



ZAFH – PHOTONⁿ



PHOTONische Verfahren in neuen Dimensionen

Verbundprojekt der Hochschulen Aalen, Furtwangen, Konstanz, Mannheim, Offenburg und Reutlingen, des ILM Ulm und der Universität Heidelberg

gefördert durch die Europäische Union, Europäischer Fonds für regionale Entwicklung, und das Land Baden - Württemberg

FORSCHUNGSBERICHT 2012

Partner:

Hochschule Aalen	Beethovenstraße 1 73430 Aalen	Prof. Dr. Herbert Schneckenburger Prof. Dr. Rainer Börret
zusammen mit		
Hochschule Furtwangen	Robert-Gerwig-Platz 1 78120 Furtwangen	Prof. Dr. Ulrich Mescheder Prof. Dr. Dietrich Kühlke
Hochschule Konstanz	Brauneggerstraße 55 78462 Konstanz	Prof. Dr. Claus Braxmaier Prof. Dr. Matthias Franz
Hochschule Mannheim	Windeckstraße 110 68163 Mannheim	Prof. Dr. Petra Kioschis Prof. Dr. Mathias Hafner
Hochschule Offenburg	Badstraße 24 77652 Offenburg	Prof. Dr. Werner Schröder Prof. Dr. Christoph Nachtigall
Hochschule Reutlingen	Alteburgstraße 150 72762 Reutlingen	Prof. Dr. Rudolf Kessler
Institut für Lasertechnologien in der Medizin und Messtechnik an der Universität Ulm (ILM)	Helmholtzstraße 12 89081 Ulm	Prof. Dr. Raimund Hibst Prof. Dr. Alwin Kienle
Universitätsklinikum Heidelberg Abteilung Neuropathologie	Im Neuenheimer Feld 220/221 69120 Heidelberg	Prof. Dr. Andreas von Deimling

Sprecher: Prof. Dr. Herbert Schneckenburger
Hochschule Aalen
Beethovenstraße 1
73430 Aalen
Telefon: 07361 / 576 - 3401
E-mail: herbert.schneckenburger@htw-aalen.de

Zusammensetzung des wissenschaftlichen Beirats:

Dr. A. Ehrhardt (Vorsitz)	Photonics BW e.V.	Carl-Zeiss-Straße 1, 73447 Oberkochen
Prof. Dr. A. Leitenstorfer	FB Physik, Univ. Konstanz	Fach M 696, 78457 Konstanz
PD Dr. W. Petrich	Roche Diagnostics GmbH	Sandhofer Straße 116, 68305 Mannheim
Dr. M. Kempe	Carl Zeiss AG	Carl-Zeiss-Promenade 10, 07745 Jena

I. Übersicht über Gesamtverbund

Im ZAFH-PHOTONⁿ werden seit dem 01.01.2008 7 Projekte im Rahmen von 2 Forschungsschwerpunkten bearbeitet. Hierbei sind 6 Hochschulen für Angewandte Wissenschaften und 2 universitäre Institute zusammengeschlossen, die von externen Partnern, insbesondere aus der Industrie, kompetent beraten werden. Die erzielten Ergebnisse wurden bisher auf 4 Photoniktagen an der Hochschule Aalen der Öffentlichkeit (jeweils 80–100 Teilnehmer) vorgestellt. Neben diesen Forschungstagen wurden zahlreiche Treffen der einzelnen Partner für eine effektive Zusammenarbeit genutzt. Die erzielten Ergebnisse wurden am 25.06.2010 einem Gutachtergremium präsentiert, das die erzielten Leistungen als sehr gut und innovativ würdigte und eine Weiterförderung über den 31.12.2010 hinaus um mindestens 2 weitere Jahre einstimmig empfahl. Um einen qualifizierten Abschluss aller Arbeiten zu gewährleisten, hat das Ministerium für Wissenschaft, Forschung und Kunst Baden-Württemberg (MWK) zwischenzeitlich das ZAFH-PHOTONⁿ bis zum 31.12.2013 kostenneutral verlängert.

Die im Jahr 2012 erzielten Ergebnisse sind im Folgenden für die einzelnen Teilvorhaben dargestellt. Ebenso sind die in Form von Veröffentlichungen, Vorträgen, Abschlussarbeiten etc. dokumentierten Leistungen zusammengefasst.

Die Aktivitäten des Zentrums sind auf der Homepage www.zafh.de bzw. www.zafh-photon.de dokumentiert.

ZAFH – PHOTON ⁿ : PHOTONische Verfahren in neuen Dimensionen	
Übersicht über die Teilprojekte	
	<i>Multidimensionale Mikroskopie</i>
TP 1.1.	Tiefenauflösendes Imaging Koordination: HS Aalen
TP 1.2.	3D-Laserpinzette Koordination: HS Offenburg
TP 1.3.	Multispektrales Imaging Koordination: HS Reutlingen
	<i>Photonische Sensorik</i>
TP 2.1.	Miniatur-Lasersensor Koordination: HS Konstanz
TP 2.2.	Faseroptischer Gassensor Koordination: HS Furtwangen
TP 2.3.	Fabry-Perot-Biosensor Koordination: HS Furtwangen
TP 2.4.	4D-Fertigungsmesstechnik Koordination: HS Aalen

II. Bericht zu den Teilprojekten

Schwerpunkt 1: Multidimensionale Mikroskopie

Teilprojekt 1.1: Tiefenauflösendes Imaging

(Koordination: HS Aalen; Projektpartner: HS Mannheim, HS Furtwangen, ILM Ulm)

Gesamtziel:

Ziel des Vorhabens ist, tiefenauflösende Methoden für Mikroskopie und Screening dreidimensionaler Zellkulturen zu entwickeln, die in ihrer Histologie, Physiologie und Metabolismus dem Gewebe wesentlich ähnlicher sind als herkömmliche 2D-Kulturen. Das Vorhaben umfasst einerseits die Etablierung und Validierung zellulärer Testsysteme, andererseits die Etablierung und Nutzung von Methoden der 3D-Mikroskopie mit minimaler Lichtdosis, um Zellen auch über größere Messzeiten hinweg vital zu halten.

Projektziele:

1. Etablierung und Charakterisierung dreidimensionaler Zellsysteme

A) Standardisiertes Verfahren zur Generierung und Analyse von 3D Sphäroiden aus Tumorzelllinien des Glioblastoms

Dreidimensionale Zellsysteme aus Tumorzelllinien stellen das Mikromilieu von kleinen avaskulären Tumoren und kleinen Metastasen *in vivo* sehr gut dar. Für die Herstellung von multizellulären Tumorsphäroiden (MTS) wurden verschiedene Kultivierungsverfahren Zelllinien-spezifisch getestet (Kultivierung auf Agar; Kombination von „Hanging drop“ und Agar; Kultivierung auf PolyHEMA). In der Weiterentwicklung dieser Verfahren im Förderjahr 2012 wurden für isogene Glioblastom- und Brustkrebszelllinien die Kultivierungsverfahren standardisiert, um eine Reproduzierbarkeit und damit Vergleichbarkeit zu erreichen. Dazu wurde eine Kombination von 96-ULA (Ultra-Low Attachment Surface) Mikrotiterplatten und Hydrogel-Coating eingesetzt. Die Einsaat-Zellzahlen, Kultivierungszeiten und die Volumenbestimmung wurden für die Tumorzelllinien im MTP-Maßstab optimiert. Das

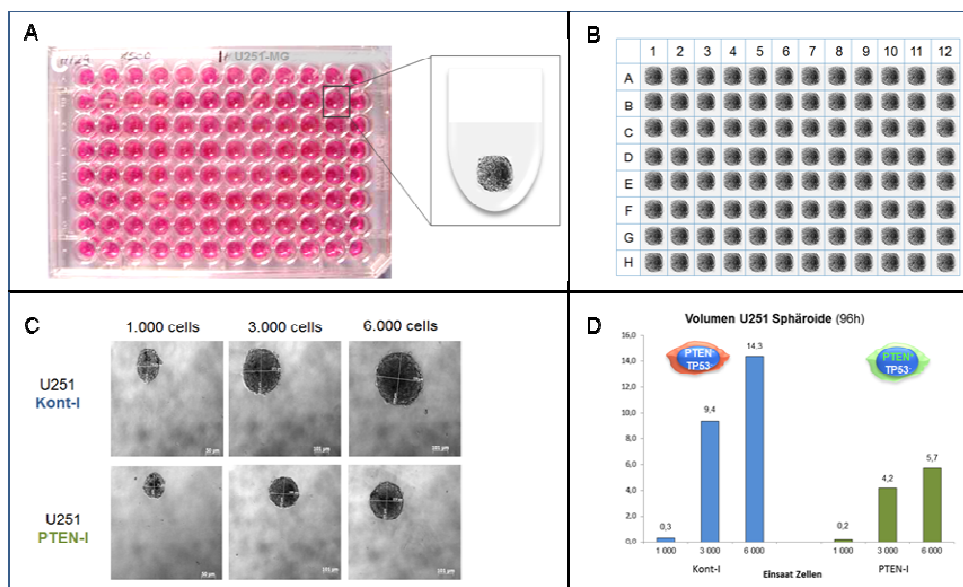


Abb. 1.1.1. A) Kultivierung der Tumorzelllinien in ULA (Ultra-Low Attachment Surface) – Mikrotiterplatten, B u. C) Mikroskopische Erfassung und Berechnung der Sphäroid-Volumina, C) Expression tumorrelevanter Targetgene (hier PTEN) in den 3D-Zellsystemen, D) Die resultierenden Sphäroide zeigten bei Expression von PTEN eine signifikante Volumenreduzierung.

Mikrotiterplattenformat ermöglicht eine parallele Generierung von Sphäroiden in hoher Reproduzierbarkeit. Das Potenzial der etablierten 3D-Zellmodelle für die Charakterisierung von tumorrelevanten Zielgenen wurde am Beispiel der beiden Tumorsuppressoren PTEN und TP53 getestet (Abb. 1.1.1).

B) Entwicklung eines Sphäroid-Invasionsassays

Auf der Basis der unter Punkt A) entwickelten Standardverfahren zur 3D-Kultivierung der Tumorzelllinien wurde zur Analyse weiterer Tumorparameter bzw. deren potenziellen Beeinflussung durch Zielmoleküle ein Invasionsassay aufgebaut. Dazu wurden die in A) hergestellten multizellulären Tumorsphäroide in mit Matrigel™ gefüllte Mikrotiterplatten mit flachem Boden transferiert. Die induzierte Invasion ist mittels der Bildung von Invadopodien sowie Messung deren Länge feststellbar (Abb. 1.1.2). In dem Assay können Substanzen sowie auch genetische Zielmoleküle auf ihr die Invasion modifizierendes Potenzial getestet werden. Für modifizierte U-251MG Zelllinien wurde in dem Assay festgestellt, dass im Vergleich zu den Wildtyp-Tumorlinien die Expression von PTEN bzw. TP53 zu einer geringeren Ausbildung von Invadopodien führt, die im Mittel kürzer sind. Der Effekt von PTEN ist dabei stärker als bei TP53 (Abb. 1.1.2).

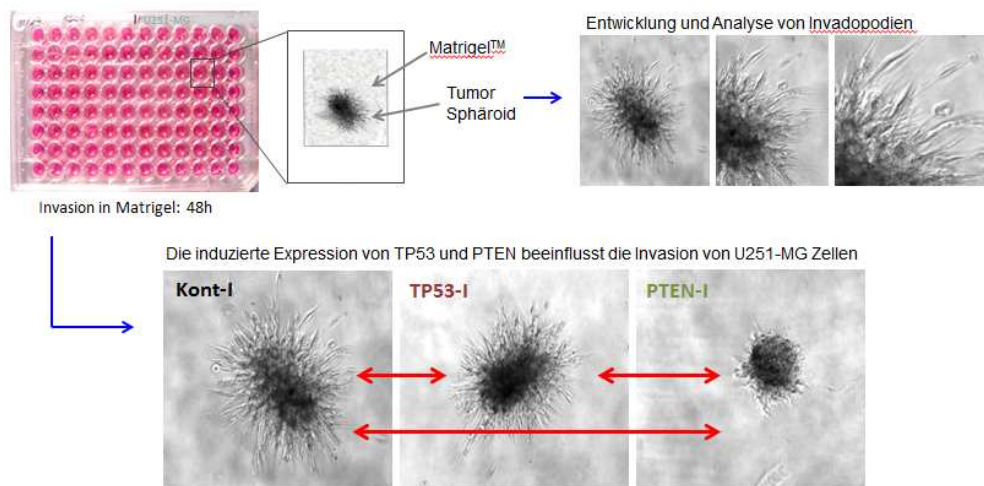


Abb. 1.1.2. Entwicklung des Sphäroid-Invasionsassays. Die Bildung der Invadopodien ist nach 48h im Matrigel™ gut zu detektieren. Der Einfluss der Target-Gene (hier TP53-I und PTEN-I) auf das Invasionspotenzial ist im Vergleich zur nicht modifizierten Tumorlinie (Kont-I) (rote Pfeile) anhand der Anzahl und Länge der Invadopodien darstellbar.

C) Entwicklung eines Sphäroid-Migrationsassays

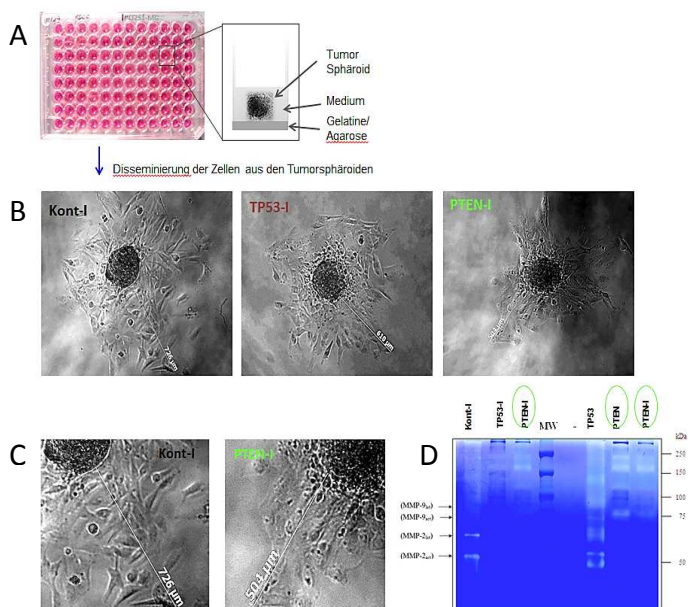


Abb. 1.1.3. Entwicklung des Sphäroid-Migrationsassays.

A) Die in ULA-Platten generierten MTS wurden für die Disseminationsanalysen in mit Gelatine beschichtete MTPs in Medium transferiert. B u. C) Abhängig vom getesteten Targetgen (TP53, PTEN) kann ein unterschiedliches Migrationsverhalten festgestellt werden. C) Im Vergleich zur U-251MG Glioblastom Wildtyp-Tumorzelllinie wandern die Zellen bei Expression des PTEN weniger weit.

D) Zymogramm (tumorrelevante Matrix-Metalloproteasen (MMP)). Die MMPs sind bei den modifizierten TP53- und PTEN-Tumorlinien weniger stark exprimiert, was mit den Daten in B und C (geringere Migrationsraten) übereinstimmt.

Für die Analyse von Zellmigration und der Degradation der extrazellulären Matrix im Vergleich zwischen Wildtyp-Tumorlinie und modifizierten Tumorzelllinien in Abhängigkeit von induzierten Targetmolekülen wurde die Disseminierung der Sphäroide unter Feststellung der Wanderungstrecke als auch zusätzlich durch ein Zymogramm untersucht (Abb. 1.1.3).

Die entwickelten Methoden und SOPs zur Generierung von multizellulären Tumorsphäroiden sowie die funktionellen Assays stellen ein standardisiertes Verfahren für die 3D-Analyse von Tumorsphäroiden für das Screening von tumorrelevanten Targetgenen als auch potenziellen Wirksubstanzen dar. Darüber hinaus wurden die etablierten Tumorzellmodelle für AFM (Atomic Force Microscopy)- Analysen zur Zellelastizität erfolgreich eingesetzt (Berquand et al., submitted to Japan. J. Appl. Phys.).

2. Herstellung optimierter genvariiertes Zellsysteme für die Generierung von Zellmodellen für Krebsstammzellen und Wirkstoffscreening

Um die rekombinante Expression und Funktionsanalyse tumorrelevanter Kandidatengene weitergehend insbesondere in der Regulation der Genexpression und in der Zellmodellentwicklung zu optimieren, wurde in Kooperation mit der Universität Heidelberg (Andreas von Deimling) und der University of Southern Denmark (Jan Mollenhauer) eine Plattform von Vektoren mit unterschiedlichen genetischen Modifikationen hergestellt: **A)** pRAPtar-1i: Full-length CMV promoter; Tet-operator (TO) tandem repeat; Tet Repressor (TetR); **B)** pRAPtar-1i2: Full-length CMV promoter; Tet-operator (TO) tandem repeat; Tet Repressor with optimized codon usage for human cells (hTetR); **C)** pRAPtar-1i3: pTRE-Tight promoter (Ptight; minimal promoter); seven TO repeats; reverse Tet-controlled transactivator (rtA2S-M2); **D)** pRAPtar-1i4: PhCMV*-1 Tet responsive promoter (pTRE2; full-length CMV promoter); seven TO repeats; reverse Tet-controlled transactivator (rtA2S-M2); **E)** pRAPtar-1i5: PhCMV*-1 Tet responsive promoter (pTRE2); seven TO repeats; reverse Tet-controlled transactivator (rtA2S-M2); Tet-transcription silencer (tTS). Für die eingesetzten Glioblastom und Brustkrebszelllinien sind die Vektoren B) und E) optimal (hohe Expression, niedrige „Leakiness“). Insgesamt erlaubt diese Kollektion von Expressionsvektoren eine schnellere Generierung und Anpassung an verschiedene Typen von Zelllinien. Die Vektoren wurden für die Klonierung von neuen Kandidatengenen für Brustkrebs und für die Generierung von Brustkrebszellmodellen bereits erfolgreich eingesetzt. Die Zellmodelle werden für die Identifikation von Zielmolekülen zur Eliminierung von Tumorstammzellen eingesetzt. Die Arbeiten an diesen Modellen ist zurzeit noch nicht abgeschlossen (Projekt zur Dissertation von Frau Dipl. Ing. C. Müller).

3. Weiterentwicklung der Lichtscheibenmikroskopie und Adaption eines Mikrofluid-Systems

Bei der Etablierung tiefenauflösender Mikroskopiemethoden wird großer Wert auf eine Minimierung der Lichtdosis zur Erhaltung der Zellvitalität gelegt. Im Gegensatz zur Laser-Scanning-Mikroskopie und zur Weitfeldmikroskopie mit strukturierter Beleuchtung muss bei der Lichtscheibenmikroskopie für die Untersuchung einzelner Zellschichten nur die jeweilige Schicht (und nicht die gesamte Probe) beleuchtet werden. Aktuell verwendete Ansätze zur Lichtscheibenmikroskopie sind weitgehend für stationäre Zellkulturmedien (Flüssigkeiten oder Gele) vorgesehen oder benötigen im Durchflussbetrieb verhältnismäßig große Mengen applizierter Reagenzien (z.B. Nährstoffe, Wirkstoffe oder Fluoreszenzfarbstoffe). Im Gegensatz hierzu werden die Proben im eigenen System in Mikrokapillaren lokalisiert und über ein angekoppeltes Mikrofluid-System mit Reagenzien versorgt. Diese können orts- und zeitgenau in kleinster Menge und bei definierter Temperatur appliziert werden.

Im Rahmen des ZAFH-PHOTONⁿ wurde im vergangenen Jahr an der Hochschule Aalen ein Messaufbau an ein konventionelles inverses Mikroskop adaptiert, bei dem einzelne

Zellproben (Sphäroide) in Mikrokapillaren positioniert und von der Seite mit einer Lichtscheibe von 10 μm Dicke beleuchtet werden. Dieser Aufbau wurde im Förderjahr 2012 weiter optimiert und mit dem o.g. Mikrofluidik-System erfolgreich kombiniert. Hierbei wurden die Mikrofluidik-Erfahrungen aus den vergangenen Förderjahren zur optischen Pinzette (Teilprojekt 1.2) angewandt und umgesetzt. In Abb. 1.1.4 ist der Aufbau der Mikrofluidik (links) zur Nutzung in der Lichtscheibenmikroskopie (rechts) dargestellt. Abbildung 1.1.5 zeigt ein exemplarisches Anwendungsbeispiel zur Aufnahmekinetik des Fluoreszenz-Farbstoffs Acridin Orange aus dem Kulturmedium (Inkubationskonzentration: $5\mu\text{M}$) in der Fokusebene eines Zellsphäroids. Man erkennt, dass der Fluoreszenzfarbstoff nach 5 Minuten die äußeren Zellschichten des Sphäroids erreicht und nach ca. 30 Minuten bis in das Zentrum eindringt.

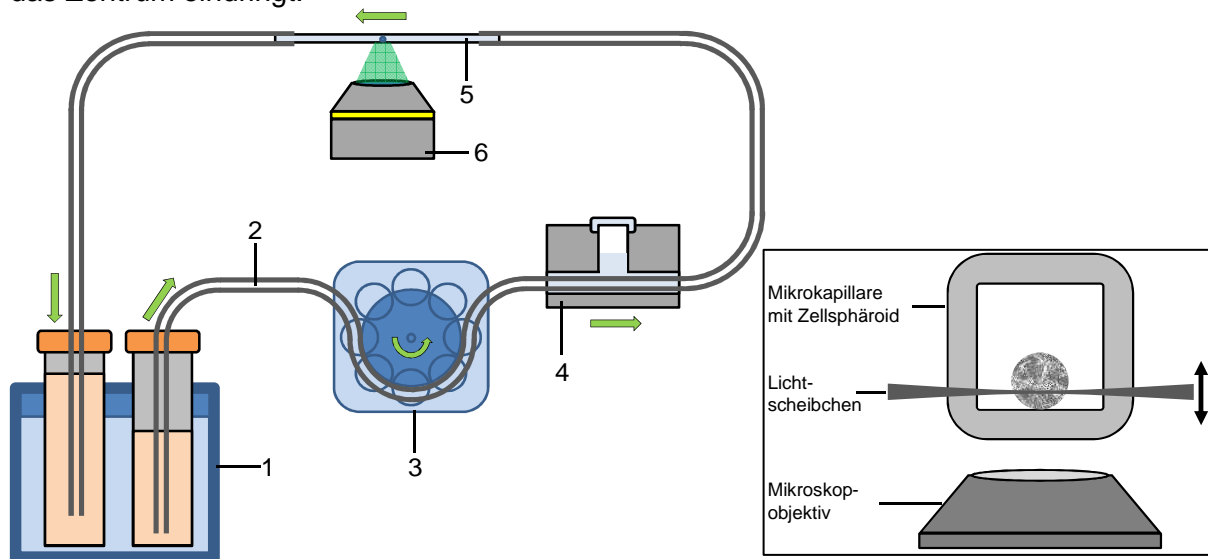


Abb. 1.1.4. (links) Aufbau der Mikrofluidik (1. temperierbares Wasserbad, 2. Silikonschlauch, 3. Schlauchpumpe, 4. Blasenfalle, 5. Mikrokapillare, 6. Mikroskopobjektiv); (rechts) Beleuchtungsschema für die Lichtscheibenmikroskopie.

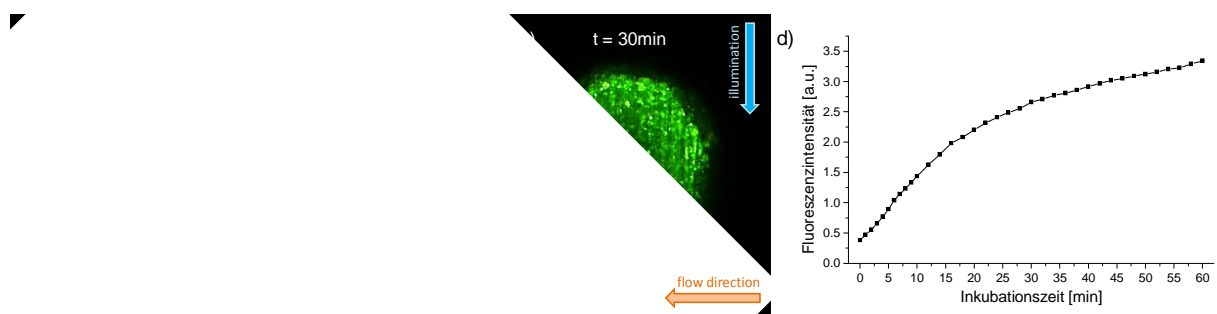


Abb. 1.1.5. Aufnahme von Acridin Orange ($5\mu\text{M}$ in Kulturmedium) durch ein Zellsphäroid im mikrofluidischen System. Die Fluoreszenzintensität wurde in einer Ebene im Abstand von $40\mu\text{m}$ zur Grenzfläche in Abhängigkeit von der Inkubationszeit erfasst. (a-c) ausgewählte Aufnahmen für $t=0\text{min}$, $t=5\text{min}$ und $t=30\text{min}$; (d) Kinetik der integralen Fluoreszenzintensität über 60 Minuten (Flussrate: $9\mu\text{l}/\text{min}$; Flusstemperatur: 37°C ; Mikroskopobjektiv: $10\times/0.30$; Fluoreszenzdetektion: $\lambda \geq 515\text{nm}$).

In Kombination mit dem durch das Land Baden-Württemberg geförderten innovativen Projekt „3D Ratio Imaging von Tumorzell-Sphäroiden“ wurden zusätzlich zur bestehenden Glasfasereinkopplung zwei Picosekunden-Laserdioden sowie ein zeitauflösendes (Nanosekunden-) Imaging-System an den Aufbau adaptiert und erste Untersuchungen an einem für den Redoxzustand der Zellen sensitiven fluoreszierenden Protein durchgeführt.

Details zum experimentellen Aufbau sowie entsprechende Messergebnisse werden im Bericht zu diesem innovativen Projekt aufgeführt.

4. Applikation: Cholesterin-abhängige zelluläre Aufnahme und Wechselwirkung eines Zytostatikums

Das Zytostatikum Doxorubicin gehört zur Stoffgruppe der Anthracycline und wird zur Therapie von malignen Tumoren wie z.B. Mammakarzinom, Bronchialkarzinom und Lymphomen eingesetzt. Die Wirkung beruht auf die Interkalation in die DNA und den daraus folgenden apoptotischen Prozessen. Aufgrund seiner Fluoreszenzeigenschaften ist Doxorubicin gut geeignet, um die zelluläre Aufnahme mikroskopisch zu untersuchen. Da bei diesem Aufnahmeprozess der Einfluss der MembranstEIFigkeit diskutiert wird, wurde die Doxorubicin-Aufnahme an humanen Brustkrebszellen auch bei veränderter MembranstEIFigkeit (nach Entzug von Cholesterin) an der Hochschule Aalen untersucht.

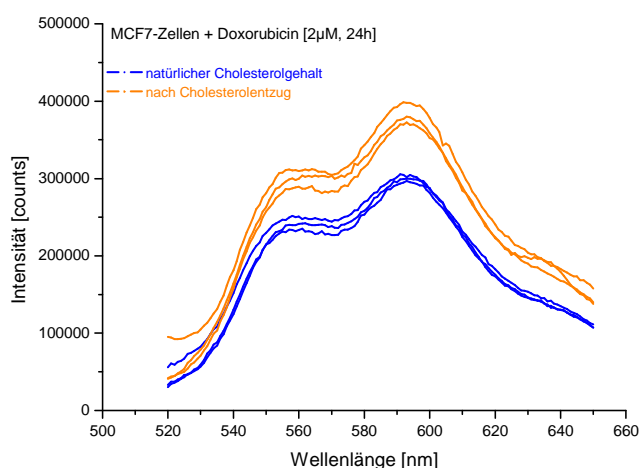


Abb. 1.1.6. Fluoreszenzspektren von MCF-7 Zellen nach Inkubation mit Doxorubicin [2 μ M, 24 h]; Zellen mit natürlichem Cholesteringehalt (blau) und verringertem Cholesteringehalt (orange); dargestellt sind jeweils 3 Einzelmessungen von einem kompletten Zell-Pellet. Anregungswellenlänge: $\lambda_{ex} = 470$ nm.

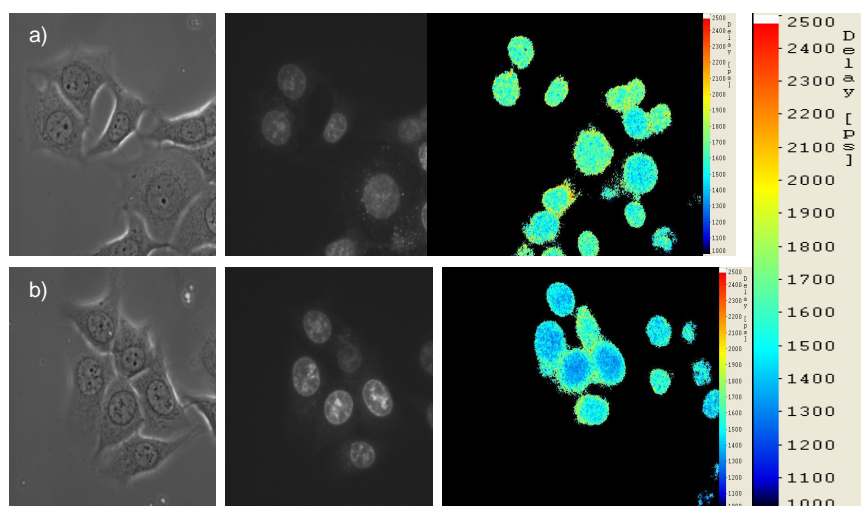


Abb. 1.1.7. Phasenkontrast-, Intensitäts- und FLIM-Bild (Fluoreszenzabklingzeit in ps) von MCF7 Brustkrebszellen nach Inkubation mit Doxorubicin [2 μ M, 24 h]. Zellen mit unverändertem (a) und verringertem (b) Cholesteringehalt. $\lambda_{ex} = 470$ nm.

Die zelluläre Aufnahme von Doxorubicin wurde nach 2 h und 24 h Inkubationszeit (2 μ M in Kulturmedium) an MCF-7 Zellen gemessen. Um das Verhalten näher zu bestimmen, wurden Fluoreszenzspektren, Phasenkontrast- und Intensitätsbilder aufgenommen. Weiterhin

wurden auch die Fluoreszenzlebensdauer und deren intrazelluläre Verteilung bestimmt. Anhand der Fluoreszenzspektren (Abb. 1.1.6) erkennt man bei den Zellen mit geringerem Cholesteringehalt höhere Fluoreszenzintensitäten im Vergleich zu den unbehandelten Zellen. Weitere Veränderungen ergeben sich bei Betrachtung der Fluoreszenzabklingzeiten. Während bei kurzer Inkubation mit Doxorubicin (2h) die Unterschiede zwischen den unbehandelten Zellen und den Zellen nach Cholesterinentzug nur gering sind, ergeben sich bei längerer Inkubationszeit (24h) größere Unterschiede hinsichtlich der Fluoreszenzabklingzeit. Während die Phasenkontrast- und Intensitätsbilder von Abb. 1.1.7 die Lokalisierung von Doxorubicin im Kern aufzeigen, zeigen die Bilder der Fluoreszenzabklingzeit (Fluorescence Lifetime Imaging, FLIM) deren Verkürzung als Funktion der Inkubationszeit sowie des zellulären Cholesteringehalts. Die Abnahme der Fluoreszenzabklingzeit wird durch den farblichen Übergang von grün zu blau dargestellt.

Teilprojekt 1.2: 3D-Laserpinzette

(Koordination: HS Offenburg, Projektpartner: HS Aalen, HS Furtwangen)

Im Jahr 2012 wurden verschiedene Konfigurationen der holographisch-optischen Pinzette getestet. Außerdem wurden zwei Laserdioden mit Wellenlängen im Bereich 630nm erworben, um den bisher verwendeten 30mW HeNe Laser zu ersetzen. Die Diode vom Typ „Warnlaser“ mit einer Wellenlänge von 635nm und einer Spitzenleistung von 400 mW zeigte sich unter anderem auch aufgrund der schlechten Strahlqualität und des unregelmäßigen Betriebs als ungeeignet. Die zweite Fiber-Pigtailed Laserdiode vom Typ „Thorlabs LP637-SF70“ hat eine optische Leistung von 70mW bei 204mA und eine Wellenlänge von 637nm bei 25°C. Aufgrund des SM FC/PC Stecker ließ sie sich einfach in den bestehenden Aufbau mit SM Polarisations-Controller integrieren. Als Laserdioden Treiber wird aktuell ein ILX Lightwave LDC-3742 verwendet.

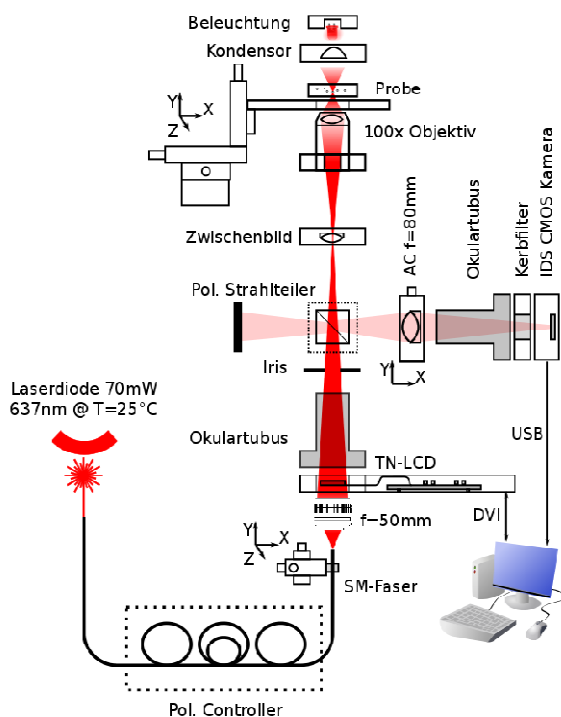


Abb. 1.2.1. Schematischer Aufbau

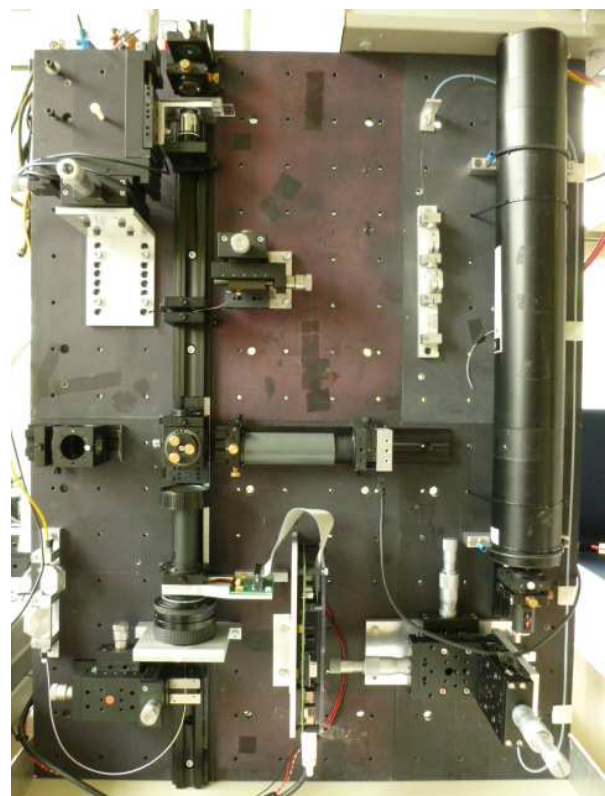


Abb. 1.2.2. Aufbau im Labor

In dem Aufbau (Abbildungen 1.2.1 und 1.2.2) wurde ein Epson L3P06S-41G10 TN-LCD mit 800x600 Pixel (15,5µm pixel pitch) als EASLM verwendet. Es wurden verschiedene iterative Verfahren, wie z.B. „simulated annealing“, getestet um die Zernike-Koeffizienten zur Wellenfrontkorrektur zu bestimmen und somit die Haltekraft der optischen Pinzette zu erhöhen. Die optische Leistung im Fokus des Zwischenbildes betrug ca. 3.6mW bei einem Strahlradius von ca. 30µm.

Mit dem gezeigten Aufbau war es möglich Polystyrol-Partikeln mit einem mittleren Durchmesser von 3µm und Milchsäurebakterien in einer holographisch erzeugten optischen Falle zu fangen und gezielt in allen 3 Dimensionen zu verschieben. Die Haltekraft der Pinzette wurde experimentell mit ca. 36pN bestimmt. Abbildung 1.2.3 zeigt einzelne Bilder einer Videosequenz, in der ein Partikel gefangen und auf einer Kreisbahn bewegt wurde, wie auf der Webseite der Hochschule Offenburg http://ei.hs-offenburg.de/forschungsprojekte/forschungsprojekte/holographische_optische_pinzette/ dargestellt. Ein detaillierter Bericht findet sich im Campus-Magazin der Hochschule Offenburg, Ausgabe Nr. 33 / Sommer 2012.

Die Software zur Analyse der Bilddaten, sowie zur Berechnung der Korrekturen und der Hologramme wurde in C++ und GNU Octave implementiert. Außerdem wurden einige Experimente mit verschiedenen polarisierenden und nicht polarisierenden Strahlteilerwürfeln und -plättchen mit unterschiedlichem Transmissions-Reflexions-Verhältnis durchgeführt. Das Ziel war dabei, die Leistung der Pinzette weiter zu erhöhen.

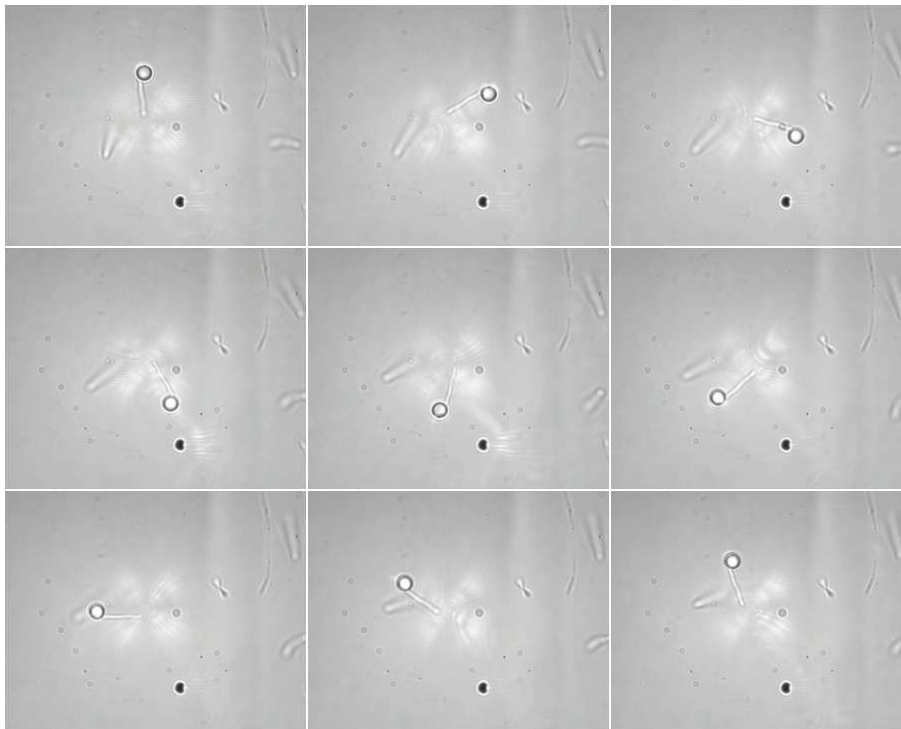


Abb. 1.2.3. Polystyrolpartikel, welches auf einer Kreisbahn geführt wird.

Teilprojekt 1.3: Multispektrales Imaging

(Koordination: HS Reutlingen; Projektpartner: ILM Ulm, HS Aalen, HS Mannheim,)

Übersicht

Die im Vorfeld entwickelten Imaging Systeme sollten nunmehr auf biologische Materialien wie z.B. Chromosomen und Krebszellen übertragen werden, aber auch mögliche online Anwendungen in industriellen Fertigungssystemen aufzeigen. Beispiele hierfür sind die Bestimmung der Wirkstoffverteilung in Tabletten, die Analyse stark streuender Systeme wie z.B. Holz als nachwachsender Rohstoff, die Untersuchung von Lebensmitteln wie Mais oder Milch, oder die Analyse von dünnen Schichten auf Metalloberflächen.

Ausgewählte Beispiele für Spektrales Imaging in biologischen Systemen (Mikroskopsysteme)

1. Spektrales Imaging bei Chromosomen

Wie im vergangenen Bericht beschrieben, wurde im Rahmen eines Projektes die online Analyse von Chromosomen konzipiert. Im Rahmen des Projektes wurde ein neuer Ansatz zur Datenanalyse der komplexen Informationen entwickelt. Abbildung 1.3.1 zeigt das RGB Image eines trypsinierten Chromosoms und dessen Streulichtspektren, die mit Hilfe eines Pushbroom Imagers markierungsfrei aufgenommen wurden.

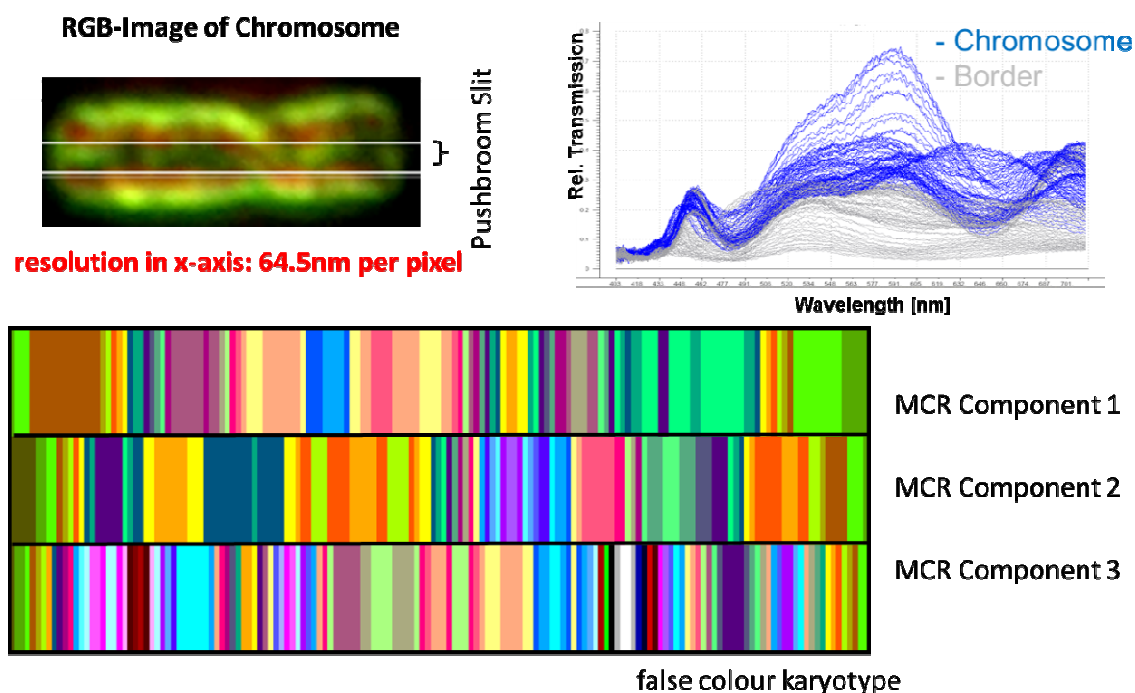


Abb. 1.3.1. oben: RGB Aufnahme eines trypsinierten Chromosoms (links) und dessen Streulichtspektren (rechts), unten: komplexe Datenanalyse der erhaltenen Spektren mit Hilfe der Multivariaten Curve Resolution (MCR) der ersten latenten Variablen.

Die Daten werden mit Hilfe der Multivariate Curve Resolution (MCR) ausgewertet und es entsteht dabei ein Karyogramm ähnlich des Musters, das mit FISH (Fluorescence In Situ Hybridisation) oder mit einer GTG Färbung erzielt wird. Dabei erhält man eine ähnliche Auflösung wie mit der Referenzmethode mit dem Unterschied, dass die Chromosomen markierungsfrei gemessen werden können.

2. Spektrales Imaging bei Krebszellen

Im Rahmen des Projektes wurde eine Konzeption zur schnellen online Analyse von Krebszellen erarbeitet. Grundsätzlich sollte sich diese Methode zur insitu- Charakterisierung von Krebszellen (hier Glioblastomzellen) während der Operation einsetzen lassen. Ausgangspunkt ist dabei ein Pushbroom oder ein Staring Imaging System, das das Gewebe spektral vermisst und mit Hilfe der Multivariaten Datenanalyse die Information verdichtet und dem Operateur visualisiert. Abbildung 1.3.2 zeigt das Ablaufschema, wie dieses Konzept verwirklicht werden kann.

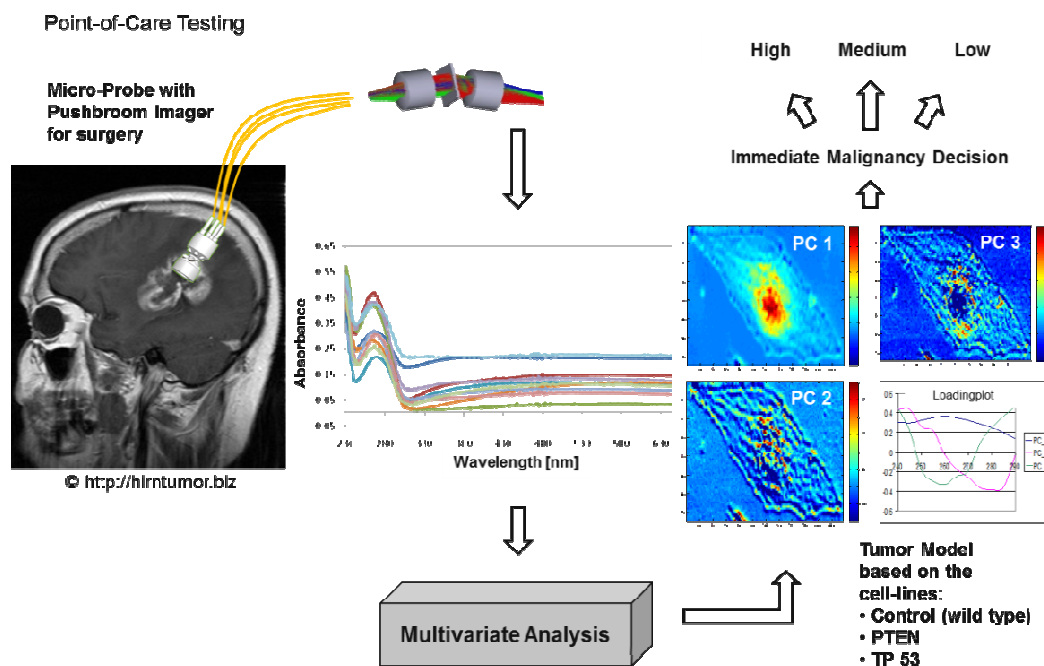


Abb. 1.3.2. Ablaufschema eines Konzepts zur Charakterisierung von Glioblastom Krebszellen während der Operation.

Ausgewählte Beispiele für inline Spektrales Imaging (Technik)

1. Tabletten

Mit Hilfe des inline Pushbroom Imaging Systems wurden Tabletten vermessen, die dann mit der multivariaten Datenanalyse (principal component analysis, PCA) ausgewertet wurden. Das Verfahren soll dazu genutzt werden, um beispielsweise eine Tablette zu identifizieren den jeweiligen Tabletten einen Wirkstoff zuzuordnen. Die Abbildung 1.3.3 zeigt den Aufbau des Systems mit den Tabletten auf dem Förderband und die Zuordnung der Tablettenorte.



Abb. 1.3.3. Anwendung des online Pushbroom Imagings an partikulären Systemen, hier: unterschiedliche Tabletten. links: Messanordnung, rechts: Zuordnung der Tabletten.

Abbildung 1.3.4 zeigt das Ergebnis der multivariaten Datenanalyse mit Hilfe der Falschfarbendarstellung und die Identifizierung der Tabletten.

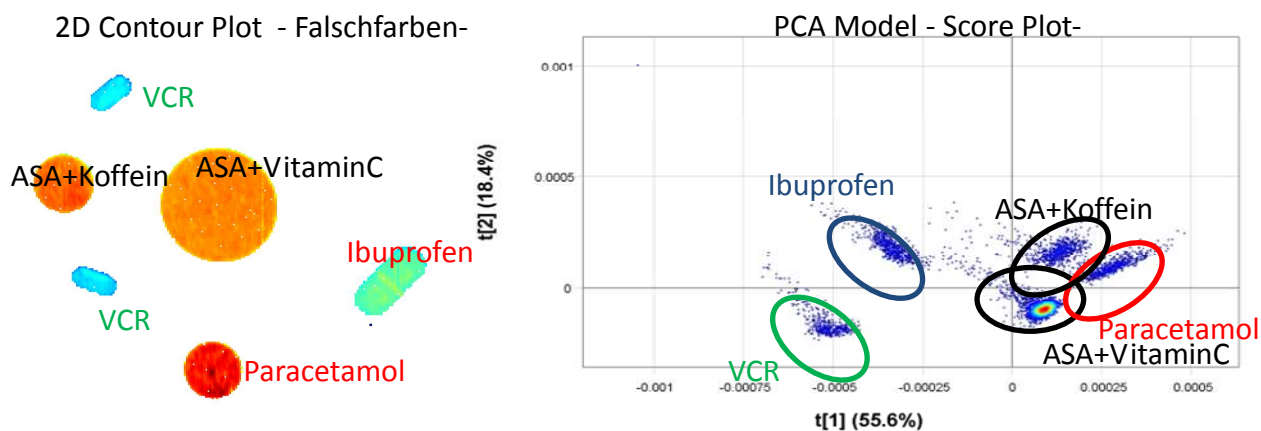
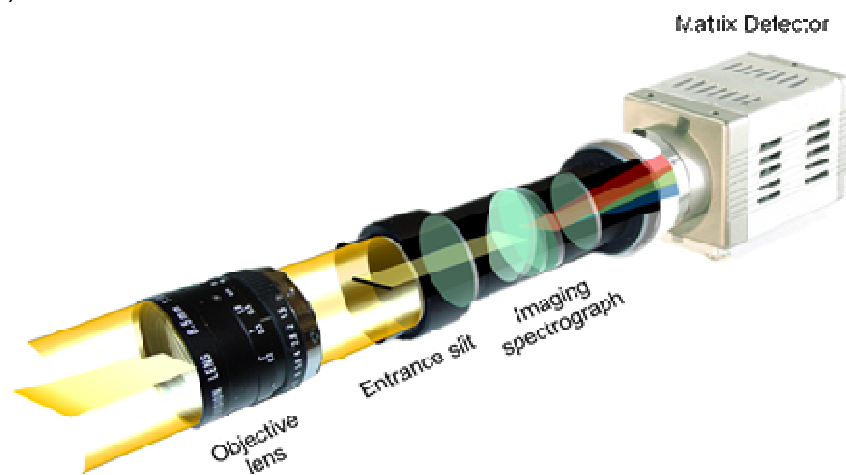


Abb. 1.3.4. Anwendung des online Pushbroom Imagings an partikulären Systemen; dargestellt ist die multivariate Auswertung (PCA) der erhaltenen Messdaten.

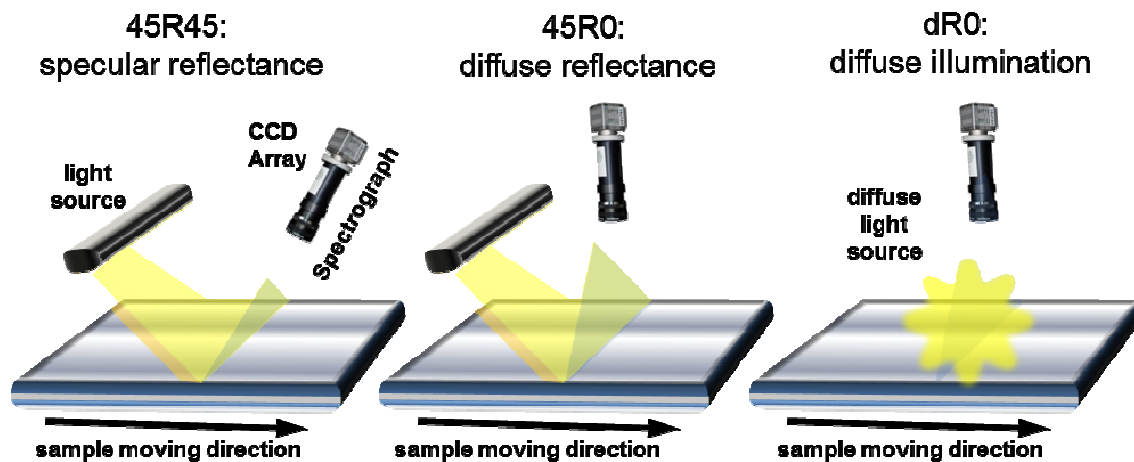
Technische Systeme

Pushbroom Imaging Systeme lassen sich in vielfältiger Weise auch im technischen Bereich einsetzen. Abbildung 5a zeigt den Aufbau eines Pushbroom Imagers mit Spektrograph und Kamerasystem. Je nach Anwendungsfall können unterschiedliche geometrische Anordnungen für die inline Messung gewählt werden (5b). Will man beispielsweise die spektrale Interferenz von dünnen Schichten messen und daraus die Schichtdicke bestimmen, dann wählt man eine spekulare Beleuchtung (z.B. in 45°) und im Spiegelwinkel die Detektion (z.B. 45°). Diese Anordnung wird als 45R45 bezeichnet. Für streuende Systeme wie z.B. Holz kann man im 45° Winkel beleuchten, man misst aber bei 0° , um die die spekulare Reflexion auszublenden (45R0). Bei gekrümmten spiegelnden Oberflächen versagt auch diese Beleuchtung, weil je nach Geometrie unterschiedliche Teile von spekulärer und diffuser Reflexion detektiert werden. Hier bietet sich an, diffus zu beleuchten und wenn möglich im 0° Winkel, oder besser auch diffus zu detektieren.

a)



b)



c)

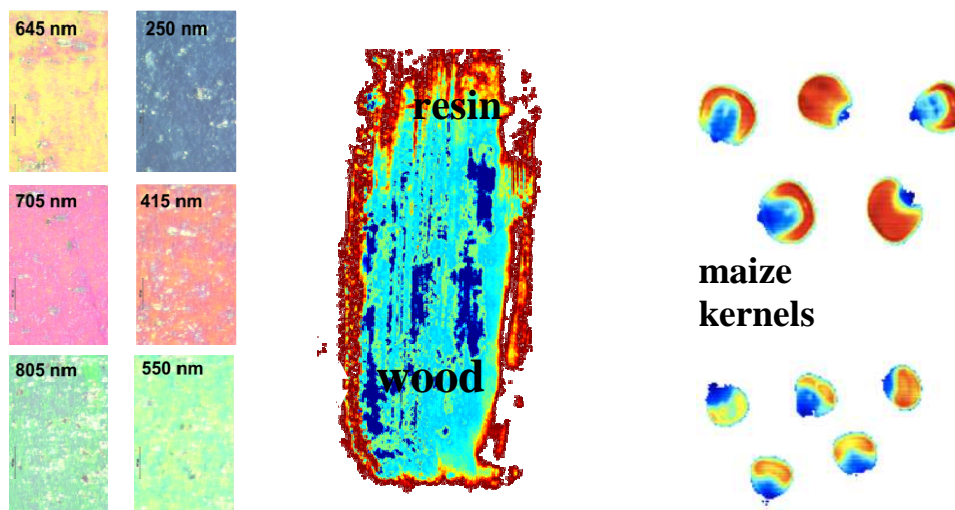


Abb. 1.3.5. a) Aufbau eines Pushbroom Imager mit Spektrograph und Kamera, b) unterschiedliche Anordnungen für die Objektbeleuchtung und Detektion, c) links: Verteilung der Oxidschicht mit unterschiedlichen Schichtdicken auf Aluminium, Mitte: Verteilung eines Harzes auf einem Holzhackschnitzel, rechts: unterschiedliche Maissorten

Abbildung 1.3.5c zeigt einige Ergebnisse wie z.B. die örtliche Verteilung der Schichtdicke auf einer Oxidschicht auf Aluminium, die Verteilung eines Klebstoffes auf Holz und die Charakterisierung von harten und weichen Maiskörnern.

Teilprojekt 2.1: Miniatur-Lasersensor

(Koordination: HS Konstanz, Aalen; Projektpartner: HS Furtwangen, HS Aalen)

Die Haupt-Aktivitäten der HTWG Konstanz im Jahr 2012 konzentrierten sich auf die folgenden Punkte und wurden im Rahmen einer Doktorarbeit bearbeitet:

1. Bestimmung thermischer Ausdehnungskoeffizienten (CTE) von einer hochstabilen Clearceram Probe
2. Design und Konstruktion eines Messaufbaus zur CTE Bestimmung komplexer Flugmodell-naher Strukturen für die Raumfahrt
3. Erste Messung des thermischen Ausdehnungskoeffizienten an einer CFRP/Zerodur Struktur

1. Bestimmung thermischer Ausdehnungskoeffizienten (CTE) von einer hochstabilen Clearceram Probe

Mit dem innerhalb des ZAFH Projekts entwickelten Messaufbaus zur Bestimmung von thermischen Ausdehnungskoeffizienten (coefficient of thermal expansion: CTE) wurde 2012 eine Probe aus Clearceram untersucht. Bereits 2011 wurde eine Zerodur Probe zur Validierung des Messaufbaus vermessen. Mit dem Vergleich beider Materialien konnten wir nachweisen, dass die kostengünstigere Glaskeramik Clearceram der Firma Ohara ähnliche thermische Ausdehnungskoeffizienten besitzt wie Zerodur. Für weitere Aufbauten auf Glaskeramik stehen uns jetzt zwei Materialien zur Auswahl.

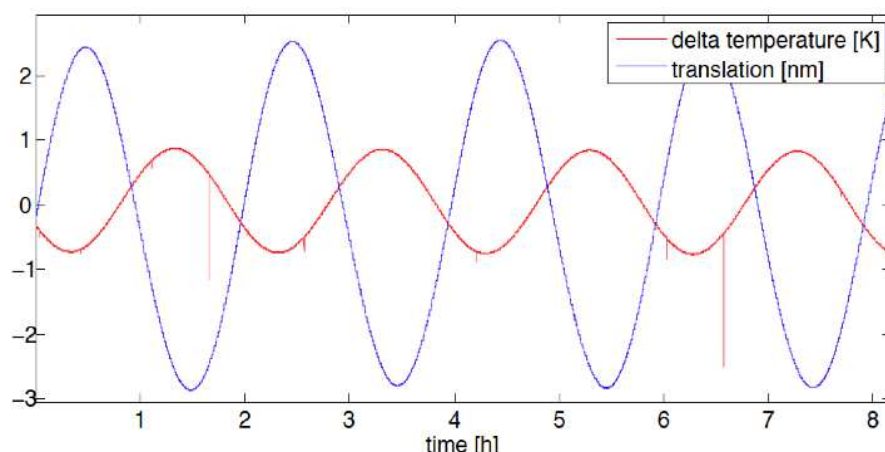


Abb. 2.1.1. CTE Messung einer Clearceram Probe über 8 Stunden, dabei wurde die Abstandsänderung (Translation, blau, in nm), und der Temperaturverlauf (rot, in $K+302K(\sim 29^\circ\text{C})$) an der Probe gemessen. Der dadurch bestimmte CTE liegt bei $-3,2 \cdot 10^{-8} \text{ K}^{-1}$.

Bei der Messung (**Abb. 2.1.1**) der Clearceram Probe wurde eine Temperaturschwankung (ΔT) an der Probe von $(29 \pm 0.8)^\circ\text{C}$ gemessen. Die resultierende Ausdehnung (Δl) von 5,13nm wurde mit unserem Heterodyn-Interferometer, mit welchem bereits pm-Sensitivität demonstriert wurde, gemessen. Die Probenlänge ($l = 104\text{mm}$) wurde mit einem Messschieber bestimmt. Der daraus berechnete CTE ($\text{CTE} = \Delta l / l \cdot 1 / \Delta T$) ergibt einen Wert von $-3,2 \cdot 10^{-8} \text{ K}^{-1}$. Der von Ohara angegebene CTE Wert liegt bei $0 \pm 2 \cdot 10^{-8} \text{ K}^{-1}$.

2. Design und Konstruktion eines Messaufbaus zur CTE Bestimmung komplexer Flugmodell-naher Strukturen für die Raumfahrt

Hochdimensional stabile Strukturen sind Voraussetzung für höchstauflösende Messsysteme. Hochstabile Glaskeramiken haben eine hohe Masse und sind für die Raumfahrt nur bedingt

geeignet. Verbundwerkstoffe wie CFRP (Carbon Fibre Reinforced Plastics) können mit ähnlicher dimensionaler Stabilität in einer bestimmten Richtung der Struktur gefertigt werden und besitzen den Vorteil einer geringeren Masse. Um die geringe Masse und die hohe dimensionale Stabilität zu kombinieren, werden komplexe Strukturen aus CFRP und Zerodur zusammen gebracht um bei hoher Stabilität eine Gewichtsersparnis von ca. 70% zu erreichen.

Um die in Kooperation entwickelten Flugmodell nahen Strukturen wie das CFRP/Zerodur Sandwich Breadboard als gewichtssparende Alternative für die Payload der Raumfahrtmission LISA (Laser Interferometer Space Antenna) oder das TMA (Triple Mirror Assembly), ein CFRP Abstandshalter für einen Retroreflektor aus Zerodur für die Erdbeobachtungsmission GRACE-FO auf dimensionale Stabilität testen zu können musste ein neuer Messaufbau geplant und aufgebaut werden. Dabei war die Herausforderung bei Proben mit einer Länge von bis zu 50cm die Temperatur um bis zu 10°C zu variieren und dabei eine Ausdehnung von wenigen Nanometern zu messen. Außerdem musste eine sehr stabile Verbindung zwischen Testobjekt und Messsystem gebaut werden.

Für diese Anforderungen wurden eine Heizung und Haltesysteme designed und deren Stabilität simuliert. Als Grundplatte wurde ein CFRP Breadboard ausgewählt, welches in der Simulation optimale thermische und mechanische Stabilität zeigte. Die Heizung wurde aus 2 ineinander gebaute Kästen realisiert. Zwischen dem äußeren Aluminiumkasten und dem inneren Kupferkasten sorgen Peltierelemente für die Temperaturänderung. Durch das Vakuum wird die Probe nur radiativ geheizt oder gekühlt. Die Heizung ist vom Interferometer mit 7 Lagen MLI (Multi Insulation) Folie isoliert um die Temperatur des Messsystems beim Heizvorgang nicht zu beeinflussen und um mögliche Temperaturabhängigkeiten des Messsystems vernachlässigen zu können. Als Auflage für die Probe und für das Interferometer wurden aus einer Glaskeramik Dreipunkthalterungen gefertigt, um eine stabile Lagerung zu gewährleisten.

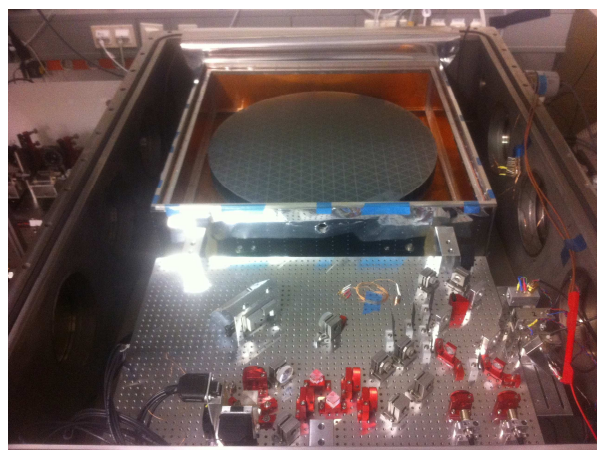
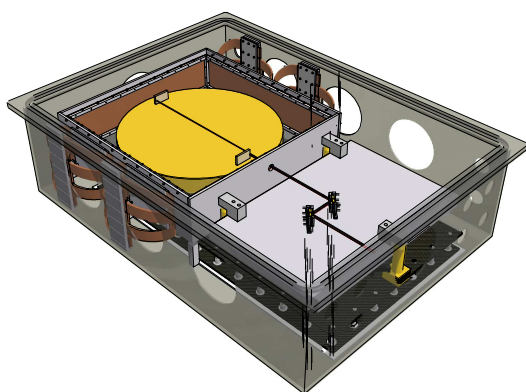


Abb. 2.1.2. CAD Zeichnung (links) und Foto (rechts) der Vakuumkammer mit integrierter Thermalkammer mit geöffnetem Deckel. Die Probe, das CFRP/Zerodur Sandwich Breadboard und das Interferometer liegen auf stabilen Clearceram Füßen und steht auf einer sehr stabilen Grundplatte.

3. Erste Messung des thermischen Ausdehnungskoeffizienten an einem CFRP/Zerodur Sandwich Breadboard

Nach dem Aufbau der Messeinrichtung wurde eine Messung am CFRP/Zerodur Sandwich Breadboard durchgeführt. Dafür musste das Messobjekt vorbereitet werden indem Temperatursensoren an verschiedenen Stellen angebracht und Spiegel mittels adhesive bonding auf das Breadboard geklebt wurden.

In der hier gezeigten Messung (**Abb. 2.1.3**) wurde die Temperatur der Probe um ca. 4°C um 29°C sinusförmig variiert und dabei die Ausdehnung von 22,3 nm mit unserem hochpräzisen Interferometer gemessen. Die Messspiegel auf dem Messobjekt sind 30cm von einander entfernt und bilden die tatsächliche gemessene Länge der Struktur. Daraus lässt sich ein Temperaturkoeffizient (CTE) von $-1.74 \cdot 10^{-8} \text{ K}^{-1}$ berechnen.

Die Auswertung der Messergebnisse ist noch nicht abgeschlossen. Einige Eigenschaften der Messergebnisse, wie z.B. die Phasenverschiebung muss noch detailliert analysiert werden.

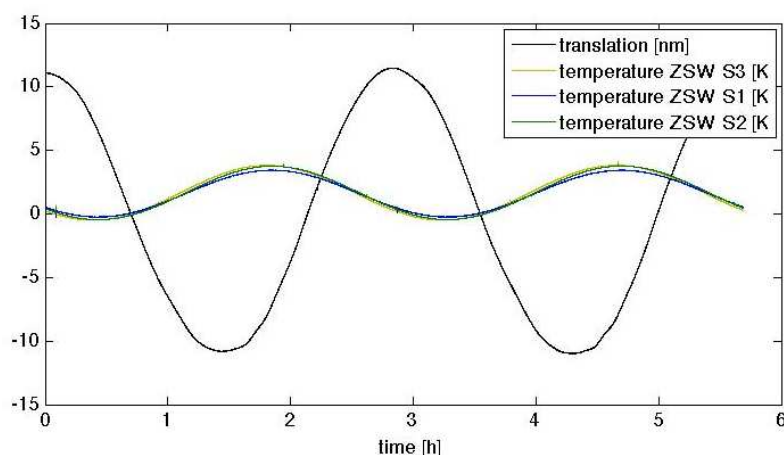


Abb. 2.1.3. Messung der dimensional Stabilität des CFRP/Zerodur Breadboards. Die Ausdehnung der Probe (translation, schwarz, in nm) und die Temperatur (gelb, blau und grün, in $K+302K$ (~29°C)) an drei verschiedenen Stellen auf der Probe wurden simultan gemessen.

Teilprojekt 2.2: Faseroptischer Gassensor

(Koordination: HS Furtwangen; Projektpartner: HS Konstanz, HS Offenburg)

Arbeitsschwerpunkte im Berichtszeitraum 2012 waren die Fertigstellung des CO₂-Sensors als Machbarkeitsnachweis einer verallgemeinerten kapillarfaserbasierten Gas-Sensorik, die Weiterentwicklung des Mikrokanal-Wellenleiters mit der Entwicklung eigener Silberschichten sowie die Fertigstellung des Datenerfassungs- und Analyseprogramms unter MATLAB.

1. CO₂-Sensors als Verallgemeinerung des kapillarfaserbasierten Sensors

Die Vorteile der Verwendung von silberbeschichteten Kapillarfaser sind:

- Schneller Gaswechsel wegen des großen Innendurchmessers von 530µm;
- Breitbandige Verwendungsmöglichkeit (O₂: 760nm, CO₂: 2000nm);
- Geringes spektrales Rauschen;

Alle drei Vorteile bestätigten sich bei der Realisierung des CO₂-Sensors. Abb. 2.2.1 zeigt die gemessenen Absorptionskurven bei unterschiedlichen CO₂-Konzentrationen. Insbesondere liegt der Wert für die maximal zulässige Arbeitsplatzkonzentration (MAK-Wert) von 0,5% im Messbereich des Sensors. Messungen der Außenluftkonzentration (0,034%) sind bei diesem Sensor wegen der dafür zu geringen Absorptionslänge von 2m nicht möglich.

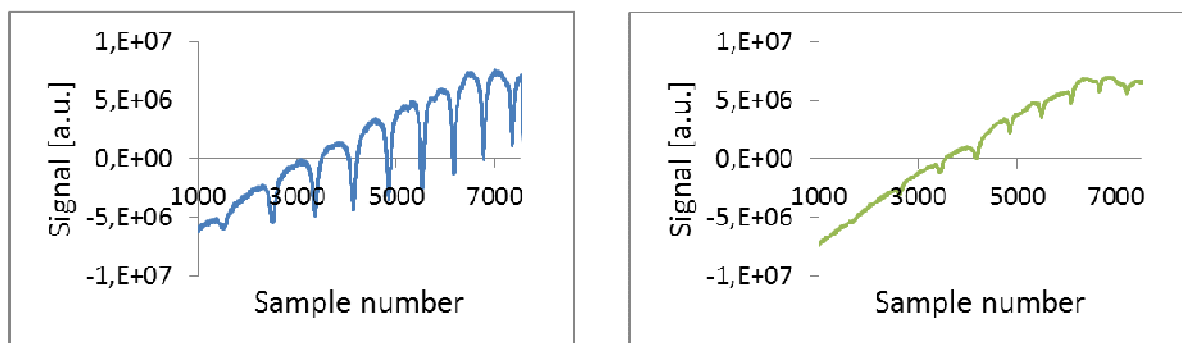


Abb. 2.2.1. CO_2 -Absorptionskurven der Atemluft des Menschen bei einer CO_2 -Konzentration von 4,3% (links) und 0,45% (rechts).

2. Weiterentwicklung des Mikrokanal-Wellenleiters

Eine weitere, wesentliche Miniaturisierung des Sensors ist mit Hilfe der Mikrosystemtechnik möglich. Der Mikrokanal-Wellenleiter besteht aus einem in einen Glaswafer strukturierten Mikrokanal, der mit einer reflektierenden Metallschicht beschichtet wird. Abgedeckt wird der strukturierte Wafer mit einem ebenfalls metallbeschichteten flachen Glaswafer. Auf diese Weise lässt sich der Sensor mit einer vergleichsweise preiswerten Technologie wesentlich kompakter aufbauen. Die bisherigen Ergebnisse mit einer Doppelspirale für den ein- und auslaufenden Laserstrahl mit einer Goldbeschichtung zeigten einerseits die prinzipielle Lichtführung, aber auch eine hohe Lichtleistungsdämpfung. Ursachen hierfür sind die Lichtwegumkehrung und dem gegenüber einer Silberbeschichtung geringeren Reflexionsvermögen von Gold. Aus diesem Grund wurde ein neues Design entworfen (Abb.2.2.2) sowie erste Versuche mit einer Silberbeschichtung durchgeführt. In der neuen Mikrokanalwellenleiterstruktur wird das Licht über eine Öffnung im Deckelwafer ausgekoppelt. Wegen der Schwierigkeiten bei der Herstellung eigener Silberbeschichtungen sollen die Wafer zukünftig mit einer Silberbeschichtung und einer SiO_2 -Passivierungsschicht beschichtet werden. Diese Beschichtung soll von S1Optics GmbH durchgeführt werden. Mit der SiO_2 -Passivierungsschicht kann die Oxidation der Silberschicht verhindert werden.

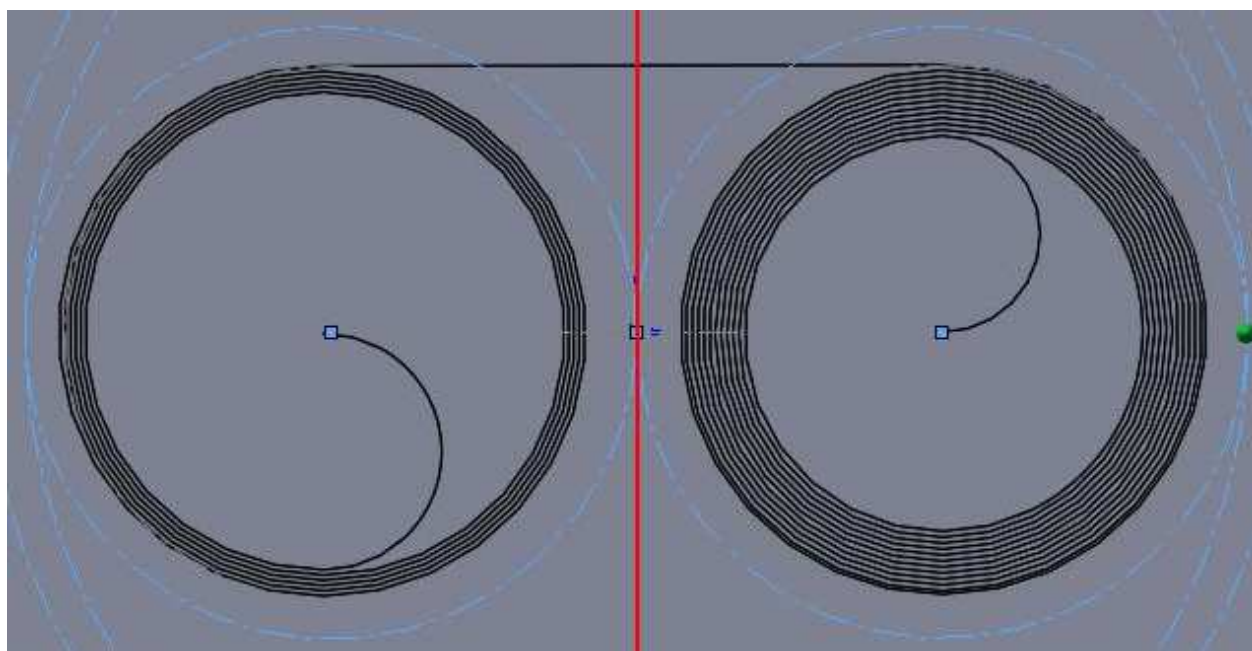


Abb. 2.2.2. Redesign des Mikrokanalwellenleiters ohne Lichtwegumkehrung für zwei unterschiedliche Absorptionslängen.

3. Mess- und Auswertalgorithmus unter MATLAB

Das über die gesamte Projektlaufzeit entwickelte Mess- und Auswertprogramm wurde ergänzt und fertiggestellt. Messgeräteseitig können ein Laserdiodentreiber (Thorlabs ITC510), ein Funktionsgenerator (Agilent 33210A) sowie unterschiedliche Datenerfassungsgeräte (LabJack UE9, Cleverscope CS320A und Digitaloszilloskop Agilent 54622A) angesprochen werden. Zudem können nun alle Moleküle der HITRAN-Datenbank [1] zur Konzentrationsbestimmung eingebunden werden. Der eigentliche Auswertalgorithmus [2] wird im Folgenden beschrieben. Der Methode liegt zugrunde, dass sich eine typische Messkurve (Abb.2.2.1) aus einer Basiskurve $B(\nu)$ und den

Absorptionslinien zu $y(\nu) = B(\nu)e^{\sum L_n(\nu)}$ zusammensetzt, mit den Cauchy-Lorentz-Absorptionsprofilen $L_n(\nu) = \frac{-\alpha_n}{1 + \left(\frac{\nu - \nu_{0,n}}{\gamma_n}\right)^2}$ [1]. Die gesuchte Konzentration ist in den

Parametern der Lorentzlinien enthalten. Für die Auswertung des gemessenen Signals, die in zwei Schritten erfolgt, wird die 1. Ableitung der Messkurve verwendet (vgl. Abb. 2.2.3). Im 1. Schritt werden die Absorptionslinien identifiziert und die Startwerte gewonnen, die für die Kurvenanpassung im 2. Schritt benötigt werden.

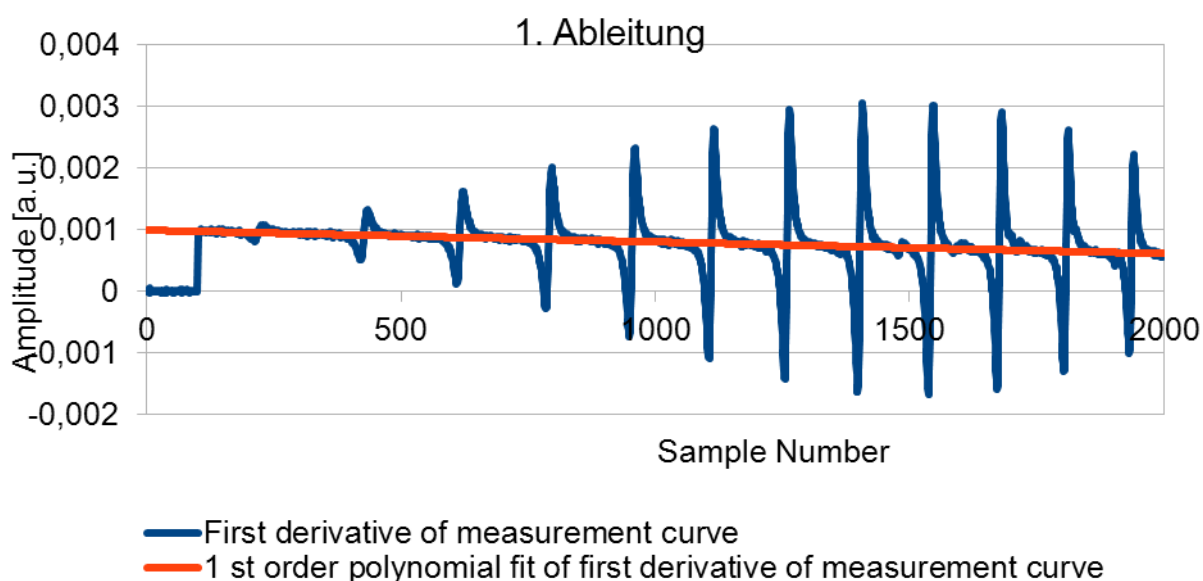


Abb. 2.2.3. Erste Ableitung einer Messkurve.

Die Basiskurve wird zunächst mit einem Polynom 2. Ordnung genähert, $B(\nu) = a\nu^2 + b\nu + c$. Zwischen den Absorptionslinien entspricht die Ableitung der Messkurve der Ableitung der Basiskurve, also einem linearen Polynom (rote Kurve in Abb. 2.2.3). Für die Ableitungen der

Lorentzlinien $\frac{\partial \sum L}{\partial \nu} = \frac{\partial y / \partial \nu}{y} - \frac{\partial B / \partial \nu}{B}$ wird die Basiskurve $B(\nu)$ benötigt, die man durch Integration des oben erhaltenen linearen Polynoms bekommen kann. Da diese Integration jedoch zu großen numerischen Fehlern führen kann, wird für den besonders interessierenden Bereich niedriger Gaskonzentrationen die Basiskurve $B(\nu)$ im Nenner durch die Messkurve $y(\nu)$ genähert. Die Identifikation der Absorptionslinien aus dem Messrauschen erfolgt über zwei Kriterien: Zum einen müssen die Extremwerte ein bestimmten Schwellwert überschreiten und zum anderen müssen wegen der Symmetrie der Cauchy-Lorentz-Linien die absoluten Werte der aufeinanderfolgenden Minima und Maxima etwa gleich sein.

Im zweiten Schritt werden die Parameter der Lorentz-Profile und damit die gewünschte Gaskonzentration durch eine Kurvenanpassung [3] der Ableitung der Lorentzlinien gewonnen.

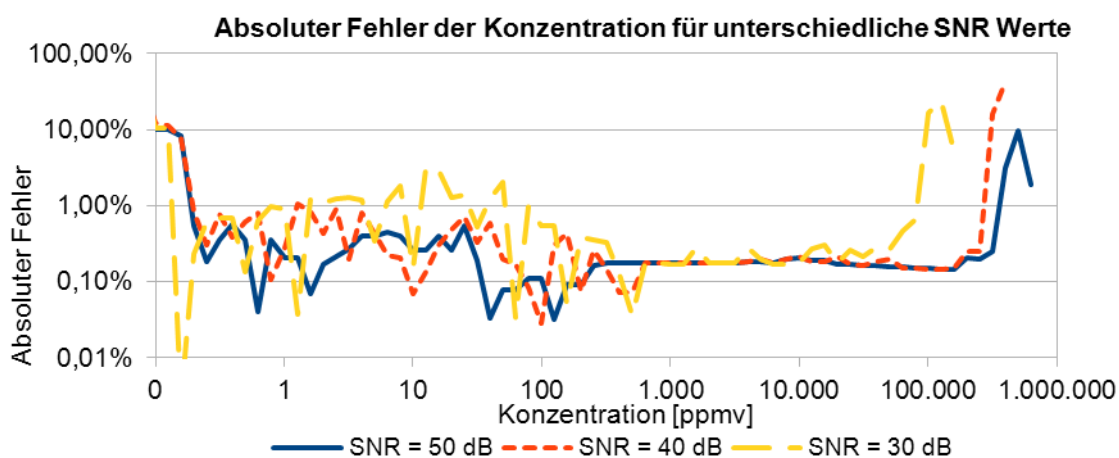


Abb. 2.2.4. Genauigkeit des Auswertalgorithmus

Da sich gezeigt hat, dass es häufig Abweichungen der gesamten Basiskurve von einem Polynom 2. Ordnung gibt, was zu Fehlern bei der Konzentrationsbestimmung führt, wird hierbei nur vorausgesetzt, dass sich die Basiskurve in der direkten Umgebung einer Absorptionslinie durch ein Polynom 2. Ordnung nähern lässt.

Die Genauigkeit des Verfahrens wurde systematisch mit simulierten Messkurven über einen großen Konzentrationsbereich für verschiedene Signal-Rauschverhältnisse untersucht (Abb. 2.2.4). Über große Konzentrationsbereiche beträgt der absolute Fehler weniger als 1%. Nur bei Konzentrationen geringer als 1ppmv steigt der absolute Fehler auf bis zu 10%. Ebenso im Bereich hoher Konzentrationen über 50000ppmv, d.h. in einem Konzentrationsbereich, für den die o.g. Näherungen ihre Gültigkeit verlieren.

Zusammenfassung und Ausblick

Der Aufbau eines hohlfaserbasierten Prototyps für einen CO₂-Gassensor wurde durchgeführt, womit der Nachweis erbracht ist, dass Hohlfasern für die Detektion von Gasen, deren Absorption im Wellenlängenbereich zwischen 700nm und 2000nm liegt, geeignet sind. Ein Mikrokanal-Wellenleiter mit neuer optimierter Struktur wird weiter entwickelt. Das Mess- und Auswertprogramm wurde fertiggestellt und qualifiziert. Abschließende Arbeiten beschränken sich auf den Aufbau des Mikrokanal-Wellenleiters.

Literatur

- [1] Rothman, L.S. et al., „The HITRAN 2004 molecular spectroscopic database“, Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer 96, 139-204 (2005).
- [2] A. Rodrigues, V. Lange, D. Kühlke, „ Algorithm for Concentration Analysis with Laser Absorption Spectroscopy “, SPIE Optical System Design, Barcelona 2012, Proc. of SPIE Vol. 8550 (2012).
- [3] M.I.A. Louraki, “Levmar: Levenberg-Marquardt nonlinear least squares algorithms in C/C++”, <http://www.ics.forth.gr/~lourakis/levmar/>, accessed on 2nd July, 2010.

Teilprojekt 2.3: Fabry-Pérot-Biosensor

(Koordination: HS Furtwangen; Projektpartner: HS Aalen, ILM Ulm)

Gesamtziel: Entwicklung und Validierung eines miniaturisierten photonischen Biosensors

Im Projekt „Fabry-Perot-Biosensor“ geht es um die Entwicklung und Validierung eines miniaturisierten photonischen Biosensors, bei dem quasi-dielektrische Schichten aus porösem Silizium gebildet werden, die neben der optischen Funktion (Interferenz) auch die Immobilisierung von in Fluiden gelösten bioaktiven Substanzen in Desorptionsschichten bereitstellen.

Projektziel 1: Einstellung der Peakform und Peakbreite

Die Peakform und -breite des Reflexionsgrades eines optischen Filters kann durch die Herstellungsbedingungen von porösen Multischichten während der Anodisierung kontrolliert gesteuert werden. In den im Projektjahr 2012 durchgeführten Untersuchungen wurden die Peakform und -breite des Reflexionsgrades durch den Kontrast, d.h. durch das Brechungsindexverhältnis der nieder- und hochreflektierenden Schichten (n_l/n_h) untersucht. Die gemessenen Spektren der unterschiedlichen porösen optischen Multischichten sind in der Abb. 2.3.1 mit dem Kontrast von 1,39 (Abb. 2.3.1.a) und von 1,52 (Abb. 2.3.1.b) gezeigt. Je höher der Kontrast ist, desto größer wird der Reflexionsgrad und ausgeprägter die Peakform. Die Experimente haben gezeigt, dass bei einem Kontrast von über 1,5 nahezu 100% Reflexionsgrad erreichbar ist.

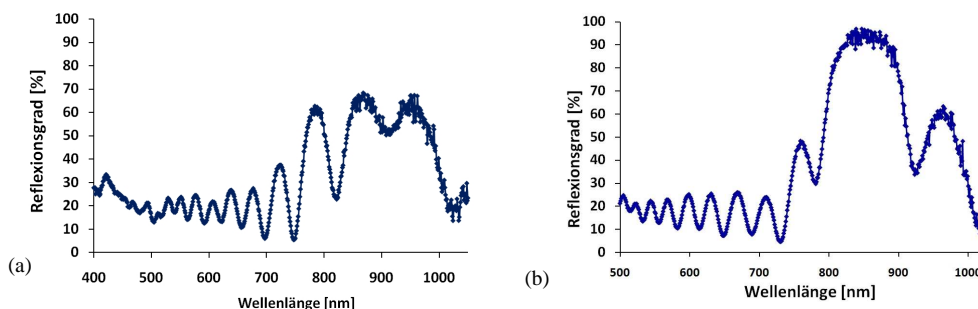


Abb. 2.3.1 Einstellung der Peakform und -breite des Reflexionsgrades durch Herstellung von unterschiedlichen $\lambda/4$ optische Multischichten mit einem Kontrast von $n_l/n_h=1,39$ (a) und $n_l/n_h=1,52$ (b). Die Schichtdicken und Brechungsindizes der jeweiligen Schichten wurden durch die Herstellungsbedingungen (Anodisierungszeit und Stromdichte) der porösen Multischichten eingestellt.

Projektziel 2: Einstellung der Porengröße

Für eine effektive Anwendung von porösem Silizium als Biosensor ist es erforderlich, dass die Porengröße der sensorischen optischen Schicht an die Stoffgröße der biologischen Substanzen angepasst wird. Die Porengröße der optischen Schicht wird hauptsächlich durch die Dotierungskonzentration des Halbleitersubstrats, die Anodisierungsstromdichte und Zusammensetzung des Elektrolyten gesteuert. Unterschiedliche poröse Einzelschichten wurden elektrochemisch geätzt und die Porengröße bzw. die spezifische innere Oberfläche durch volumetrische Bestimmung der Adsorption und Desorption von Stickstoff bei 77K ausgewertet. Die Ergebnisse der Porenmessungen zeigen, dass die Porengröße durch die Anwendung von niedrigkonzentrierten wässrigen HF Elektrolyt effektiv vergrößert werden kann (Abb. 2.3.2). Die durch die Anlagerung von Biomaterialien hervorgerufene Peakverschiebung als Funktion der Porengröße der optischen Multischicht wurde auch bestimmt.

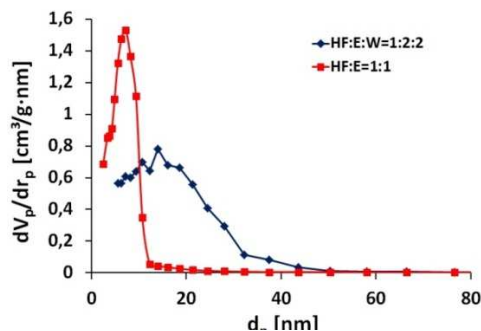


Abb. 2.3.2. Änderung der Porengrößenverteilung als Funktion der Elektrolytzusammensetzung.

Projektziel 3: Validierung der optischen Multischichten

Die hergestellten optischen Multischichten als Funktion der Schichtzahl wurden am ILM Ulm mit unterschiedlichen Analyten validiert. In Abb. 2.3.3 sind die Peakverschiebungen der realisierten optischen Multischichten für organische Lösungen (Abb. 2.3.3 a) und Glukose (Abb. 2.3.3 b) als Funktion der Konzentration gezeigt.

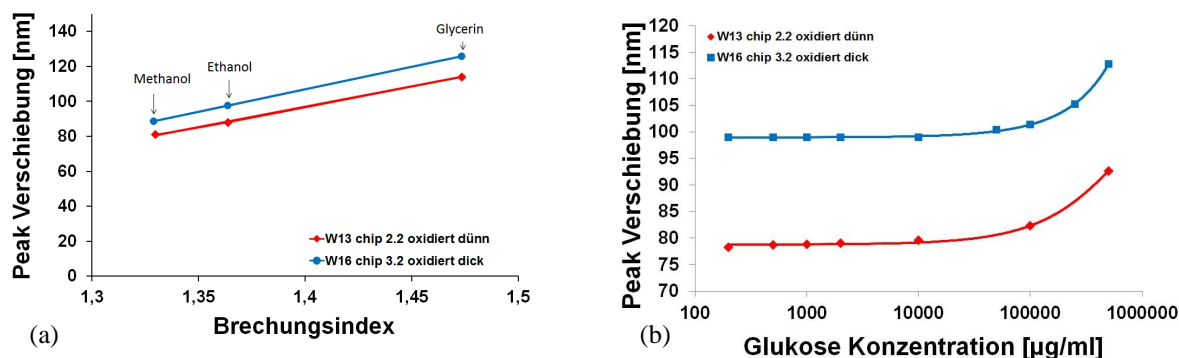


Abb. 2.3.3. Peakverschiebung der oberflächenstabilisierten optischen Multischichten als Funktion der Schichtzahl für organische Lösungen (a) und Glukose (b).

Projektziel 4: Transport in porösen Multischichten

Das Antwortverhalten und die Dynamik des optischen Sensors werden durch Transportprozesse in nanostrukturierten porösen Multischichten sehr stark beeinflusst. Die Transportzeiten und Transportraten wurden in nanostrukturierten porösen Schichten für unterschiedliche gasförmige als auch für flüssige Medien untersucht. Mit Hilfe eines Transportmodells wurden die unterschiedlichen Diffusionsmechanismen in porösen Medien beschrieben. Bei den experimentellen Untersuchungen wurden Durchlässigkeit und Transportrate als Funktion der Molmasse und Analytkonzentration sowohl für native als auch für oberflächenpassivierte poröse Schichten gemessen. Ein Beispiel für das Antwortverhalten ist in Abb. 2.3.4 für Glukose mit 1% und 50% Konzentration in einer 6,5µm dicken porösen Multischicht gezeigt. In diesem Fall wurde eine sehr hohe Transportrate von $v \leq 6000 \mu\text{g}/(\text{ml}\cdot\text{sec})$ erreicht.

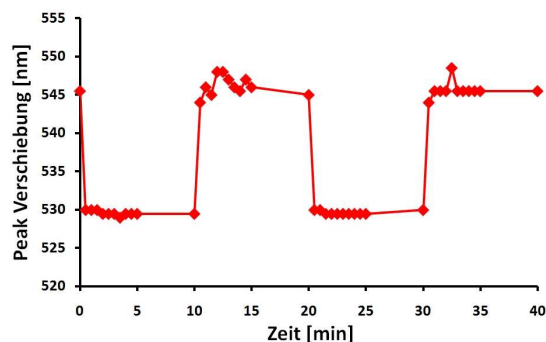


Abb. 2.3.4. Wellenlängenverschiebung der oxidierten porösen Multischicht für Glukose mit 1% und 50% als Funktion der Zeit.

Projektziel 5: Das optische Gesamtsystem

Im Rahmen des Projekts wurde ein mikroprozessorgesteuertes optisches Messsystem entwickelt, hergestellt und getestet (Abb. 2.3.5 a). Das Messsystem besteht aus einem Handmessgerät mit Folientastatur und dem Messkopf (Abb. 2.3.5 b). Die optische Multischicht befindet sich in einer geschlossenen Messkammer. Im Messkopf sind zusätzlich die Lichtquellen, der Detektor und ein analoger Vorverstärker integriert. Das Messgerät wird über eine Folientastatur gesteuert und die gemessenen prozentualen Änderungen des ausgewerteten Messsignals auf einem Display dargestellt.

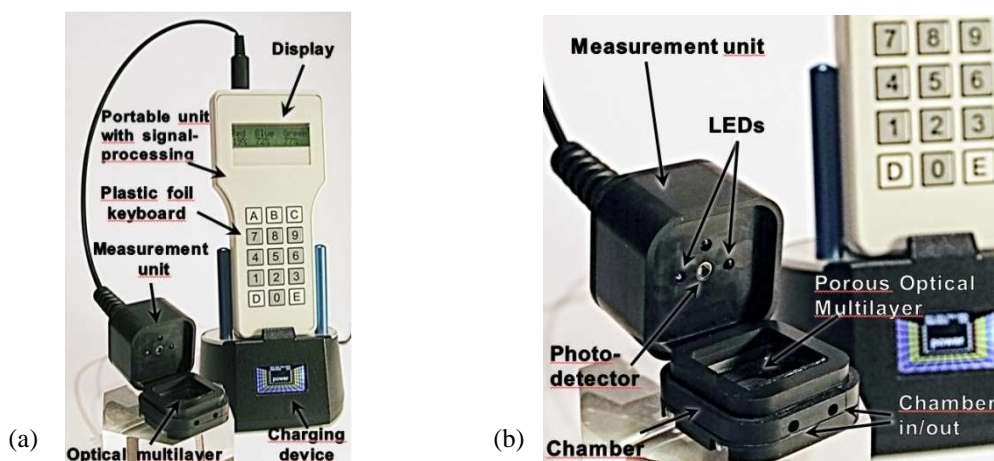


Abb. 2.3.5. Das optische Gesamtsystem (a) und der Messkopfaufbau (b)

Die Projektergebnisse wurden in Funktion auf der Hannover Messe 2012 in Hannover vorgestellt (Abb. 2.3.6).

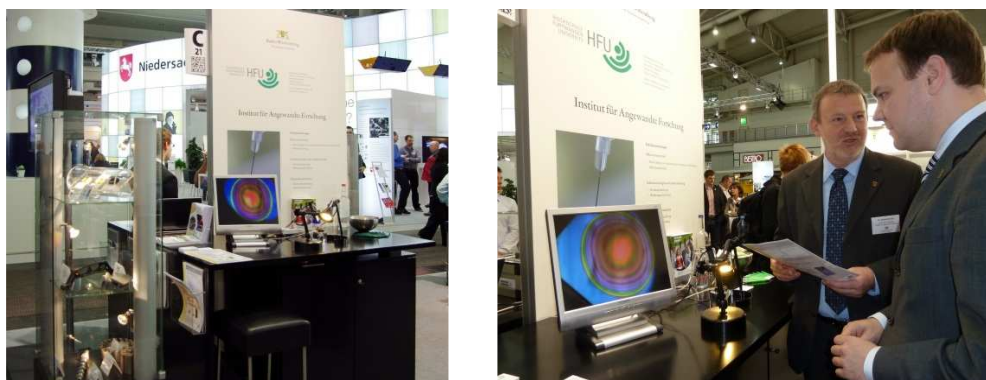


Abb. 2.3.6. Vorstellung des Projekts und Diskussion mit dem Staatssekretär Ingo Rust MdL auf der Hannover Messe 2012.

Zusammenfassung und Ausblick:

Die Forschungsergebnisse im Projektjahr 2012 haben gezeigt, dass die Peakform und Peakbreite der optischen Multischichten durch den Kontrast (n_i/n_h) steuerbar sind und an die Systemanforderungen angepasst werden können. Die Anpassung der Porengröße an die Stoffgröße der biologischen Substanzen wurde im Projektjahr 2012 durchgeführt um die Anwendungsmöglichkeiten des entwickelten photonischen Systems zu erweitern. Der optimale Arbeitspunkt für biosensorische Anwendungen wurde bestimmt. Weitere Validierungen der optischen Multischichten als Funktion der Schichtzahl wurden am ILM Ulm durchgeführt. Ein mikroprozessorgesteuertes Handmessgerät wurde entwickelt. Folgeanträge wurden gestellt und in einem genehmigten Projekt werden weitere wissenschaftliche Forschungsarbeiten von optischen Multischichten durchgeführt.

Teilprojekt 2.4: 4D – Fertigungsmesstechnik

(Koordination: HS Aalen; Projektpartner: HS Furtwangen, HS Konstanz)

Im Rahmen des ZAFH – PHOTONⁿ hat sich das Zentrum für Optische Technologien an der Hochschule Aalen in den vergangenen 4 Jahren – 2008 bis 2012 – damit beschäftigt, ein Messverfahren welches ursprünglich aus der Medizin stammt, zu adaptieren und für den Bereich der Optikproduktion nutzbar zu machen. Hierbei wurde das Augenmerk auf die Vermessung von Tiefenschädigungen gelegt, welche beim Herstellungsprozess durch den Schleifvorgang hervorgerufen werden. Diese Tiefenschädigungen müssen durch weitere Prozessschritte entfernt werden, da diese die Qualität der Optik maßgeblich verschlechtern. Hierfür wurden in den letzten 4 Jahren 2 Verfahren entwickelt: Das Time Domain OCT und das Frequency Domain OCT (Optical Coherence Tomography). Beide Methoden basieren auf der Technologie des Vermessens von Objekten mit Hilfe von Weißlichtquellen, besitzen jedoch grundsätzlich verschiedene Arten der Detektion der gewonnenen Messdaten sowie der Auswertung.

1. Optimierung der Software des Frequency Domain OCT

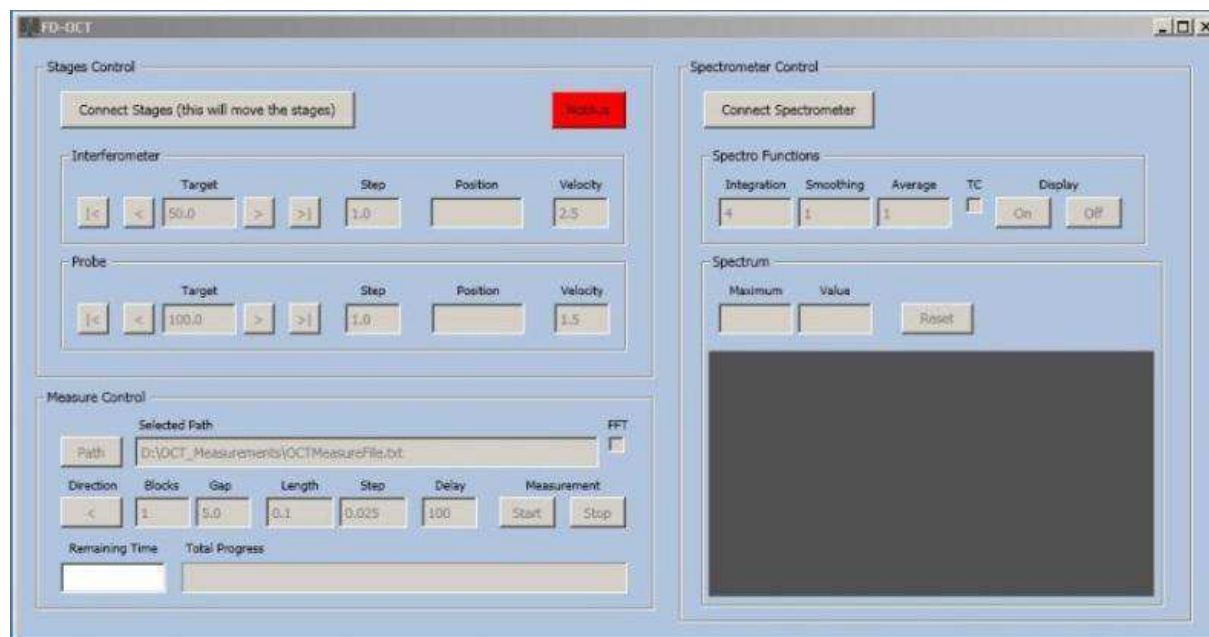


Abb. 2.4.1. Software am Frequency Domain OCT zur Steuerung der Parameter sowie einer Messung.

Zu Beginn des Jahres 2012 wurde damit begonnen, die Software des Frequency Domain OCT zu optimieren. Abbildung 2.4.1 stellt die Bedienoberfläche des Frequency Domain OCT dar. Diese Oberfläche erlaubt die Steuerung jeder einzelnen im Messaufbau angeschlossenen Komponente sowie das Einstellen der für eine erfolgreiche Messung notwendigen Faktoren. Bei der Optimierung wurde auf die Reduzierung der Messdauer geachtet. Diese wird hauptsächlich durch die genaue Positionierung der Achsen beeinflusst.

2. Vergleichsmessungen

Bei den Vergleichsmessungen wurden weitere, bisher nicht untersuchte, Optiken vermessen. Hierbei wurde darauf geachtet, Gläser mit unterschiedlichen optischen Eigenschaften zu vermessen, um einen weiten Überblick geben zu können. Die Bearbeitung, der Schleifprozess, erfolgte hierbei bei allen Gläsern gleich.

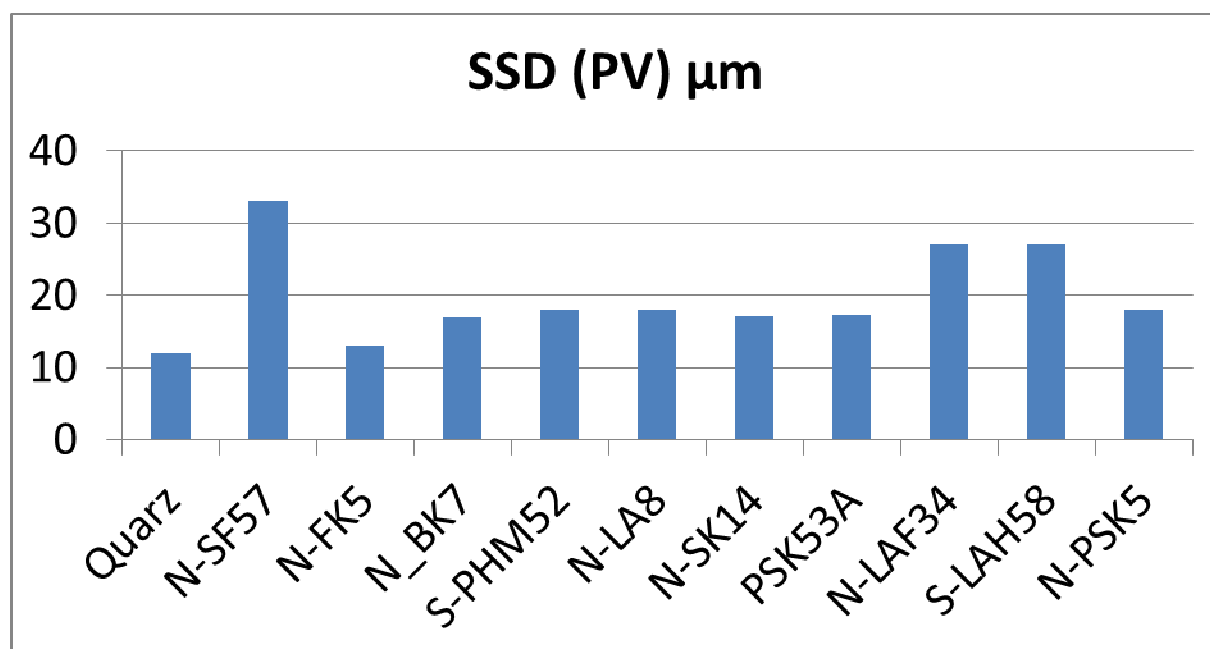


Abb. 2.4.2. Übersicht über die Messergebnisse beim Vermessen der unterschiedlichen Gläser

Die Ergebnisse zeigen, dass der neue Aufbau nicht nur in der Lage ist, Standardgläser bezüglich ihrer SSD zu detektieren, sondern auch weniger benutzte, für Sonderanwendungen bevorzugte, Gläser zu vermessen.

3. Vermessungen von Objekten für Bachelorarbeiten

Mit dem neuen Aufbau wurden für im Zentrum für Optische Technologien betreute Bachelorarbeiten Saphiroptiken sowie Schleifwerkzeuge vermessen. Bei den Saphiroptiken wurde versucht, durch Polierversuche auf den Oberflächen die Tiefenschädigungen zu entfernen. Dahingegen wurde bei den Versuchen mit den Schleifwerkzeugen die Abnutzung am Werkzeug selber sichtbar gemacht.

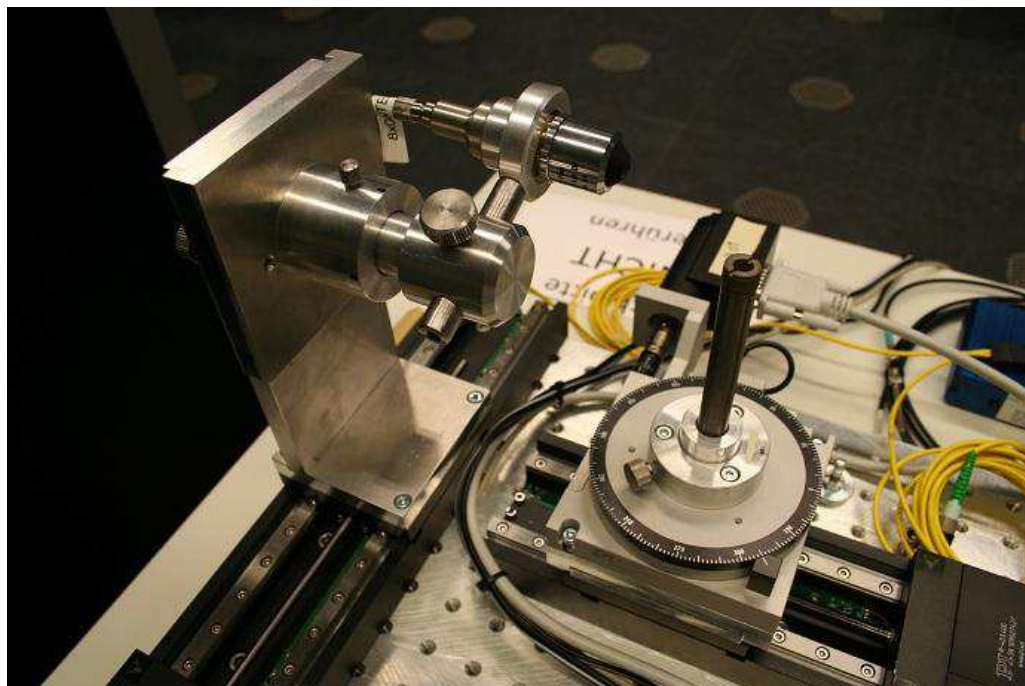


Abb. 2.4.3. Umbau des Frequency Domain OCT mit 3. Achse (blau markiert)

4. Umbau FD OCT mit 3. Achse

Am Frequency Domain OCT wurde eine weitere Achse angebaut. Diese erlaubt nun Messungen von rotationssymmetrischen Objekten. Im Bild zu sehen ist die Messung eines Schleifwerkzeuges. Da die bisherige Software(-oberfläche) lediglich auf 2 Achsen ausgelegt ist, musste diese angepasst werden. Die notwendigen Änderungen an der Programmoberfläche sowie des Codes selbst werden hierbei im Jahr 2013 fortgesetzt.

III. Publikationen / Vorträge im Rahmen des ZAFH – PHOTONⁿ

Publikationen

H. Schneckenburger, P. Weber, M. Wagner, T. Bruns, V. Richter, S. Schickinger, R. Wittig: "Multidimensional fluorescence microscopy in live cell imaging – a mini-review", *Photon. Lasers Med.* 1:35–40 (2012).

H. Schneckenburger, P. Weber, M. Wagner, S. Schickinger, V. Richter, T. Bruns, W.S.L. Strauss, R. Wittig: "Light exposure and cell viability in fluorescence microscopy", *J. Microsc.* 245:311–318 (2012).

T. Bruns, S. Schickinger, R. Wittig, H. Schneckenburger: "Preparation strategy and illumination of 3D cell cultures in light-sheet based fluorescence microscopy", *J. Biomed. Opt.* 17(10):101518 (2012).

M. Wagner, P. Weber, H. Baumann, H. Schneckenburger: "Nanotopology of cell adhesion upon variable-angle total internal reflection fluorescence microscopy (VA-TIRFM)", *J. Vis. Exp.* 68:e4133 (2012).

H. Schneckenburger, M. Wagner, P. Weber, T. Bruns: "In vivo Instrumentation", in: Handbook of Biophotonics, Vol. 2: Photonics for Health (J. Popp, V.V. Tuchin, A. Chiou, S.H. Heinemann, eds.), Wiley-VCH Verlag, Weinheim, Germany, 2012, 201–205.

B. von Einem, P. Weber, M. Wagner, M. Malnar, M. Kosicek, S. Hecimovic, C.A.F. von Arnim, H. Schneckenburger: "Cholesterol-dependent energy transfer between fluorescent proteins—insights into protein proximity of APP and BACE1 in different membranes in Niemann-Pick Type C disease cells", *Int. J. Mol. Sci.* 13 (2012) 15801-15812.

A. Holloschi, H.M. Kuhn, C. Müller, M. Worf, M. Rauen, T. Röder, W. Kessler, J. Mollenhauer, P. Kioschis: "Label-free microscopy: spectral imaging of multiphoton-excited cellular Autofluorescence", In: *Current Microscopy Contributions to Advances in Science and Technology*, Vol. 1 (A. Méndez-Vilas, Eds.), Formatex 2012, 103 – 111.

I. Block, S. Schmidt, P.L. Hansen, A. Riedel, H. Christiansen, J. Mollenhauer: "Nanomedicine Approaches for Cancer Stem Cell Targeting and Personalized Cancer Treatment", *Nanomedicine – Basic and Clinical Applications in Diagnostics and Therapy* (C. Alexiou, Ed.), Proc. Else Kröner Fresenius Symp., Vol. 2, Basel, 2011, 135–144.

M.F. Gjerstorff, H.I. Rösner, C.B. Pedersen, K.B. Greve, S. Schmidt, K.L. Wilson, J. Mollenhauer, H. Besir, F.M. Poulsen, N.E. Møllegaard, H.J. Ditzel: "GAGE cancer-germline antigens are recruited to the nuclear envelope by germ cell-less (GCL)", *PLoS One* 7(9) (2012) e45819.

J. Mollenhauer, A. Knoop, M. Bak, A.-V. Lænkholm, M. Thomassen, T.A. Kruse, Høilund-Carlsen, P. Flemming: "Breast cancer stem cells: a moving target for cancer nanomedicine", *Eur. J. Nanomedicine*, Vol. 4 (2012), 59–72.

D. Oelkrug, M. Brun, K. Rebner, B. Boldrini, R.W. Kessler: "Penetration of Light into Multiple Scattering Media: Model Calculations and Reflectance Experiments. Part I: The Axial Transfer", *Appl. Spectrosc.* 66 (2012) 934-943.

B. Boldrini, W. Kessler, K. Rebner, R.W. Kessler: "Hyperspectral imaging: a review of best practice, performance and pitfalls for inline and online applications", *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 20 (2012) 438–508.

E. Ostertag, B. Boldrini, S. Luckow and R. W. Kessler: „Label-free multimodal micro-spectroscopic differentiation of glioblastoma tumor model cell lines combined with multivariate data analysis“, *Proc. SPIE Vol. 8427* (2012) 84271U1.

S. Luckow, K. Rebner, D. Oelkrug, R.W. Kessler: „Hyperspectral Stray Light Imaging of Chromosomes: A Novel Concept for Label-Free Karyotyping“, *Proc. SPIE Vol. 8230* (2012) 82300G.

E. Ostertag, T. Merz, R. W. Kessler: „Multimodal Spatially Resolved Near-Field Scattering and Absorption Spectroscopy“, *Proc. SPIE Vol. 8231* (2012) 82310A.

A. Kandelbauer, M. Rahe, R.W. Kessler: „Process Control and Quality Assurance - Industrial Perspectives“, in: Handbook of Biophotonics, Vol.3: Photonics in Pharmaceuticals, Bioanalysis and Environmental Research (J. Popp, V.V. Tuchin, A. Chiou, S.H. Heinemann, eds.), Wiley-VCH Verlag, Weinheim, Germany), 2012, 1–69.

T. Schuldt, M. Gohlke, H. Kögel, R. Spannagel, A. Peters, U. Johann, D. Weise, C. Braxmaier: "Picometre and nanoradian heterodyne interferometry and its application in dilatometry and surface metrology", *Meas. Sci. Technol.* 23 (2012) 054008.

R. Spannagel, T. Schuldt, C. Braxmaier: "High Resolution Optical Surface Investigation Based on Heterodyne Interferometry", *Int. J. Optomechatronics* 6 (2012) 264-274.

J. Sanjuán, D. Korytov, G. Mueller, R. Spannagel, C. Braxmaier, A. Preston, J. Livas: "Silicon carbide telescope dimensional stability for space-based gravitational wave detectors" (Technical Note), *Rev. Sci. Instrum.* 83 (2012) 116107.

A. Rodrigues, V. Lange, D. Kühlke: „Algorithm for Concentration Analysis with Laser Absorption Spectroscopy“, *Proc. SPIE Vol. 8550* (2012).

A. Rodrigues, V. Lange, D. Kühlke: „Echtzeitüberwachung von Gasen“, *GIT Labor-Fachzeitschrift* 6/2012, 442-445.

A. Kovacs, U. Mescheder: "Transport Mechanisms in Nanostructured Porous Silicon Layers for Sensor and Filter Applications", *Sensors and Actuators B* 175 (2012) 179–185.

A. Kovacs, W. Kronast, A. Filbert, U. Mescheder: Transport in Surface Passivated Porous Silicon Membranes, *ECS Transactions*, to be published

Vorträge und Poster

H. Schneckenburger, M. Wagner, P. Weber, S. Schickinger, V. Richter, R. Wittig, T. Bruns: "3D Fluorescence Microscopy of Living Cells at Low Light Exposure" (Vortrag), *Focus on Microscopy*, Singapore, 01–04.04.2012.

T. Bruns, S. Schickinger, R. Wittig, H. Schneckenburger: „Illumination Device for Light Sheet Based Fluorescence Microscopy of Living Cells" (Poster), *Focus on Microscopy*, Singapore, 01–04.04.2012.

T. Bruns, L. Becsi, U. Mescheder, H. Schneckenburger: „Microfluidic System for Single Cell Sorting Based on Deflection by Optical Tweezers" (Poster), *Focus on Microscopy*, Singapore, 01–04.04.2012.

H. Schneckenburger. „Mehrdimensionale Mikroskopie / Photonische Sensorik" (Vortrag), *Wissens- und Technologietransfer der IHK Ostwürttemberg*, Hochschule Aalen, 26.04.2012.

T. Bruns, S. Schickinger, P. Weber, H. Schneckenburger: "Axially Resolved Microscopy and Cell Screening" (Poster und Exponate), im Rahmen der 62. Nobelpreisträgertagung, Lindau, 06.07.2012.

H. Schneckenburger, P. Weber, V. Richter, M. Wagner: „Laser-Assisted Microscopy for Tumor Cell Recognition" (eingeladener Vortrag), *Int. Conf. On Advanced Laser Technologies (ALT'12)*, Thun (Schweiz), 02.–06.09.2012.

H. Schneckenburger, T. Bruns, P. Weber, M. Wagner, S. Schickinger, V. Richter, R. Wittig: „Multidimensionale Mikroskopie" (Vortrag), 4. Aalener Photoniktag, Hochschule Aalen, 16.11.2012.

S. Schickinger, T. Bruns, R. Wittig, H. Schneckenburger „Illumination device for light sheet based fluorescence microscopy of living cells" (Poster), 4. Aalener Photoniktag, Hochschule Aalen, 16.11.2012.

T. Bruns, S. Schickinger, H. Schneckenburger: "McSPIM – A Microfluidic Capillary Approach for Selective Plane Illumination Microscopy" (Poster), 4. Aalener Photoniktag, Hochschule Aalen, 16.11.2012.

S. Schickinger, T. Bruns, M. Wagner, H. Schneckenburger: "Ratio Imaging - Simultaneous detection of fluorescence images excited by two wavelengths" (Poster), 4. Aalener Photoniktag, Hochschule Aalen, 16.11.2012.

P. Weber, M. Wagner, H. Schneckenburger: „Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen zur zellulären Aufnahme des Zytostatikums Doxorubicin“ (Poster), 4. Aalener Photoniktag, Hochschule Aalen, 16.11.2012.

P. Kioschis, "Molecular imaging of (isogenic) cell models", NANOKAT Promotionskolleg, Hochschule Mannheim, März 2012.

K. Jakob-Obeid, P. Kioschis: "Cell Model Development for TRP-Ion Channels - Modulation of Expression and Correlation to Tumorigenic Cellular Responses", NANOKAT Promotionskolleg, Hochschule Mannheim, Sept. 2012.

H. Kuhn, A. Holloschi, M. Rauen, C. Müller, M. Worf, W.Kessler, A. von Deimling, J. Mollenhauer, P. Kioschis. Development of 2D and 3D isogenic cancer models: Functional analysis and spectral imaging of cellular autofluorescence. 4. Aalener Photoniktag, Hochschule Aalen, 16.11.2012.

H. Kuhn, A. Holloschi, M. Rauen, M. Worf, C. Müller, S. Schmidt, W.Kessler, A. von Deimling, J. Mollenhauer, P. Kioschis. Spectral imaging of multiphoton-excited cellular autofluorescence using isogenic cancer cell models. 4. Aalener Photoniktag, Hochschule Aalen, 16.11.2012.

R. W. Kessler: "Hyperspectral Stray Light Imaging of Chromosomes - A Novel Concept for Label-Free Karyotyping (Vortrag), Int. Conf. on Biomedical Applications of Light Scattering, SPIE Photonics West, San Francisco (USA), 21.–26. 01. 2012.

R. W. Kessler: "Multimodal Spatially Resolved Near-Field Scattering and Absorption Spectroscopy" (Vortrag), Int. Conf. on Biomedical Applications of Light Scattering, SPIE Photonics West, San Francisco (USA), 21.–26. 01. 2012.

E. Ostertag: "Label-free multimodal micro-spectroscopic differentiation of glioblastoma tumor model cell lines combined with multivariate data analysis" (Vortrag), Int. Conf. Photonics Europe, Brussels, Belgium, 16.–19. 04. 2012.

R.W. Kessler: „Multimodale Spektroskopie zur markierungsfreien Charakterisierung mikro- und nanoskaliger Strukturen: Beispiel Chromosomen“ (Vortrag), 4. Aalener Photoniktag, Hochschule Aalen, 16.11.2012.

R.W. Kessler: „Label free Classification of Chromosomes by Hyperspectral Imaging and Chemometrics" (Vortrag), XIII. Conf. on Chemometrics in Analytical Chemistry, Budapest, 28.06.2012.

E. Ostertag: "Near-Field Imaging with Apertureless Solid Immersion Lens Compared to a Pinhole Tip" (Vortrag) 11th Int. Conference on Hole Burning, Single Molecule and Related Spectroscopies: Science and Applications, Univ. Tübingen, 27.–30. 08. 2012.

R.W. Kessler: „Reconciliation of Science with Chemometrics in Process Analytics and Hyperspectral Imaging" (Vortrag), Belgium Chemometric Society, Gent, 08.06.2012

R.W. Kessler: "Multimodal Optical Spectroscopy – Integrating Knowledge and First Principles in Process Analytics and Hyperspectral Imaging for Robust Process Control" (Vortrag), 1st Int. Conference on Process Analytics and Control, Shanghai (China), 22.08.2012.

R.W. Kessler: „Mein Patent: Spektrales Imaging in der Medizintechnik“ (Vortrag), Forum „Patente Wissenschaft – Erfinden an der Hochschule Reutlingen“, Hochschule Reutlingen, 19.04.2012.

E. Ostertag, B. Boldrini, D. Oelkrug, R.W. Kessler: “Comparison of Raman reflection and transmission spectroscopy in multilayer systems: simulations and model measurements” (Poster), 4. Aalener Photoniktag, Hochschule Aalen, 16.11.2012.

S. Luckow, A. Lorenz, R.W. Kessler: “Hyperspectral Imaging of Chromosomes: a New Approach for Label Free Karyotyping” (Poster), 4. Aalener Photoniktag; Hochschule Aalen, 16.11.2012.

S. Luckow, A. Lorenz, R.W. Kessler: “Hyperspectral Imaging of Chromosomes: a New Approach for Label Free Karyotyping” (Poster), European Conference of Human Genetics 2012, Nürnberg, 23.–26. 06. 2012.

R. Spannagel, M. Gohlke, T. Schuldt, U. Johann, D. Weise, C. Braxmaier: „Interferometry-Based CTE Measurement Facility with Demonstrated 10 ppb/K Accuracy“, DPG-Frühjahrstagung, ISSN 0420-0195, Stuttgart, 2012.

R. Spannagel, M. Gohlke, T. Schuldt, U. Johann, D. Weise, C. Braxmaier: “CTE measurement setup with 10 ppb/K sensitivity for characterizing lightweight and highly stable materials for space applications”, SPIE Conference on Astronomical Telescopes and Instrumentation, Amsterdam, 2012.

R. Spannagel, J. Delion, M. Gohlke, T. Schuldt, U. Johann, D. Weise, C. Braxmaier: “Optical metrology to Determine Thermal Expansions of Ultra Stable Materials Used in Space Applications”, Int. Symp. on Optomechtronic Technologies (ISOT 2012), Paris, 2012.

A. Kovacs, W. Kronast, A. Filbert, U. Mescheder: “Transport in Surface Passivated Porous Silicon Membranes”, PRIME 2012, Pacific RIM Meeting on Electrochemical and Solid-state Science”, Honolulu, Hawaii (USA), 07.–12.10.2012.

A. Kovacs, A. Ivanov, A. Malisauskaite, U. Mescheder: „Oberflächenstabilisierung nanostrukturierter poröser Siliziumschichten für sensorische Anwendungen“, 4. GMM Workshop Mikro-Nano-Integration, Berlin, 12–13.11. 2012.

Abschlussarbeiten / Promotionen

S. Schmidt: “Molecular Tools for functional genomics and identification of a synthetic lethal target in melanoma”, Dissertation, Universität Heidelberg (2011).

T. Bruns: „Entwicklung und Anwendung laseroptischer Methoden zum Screening von Membranen lebender Zellen“, Dissertation eingereicht an der Universität Ulm (Okt. 2012).

H. Martens: „Aufbau und Kalibration eines Pushbroom Imaging Systems“ Master Thesis, Hochschule Reutlingen (2012).

P. Hitzer: „Optimierung und Validierung eines hyperspektralen Imaging Systems für die Streulicht Spektroskopie von Nanostrukturen“, Master Thesis, Hochschule Reutlingen (2012).

H. Qui: “Improvement of Fluorescence Imaging System Measurement in Application of Infant Fecal Detection”, Bachelor Thesis, Hochschule Reutlingen (2012).

B. Kimmel: „Reinigungsvalidierung in der Pharmaindustrie mittels UV-Vis – Spektroskopie“, Bachelor Thesis, Hochschule Reutlingen (2012).

Patente

R.W. Kessler, T. Merz, K. Rebner: „Markerfreies Chromosomen-Screening“, DE 10 2008 011 283 B4, erteilt am 29.3.2012.

R.W. Kessler, T. Merz, K. Rebner: „Non-Marker Chromosome Screening“, PCT Anmeldung mit Intern. Veröffentlichungsnummer WO 2009/106473 A2, erteilt 2012.

R.W. Kessler, T. Merz, K. Rebner: “Marker Free Chromosome Screening”, United States Patent Publication US 2011/0058177 AA1, erteilt 2012.

Sonstiges

K. Borisova, H. Schneckenburger, A. Priezhev: Gast-Editoren des Sonderbands “Laser Technologies for Biomedical Applications“, Journal of Biomedical Optics, October 2012.

H. Schneckenburger: Gast-Editor des Sonderbands „Förster energy transfer (FRET)“, Int. Journal of Molecular Sciences, October 2012.

P. Kioschis et al.: Bewilligtes Promotionskolleg NANOKAT (Teilnehmer: HS-Ma, KIT, UniDA, UniHD, Merck, BRAIN, UniFreiburg), BMBF, 2011-2014.

P. Kioschis et al.: Bewilligtes kooperatives Promotionskolleg "Krankheitsmodelle und Wirkstoffe", Hartmut Hoffmann-Berling International Graduate School of Molecular and Cell Biology, MWK Baden-Württemberg, 2011-2014.

U. Mescheder et al.: Präsentation des Biosensorsystems in Funktion auf der Hannovermesse, Hannover, 23.-27.04.2012

IV. Abschlussbemerkungen

Die Arbeiten im ZAFH-PHOTONⁿ erfolgten in Übereinstimmung mit dem Projektantrag und weitgehend im vorgegebenen zeitlichen Rahmen. In Einzelfällen kam es – bedingt durch Personalwechsel – zu Verzögerungen, die bis zum Ende der Projektlaufzeit aller Voraussicht nach wieder kompensiert werden. Die aufgrund der Gutachterempfehlung eingeleitete 2. Förderphase hat ganz wesentlich dazu beigetragen, die in der 1. Phase etablierten Techniken wissenschaftlich zu nutzen und auf das für eine spätere Verwertung erforderliche hohe technische Niveau zu bringen.

Das Erarbeiten der einzelnen Teilprojekte in unterschiedlich zusammen gesetzten Kleingruppen mit internen und externen (universitären sowie industriellen) Partnern hat sich ebenso bewährt wie die Nutzung der an den einzelnen Partnerhochschulen etablierten Infrastruktur. Mehrere Anschlussprojekte basieren auf den bisher im ZAFH-PHOTONⁿ gewonnenen Erkenntnissen.

Aalen, den 25.01.2013



Prof. Dr. H. Schneckenburger
Sprecher des ZAFH - PHOTONⁿ