

Mikroskopadapter zur Rotation 3-dimensionaler Proben

Thomas Bruns, Sarah Schickinger, Herbert Schneckenburger,
Institut für Angewandte Forschung, Hochschule Aalen

Viele Mikroskopanwender wünschen sich, ihre Proben aus verschiedenen Richtungen betrachten zu können. Um dies zu erreichen, wurde eine Probenhalterung entwickelt, die eine Rotation der Probe ermöglicht und leicht an Standardmikroskope angekoppelt werden kann. Die Halterung lässt sich für eine Vielzahl gängiger Mikroskopie-Methoden nutzen.

In der klassischen Mikroskopie können Proben (zumeist auf Glasträgern) lediglich von einer Seite betrachtet werden. In der Regel geht hierdurch ein großer Informationsgehalt verloren.

Eine im Rahmen des Zentrums für Angewandte Forschung ZAFH-PHOTON[®] erstellte Vorrichtung ermöglicht es künftig, Proben, die in Glaskapillaren gehalten werden, definiert um eine Längsachse zu rotieren [1]. Dies bietet einen umfassenden Freiheitsgrad bei der Betrachtung und Messbilderfassung unter Beibehaltung einer ebenen Rechteckgeometrie.

Aufbau

Eine probenführende runde Glaskapillare wird in einer rechteckigen Glaskapillare

rotiert (**Bild 1**). Hierbei wird die Rechteckkapillare mit Klemmen am Mikroskopeinsatz in Position gehalten und die Rundkapillare über eine radiale Klemmfassung auf der Achse eines Schrittmotors fixiert (Bild 2). Die Rotation kann manuell über eine Rendschraube mit Skaleneinteilung oder über einen Schrittmotor mit einer zwischen 0,1125° und 1,8° einstellbaren Winkelauflösung erfolgen. Der Schrittmotor lässt sich über einen Computer (via LabView) oder über ein eigenes Handgerät direkt ansprechen. Eine App-Steuerung via Bluetooth wird aktuell umgesetzt.

In aktuellen Arbeiten werden rechteckige Kapillaren mit einem Innendurchmesser von 600 µm (Wanddicke: 120 µm) und runde Kapillaren mit einem Außendurchmesser von 550 µm (Innendurchmesser:

400 µm) verwendet. Bei der Auswahl der Kapillaren ist darauf zu achten, dass der Innendurchmesser der runden Kapillare auf die Probengröße und der Außendurchmesser auf den Innendurchmesser der rechteckigen Kapillare abgestimmt ist. Eine Vielzahl von Kapillargrößen sind kommerziell erhältlich [2] und können als kostengünstige Einwegkomponenten aus Borosilikatglas (VIS-Bereich) oder Quarzglas (UV-Bereich) für die Probenrotation genutzt werden. Ein eingebrachtes Immersionsöl bzw. -gel dient zur optischen Anpassung (index matching) der beiden Kapillaren. Die Probenvorbereitung und Justage ist in der Praxis einfach zu handhaben. Die zu untersuchende Probe lässt sich bei flüssigem Umgebungsmedium direkt über Kapillarkräfte oder durch Unterdruck aus einem Probenreservoir einsaugen bzw. über Pipettierung applizieren. Für festere Umgebungsmedien (z.B. Agarose) lässt sich die Probe mit der runden Kapillare direkt aus dem Reservoir ausstechen.

Da der Adapter zur Probenrotation direkt auf den Positioniertisch des Mikroskops aufgesetzt wird (**Bild 2**), kann er problemlos für Produkte namhafter Mikroskophersteller (z.B. Leica, Zeiss, Nikon, Olympus) angepasst werden.

Anwendung

Neben der konventionellen Auf- oder Durchlichtmikroskopie stellt die Probenrotation insbesondere für 3D-Mikroskopiemethoden (u.a. Laser-Scanning-Mikroskopie, Spinning-Disk-Mikroskopie, strukturierte Beleuchtung, Lichtscheibenmikroskopie), die einzelne Probenebenen selektiv erfassen, eine Bereicherung dar. Bei kontinuierlicher Variation der Probenebene

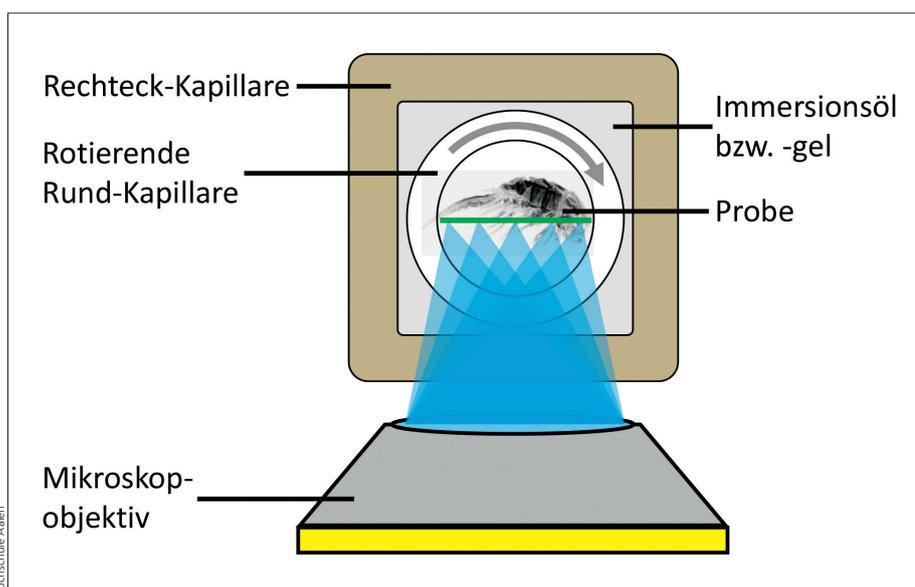


Bild 1: Schematische Darstellung der Probenrotation im Fall der Laser-Scanning-Mikroskopie

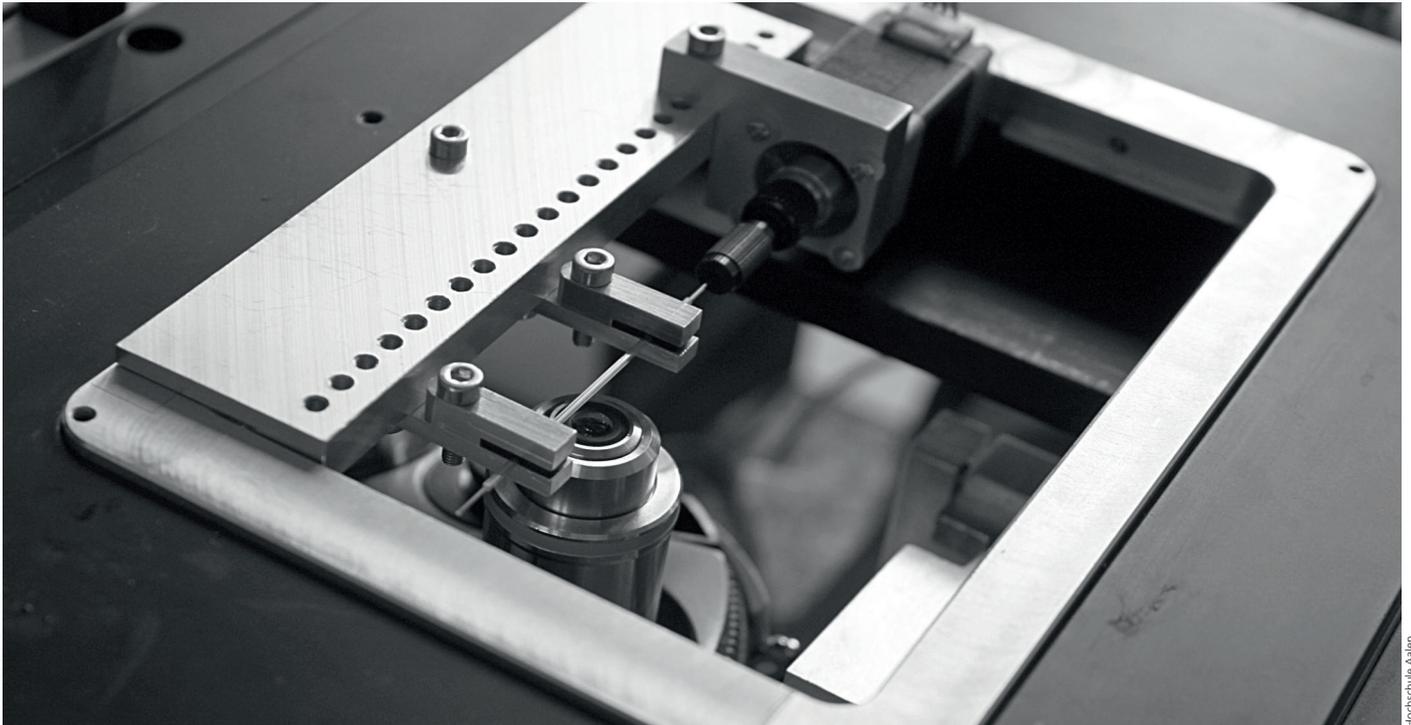


Bild 2: Die Probenhalterung zur Rotation kann einfach auf den Positioniertisch des Mikroskops aufgesetzt werden

können so Bilderstapel (z-Stacks) aufgenommen werden, aus denen sich in der Nachbearbeitung eine 3D-Rekonstruktion der Probe erstellen lässt. Ein einzelner aus einer Perspektive aufgenommener Bilderstapel und dessen 3D-Rekonstruktion weisen jedoch häufig Artefakte und fehlende Bildinformationen aufgrund von Absorption und Streuung in der Probe auf. Durch Rotation der Probe ist es nun möglich, diesen Informations-

verlust zu minimieren. Die Probenrotation ermöglicht somit die Erstellung von Bilderstapeln aus einer Vielzahl von achsensymmetrischen Ansichten (**Bild 3**), die miteinander kombiniert in der Voxel-basierten 3D-Rekonstruktion sehr gute Ergebnisse frei von Artefakten liefern können. Hierfür lassen sich kostenfreie Softwarelösungen aus dem Bereich der Lichtscheibenmikroskopie (z.B. OpenSPIM) nutzen. Der Adapter zur Probenrotation eignet

sich sowohl für den Ausbildungsbereich (z.B. Schule, Studium), als auch für Anwendungen in den Material- und Bio-Wissenschaften.

Literaturhinweise:

- [1] T. Bruns, H. Schneckenburger, S. Schickinger, *Sample holder for rotation of three-dimensional specimens in microscopy*, European Patent Application, 2013, EP 13 184 931.7
- [2] 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., 2012, 17(10), S. 101518

Ansprechpartner:

Dr. Thomas Bruns
Sarah Schickinger
Prof. Dr. Herbert Schneckenburger

Hochschule Aalen
Institut für Angewandte Forschung
Beethovenstr. 1
D-73430 Aalen
Tel. 07361/576-3425
eMail:
thomas.bruns@htw-aalen.de
sarah.schickinger@htw-aalen.de
herbert.schneckenburger@htw-aalen.de
Internet: www.htw-aalen.de

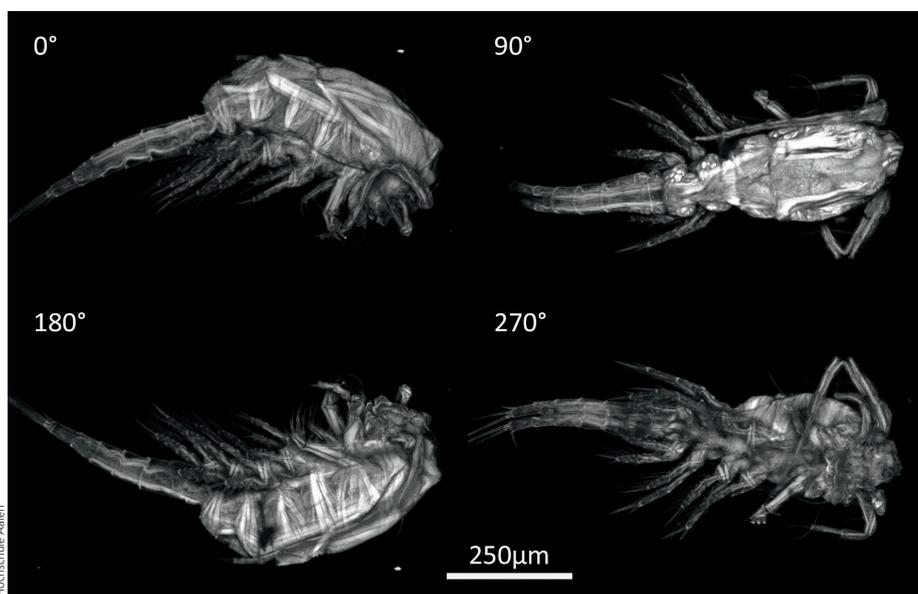


Bild 3: Beispiel zur Probenrotation: Fluoreszenzaufnahmen (z-Projektionen) eines Ruderfußkrebses unter verschiedenen Winkeln mittels Laser-Scanning-Mikroskopie