprojekte (BMBF, Landesstiftung BW)
- Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy (FLIM)
 - → Erweiterung geplant
- Selective Plane Illumination Microscopy (SPIM)
 - → geplant
- Dosis-limitierte Mikroskopie
 - → laufendes Projekt des Landes BW

Tiefenauflösende Mikroskopie: Beiträge der Partner

- -TIRFM + Strukturierte Beleuchtung: Hochschule Aalen
- Mikrospektralanalyse: Hochschule Reutlingen
- Fokus-variabler Spiegel: Hochschule Furtwangen
- Zellkulturmodelle: Hochschule Mannheim, DKFZ
- Tumor-Sphäroide: ILM Ulm