

**Projekt**

**Industrielles Verbundprojekt: Schonende hochauflösende Fluoreszenzmikroskopie lebender Zellen mit frei einstellbarem Lichtblatt (nanoSPIM)**

**Koordinator:**

Carl Zeiss Microscopy GmbH  
Advanced Development  
Dr. Thomas Kalkbrenner  
Tel.: +49 3641 64-2534  
t.kalkbrenner@zeiss.de

**Projektvolumen:**

2,9 Mio € (ca. 60 % Förderanteil durch das BMBF)

**Projektlaufzeit:**

01.02.2013 bis 31.07.2016

**Projektpartner:**

- ➔ Uni Würzburg
- ➔ Carl Zeiss Microscopy GmbH
- ➔ Ibidi GmbH

**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 „berührungslos“ – 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.

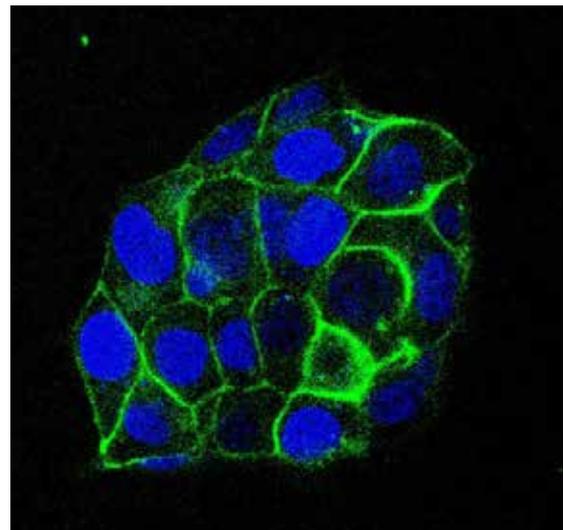


Bild 1: Konfokale Mikroskopie von humanen Brusttumorzellen, die das membranständige Protein Her2 stark überexprimieren (Quelle: Prof. Alves, Göttingen)

## Bildgebende Fluoreszenzmikroskopie mit 10-fach höhere Auflösung begrenzt auf Teilbereiche

Neue hochauflösende Verfahren der Fluoreszenzmikroskopie (Nanoskopie) erreichen eine nahezu molekulare Auflösung und haben uns erstmals Einblicke in zelluläre Strukturen und deren Organisation mit bisher ungeahnter Schärfe erlaubt. Leider können die Verfahren nicht zur hochaufgelösten Rekonstruktion ganzer Zellen eingesetzt werden und sind zudem bis auf wenige Ausnahmen auf fixierte Zellen beschränkt, da sie mit vergleichsweise hohen Laserenergien die gesamte Probe, d.h. auch außerhalb des abgebildeten Bereichs, anregen. Die klassische Lichtblattmikroskopie (SPIM: Single Plane Illumination Microscopy) verwendet ein senkrecht zur Detektion, von der Seite eingekoppeltes Lichtblatt zur Anregung eines axial begrenzten Bereichs um die Photoschädigung auf den angeregten Bereich zu begrenzen und erlaubt so die Beobachtung wichtiger entwicklungsbiologischer Prozesse in lebenden Organismen. Bisher ist jedoch keines der gegenwärtigen Verfahren zum hochaufgelösten Imaging einzelner lebender Zellen und Zellverbände mit molekularer Auflösung geeignet, da Streueffekte an den Glasoberflächen adhärent wachsender Zellen ein axiales Sectioning mit Hilfe des Lichtblattes erschweren.

### Erstmaliges frei einstellbares Lichtblatt zur schonenden hochauflösenden Fluoreszenzmikroskopie lebender Zellen mit molekularer Auflösung

Der Verbund  $\mu$ SPIM (Micro Single Plane Illumination Mikroskopie: Schonende hochauflösende Fluoreszenzmikroskopie lebender Zellen mit frei einstellbarem Lichtblatt) erforscht die wissenschaftlich-technischen Grundlagen für eine erfolgreiche industrielle Umsetzung und konkurrenzfähigen Einführung einer neuen in bestehende Fluoreszenzmikroskope integrierbaren Technik zur schonenden hochauflösenden Langzeit-Fluoreszenzmikroskopie lebender Zellen und Zellverbände ohne Begrenzungen auf Teilbereiche. Durch die Anregung mit einem frei einstellbaren Lichtblatt wird die Photoschädigung drastisch reduziert und ermöglicht damit erstmals die Abbildung lebender Zellen und Zellverbände, die 3D immobilisiert sind und nicht auf einer Glasoberfläche wachsen, über längere Zeiträume mit bisher ungeahnter Auflösung und erlaubt durch das Sectioning die 3D-Rekonstruktion ganzer Zellen mit nahezu molekularer Auflösung. Damit kann erstmals quantitative Information über die Anzahl und Verteilung verschiedener Proteine in lebenden Zellen erhalten werden. Durch die komplementäre Expertise der Kooperationspartner Carl Zeiss MicroImaging GmbH, ibidi GmbH und der AG Sauer (Universität Würzburg) besitzt der Verbund alle notwendigen Voraussetzungen eine integrierbare Plattform für die schonende einzelmolekülempfindliche Lebendzell-Fluoreszenz-mikroskopie mit bisher unerreichter axialer und lateraler Auflösung zu realisieren.  $\mu$ SPIM eröffnet nicht nur der Zell- und Entwicklungsbiologie, sondern auch der Stammzellforschung sowie der biomedizinischen und pharmazeutischen Forschung neue Horizonte zum hochauflösten Langzeit-studium lebender Zellen und Zellverbände. Die schonende Lichtblattmikroskopie mit molekularer Auflösung stellt die Schlüsseltechnologie für die zukünftige internationale Wettbewerbsfähigkeit des Wirtschaftsstandorts Deutschland auf dem Gebiet der hochaufgelösten Mikroskopie dar.

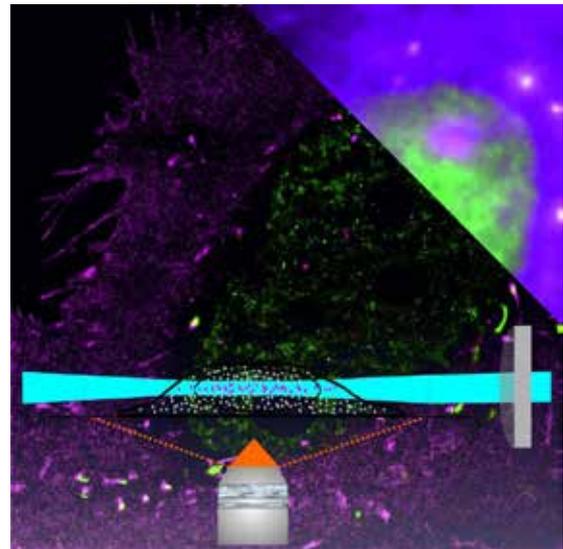


Bild 2: Hochauflöste in vivo Zweifarben-Abbildung einer Zellebene mittels dSTORM. Zusätzlich ist schematisch der experimentelle Aufbau der schonenden hochauflösenden Lichtblattmikroskopie gezeigt. (Quelle: Prof. Sauer, Universität Würzburg)