

Photonik Forschung Deutschland
Förderinitiative „Ultrasensitiver Nachweis und Manipulation von Zellen bzw. Geweben und ihren molekularen Bestandteilen“

Projekt:	Spektral sensitive Mikroskopie mittels excitation fingerprinting basierend auf einem nichtkollinear optisch-parametrischen Oszillator (METAPHOR)
Koordinator:	Carl Zeiss Microscopy GmbH Dr. Tiemo Anhut Carl-Zeiss-Promenade 10 07745 Jena Tel.: +49-(0) 3641 64-2149 Email: tiemo.anhut@zeiss.com
Projektvolumen:	3,2 Mio. € (Förderquote 62%)
Projektlaufzeit:	01.01.2014 bis 31.12.2016
Projektpartner:	<ul style="list-style-type: none">➤ Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena➤ Leibniz Universität Hannover, Hannover➤ TEM Messtechnik GmbH, Hannover➤ Institut für Lasertechnologien in der Medizin und Meßtechnik, Ulm➤ Vention Laser Technologies GmbH, Garbsen

Licht für die Gesundheit

Licht hat das Potenzial, die Ursprünge von Krankheiten zu erkennen, ihnen vorzubeugen oder sie frühzeitig und schonend zu heilen. Mit Licht gelingen Darstellungen von mikroskopisch kleinen Abläufen, etwa innerhalb von lebenden Zellen, in extrem kurzer Zeit und „berührunglos“ – also ohne biologische Prozesse zu stören oder sie zu beeinflussen. Sie sind damit in vielen Bereichen potenziell schneller und schonender als konventionelle Verfahren. Hierzu gehört insbesondere die Aufklärung der Pathogenese vieler Erkrankungen, welche in der Folge eine verbesserte Prävention, Diagnostik und Therapie ermöglicht. Zu nennen sind aber auch Anwendungen in Biotechnologie und Umweltschutz. Innovationen aus den optischen Technologien haben in den Lebenswissenschaften bereits heute erhebliche wirtschaftliche Bedeutung und sichern Arbeitsplätze in Deutschland. Der weltweite Umsatz in diesem Marktsegment beträgt etwa 65 Milliarden Euro, an dem Deutschland einen Anteil von ca. 10 Mrd. Euro (15%) hat. Ziel dieser Fördermaßnahme ist es, diese Anwendungspotenziale weiter auszuschöpfen.

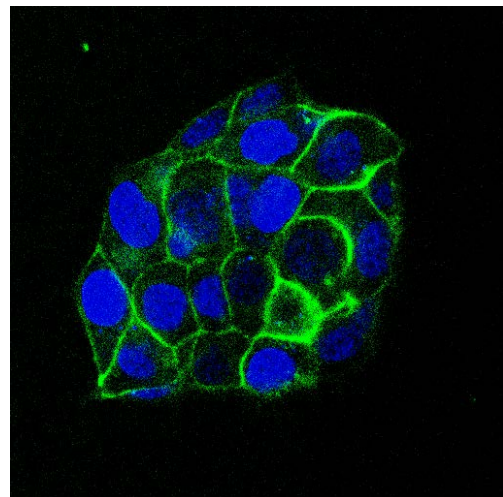


Bild 1: Konfokale Mikroskopie von humanen Brusttumorzellen, die das membranständige Protein Her2 (hier grün) stark überexprimieren
(Quelle: Prof. Alves, Göttingen)

Proteine geben Auskunft über Alzheimer- und Krebserkrankungen

Neurodegenerative Erkrankungen wie Morbus Alzheimer und Tumorerkrankungen betreffen einen zunehmend großen Teil unserer Bevölkerung. Besseres Verständnis der molekularen Vorgänge, die den Krankheiten zu Grunde liegen, sowie die frühzeitige und zuverlässige Detektion von Veränderungen können die Therapieauswahl und die Therapiechancen entscheidend beeinflussen. In der medizinischen Forschung und Diagnostik werden hierzu u.a. fluoreszenzmarkierte und autofluoreszierende Proteine (Biomarker) verwendet. Komplexe Prozesse wie Protein-Protein-Wechselwirkungen bei Morbus Alzheimer oder der Metabolismus von Tumorzellen werden mit Mehrfachfarbmarkierungen untersucht. Hierbei können Anregungswellenlängen und Emissionsspektren der markierten Biomarker und Autofluoreszenzen sehr dicht beieinander liegen bzw. sich stark überlagern. Für deren Unterscheidung sind spezifische Anregung und Detektion deshalb kritische Parameter und essentiell für eine korrekte Diagnose bzw. Auswertung der Untersuchungsergebnisse.

Verfahren nach dem heutigen Stand der Technik stoßen bei Mehrfachfärbung an die Grenzen der spektral-selektiven Strukturauflösung. Vor allem nicht-lineare Anregungsbedingungen sind nicht für alle Markierungen gleichzeitig einstellbar, so dass entweder das Signal-zu-Rauschverhältnis der Bilddaten leidet oder die Datenaufnahme langsam erfolgt. Auch Methoden wie Fluoreszenzlebensdauer-Mikroskopie (engl. *fluorescence life-time imaging microscopy*, FLIM) sind durch ihre geringe Geschwindigkeit für eine Reihe von Anwendungen nicht einsetzbar.

Komplexe Prozesse? – Vielfarbiger Lösungsansatz!

Der Verbund will mit einem neuartigen Laserrastermikroskopie-System (engl.: *laser scanning microscopy*, LSM) die genannten Grenzen überwinden. Dazu werden neuartige Lichtquellen (nichtkollineare optisch-parametrische Oszillatoren, NOPO), die über einen großen Spektralbereich schnell durchgestimmt werden können, inklusive aktiver Stabilisierungen realisiert und erforscht. Diese Lichtquellen können sowohl zur Anregung der Biomarker und Farbstoffe im nahen Infrarot (NIR) als auch im sichtbaren Spektrum (VIS) eingesetzt werden.

Um den Vorteil der schnellen Durchstimmbarkeit bei gleichmäßig hoher Lichtleistung ausnutzen zu können, wird ein LSM konzipiert, dessen Sensorsystem eine zuverlässige Trennung von Anregungs- und Signallicht sowie eine breitbandige Detektion des Fluoreszenzsignals erlaubt. Das Gesamtsystem wird sich gegenüber dem Stand der Technik durch eine deutlich verbesserte Spezifität und Sensitivität auszeichnen.

Die spektrale Trennung der unterschiedlichen Markierungen soll durch Abtasten des farbstoffspezifischen Anregungsspektrums, sogen. „*excitation fingerprinting*“, sowie durch Auswertung des sich ergebenden Fluoreszenzspektrums erreicht werden. Die Anwendbarkeit der so entstehenden Systemdemonstratoren für biomedizinische Fragestellungen wird an Beispielen der Krebs- und Alzheimer-Forschung evaluiert: Stoffwechselvorgänge von Tumorzellen sowie Protein-Protein-Wechselwirkungen bei der Alzheimer-Krankheit werden untersucht.

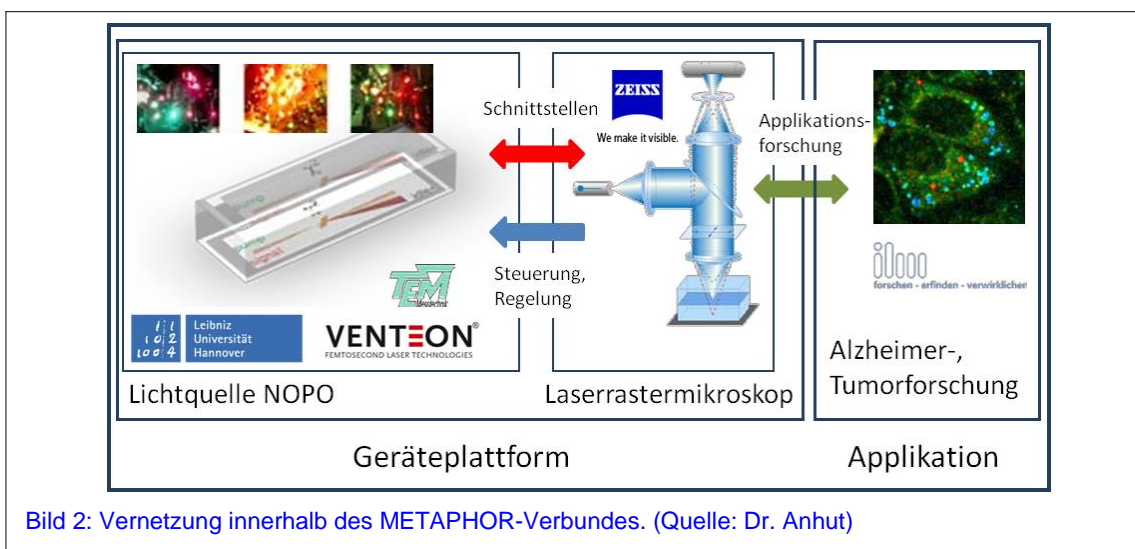


Bild 2: Vernetzung innerhalb des METAPHOR-Verbundes. (Quelle: Dr. Anhut)