

Datum: 13.04.2016

Sperrfrist: keine

Hochaufgelöste Bilder in drei Dimensionen

Wissenschaftler des Leibniz-Instituts für Photonische Technologien Jena (Leibniz-IPHT) stellen eine neue Mikroskopiemethode vor, die dreidimensionale Fluoreszenzbilder biologischer Proben in hoher Auflösung und Geschwindigkeit liefert.

Für die detaillierte Abbildung zellulärer Strukturen und Zellorganellen nutzen Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler zunehmend neue hochauflösende Mikroskopiemethoden, die die physikalisch mögliche Auflösungsgrenze scheinbar überwinden. Viele dieser Methoden beleuchten die Proben mit hoher Lichtintensität. Dadurch treten bei empfindlichen Untersuchungsobjekten, wie lebenden Zellen, unerwünschte Veränderungen auf oder es kommt zum Absterben der Zellen.

Fluoreszenzmikroskopieverfahren, die nach dem Prinzip der optischen Photonenzuweisung arbeiten, erreichen eine gute Auflösung und hohe Detektionsempfindlichkeit mit viel geringeren Lichtintensitäten. Sie konzentrieren das von der Probe ausgestrahlte Licht besser auf dem Detektor. Allerdings liefert die Methode nur in einer Ebene gute Auflösung. Prof. Rainer Heintzmann und seinem Doktoranden Stephan Roth vom Leibniz-IPHT ist es nun gelungen, scharfe Bilder in drei Dimensionen zu erzeugen. Sie veröffentlichten ihre Ergebnisse im Fachmagazin „Methods and Applications in Fluorescence“, das den Artikel zu einem der Highlights des vergangenen Jahres kürte.

Rainer Heintzmann, der als Professor für Physikalische Chemie an der Friedrich-Schiller-Universität Jena und Abteilungsleiter am Leibniz-IPHT Verfahren zur hochauflösenden Bildgebung biologischer Proben erforscht, beschreibt die Methode. „Bei konventionellen Laser-Scanning-Mikroskopen rastert ein fokussierter Laserstrahl die Probe in zwei Raumrichtungen mittels beweglicher Spiegel ab. Dieses Anregungslicht bringt die fluoreszierenden Moleküle der Probe dazu Licht auszusenden. Hinter einer Lochblende fängt ein Detektor die emittierten Photonen in der sogenannten Zwischenbildebene ein. Die erhaltenen Intensitätswerte werden der jeweiligen Anregungsposition zugeordnet, gespeichert und anschließend zum resultierenden Bild zusammengesetzt. Um bei herkömmlichen Mikroskopen eine Auflösungserhöhung zu erzielen, müssen wir die Lochblende sehr klein wählen, was zu einem enormen

STANDORT LOCATION
Albert-Einstein-Str. 9
07745 Jena · Germany

POSTANSCHRIFT POSTAL ADDRESS
PF 100 239
07702 Jena · Germany

PRESSE- UND ÖFFENTLICHKEITSARBEIT
PUBLIC RELATION
Daniel Siegesmund

TELEFON PHONE
0049 3641 206-024

TELEFAX FAX
0049 3641 206-044

E-MAIL E-MAIL
daniel.siegesmund@leibniz-ipht.de

WEB WEB
www.leibniz-ipht.de

Mitglied der


Leibniz-Gemeinschaft

Lichtverlust führt. Bei der optischen Photonenzuweisung verkleinern wir hingegen das Zwischenbild in der Lochblenden-Ebene mit Hilfe optischer Linsen um einen Faktor 2. Mit Hilfe der Scan-Spiegel werden anschließend die Intensitätswerte einer Position zugewiesen, an der sich das Molekül am wahrscheinlichsten befindet. Nach dem Scannen der gesamten Probe erhalten wir ein Bild mit etwa 40 Prozent höherer Auflösung ohne das Photonen verloren gehen.“

Die hohe Auflösung beschränkt sich bisher auf die horizontale Ebene, die der Laser in der Probe abrastert. Insbesondere dickere Untersuchungsobjekte erscheinen verrauscht, da auch Licht, das von außerhalb dieser Ebene stammt, detektiert wird. Um die Auflösung entlang der optischen Achse, also in der dritten Raumrichtung, zu erhöhen, nutzt Stephan Roth einen weiteren optischen Trick. „Wir unterdrücken das Licht, welches von Molekülen außerhalb des Fokus ausgesandt wird, indem wir die Probe in einem bestimmten Muster beleuchten. Mittels eines Computeralgorithmus können wir die Photonen, die nicht aus dem Fokuspunkt stammen, identifizieren und vom richtigen Signal abziehen.“ so der Physiker und Erstautor der Studie.

Mit der Kombination aus optischer Photonenzuweisung und strukturierter Beleuchtung konnten die Forscher die benötigte Zeit und Lichtdosis für dreidimensionale hochaufgelöste Fluoreszenzbilder von Zellen reduzieren. Damit hat die Methode das Potential konfokale Fluoreszenzmikroskopie als Standarduntersuchungsverfahren abzulösen. Sein Forschungsziel beschreibt Heintzmann so: „Mit Hilfe detaillierterer und schnellerer Visualisierungsmethoden wollen wir zusammen mit Partnern aus Biologie und Medizin die Funktionsabläufe in Zellen weiter aufklären.“

Den Originalbeitrag und weitere Highlight-Artikel finden Sie unter:

<http://iopscience.iop.org/journal/2050-6120/page/highlights-of-2016>