

DHM – Die vierte Dimension für lebende Zellkulturen

Forscher der EPF Lausanne und der Uni Lausanne wenden mit einer raffinierten Software digitale Holografie auf Mikroskopie an. Ihre Digitale Holografische Mikroskopie (DHM) erlaubt erstmals, gleichzeitig lebende Zellen nicht invasiv und in Echtzeit zu beobachten und davon rasch Bilder hoher Auflösung zu realisieren. Damit erschliessen sie völlig neue Möglichkeiten in Biologie und Medizin.

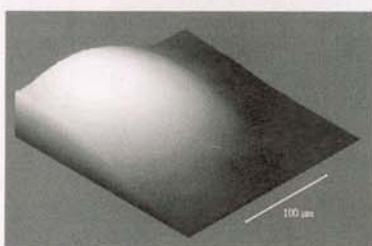
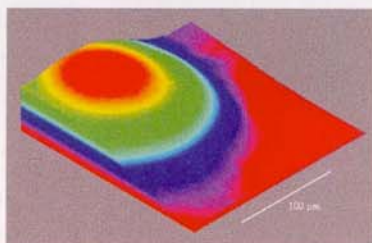
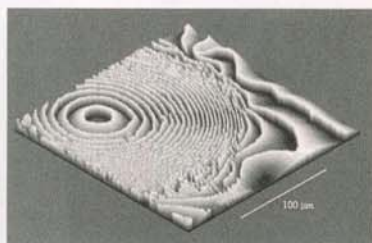
ELSBETH HEINZELMANN

Eigentlich hatte der Physiker Dennis Gabor nur das Auflösungsvermögen der Elektronenmikroskopie verbessern wollen, doch legte er mit seiner Idee im Jahr 1948 den Grundstein zur Holografie. Ihr Prinzip: Wird ein Objekt beleuchtet, sendet es Elementarwellen aus. Die sich ergebende Welle umfasst alle Angaben über das Objekt in Amplitude und Phase. Anders als in der herkömmlichen Fotografie, wo nur die Amplitudeninformation verfügbar ist und sich keine Welle rekonstruieren lässt, bietet die Holografie ein räumliches Bild des Gegenstandes.

EPFL-Know-how für Technologiesprung

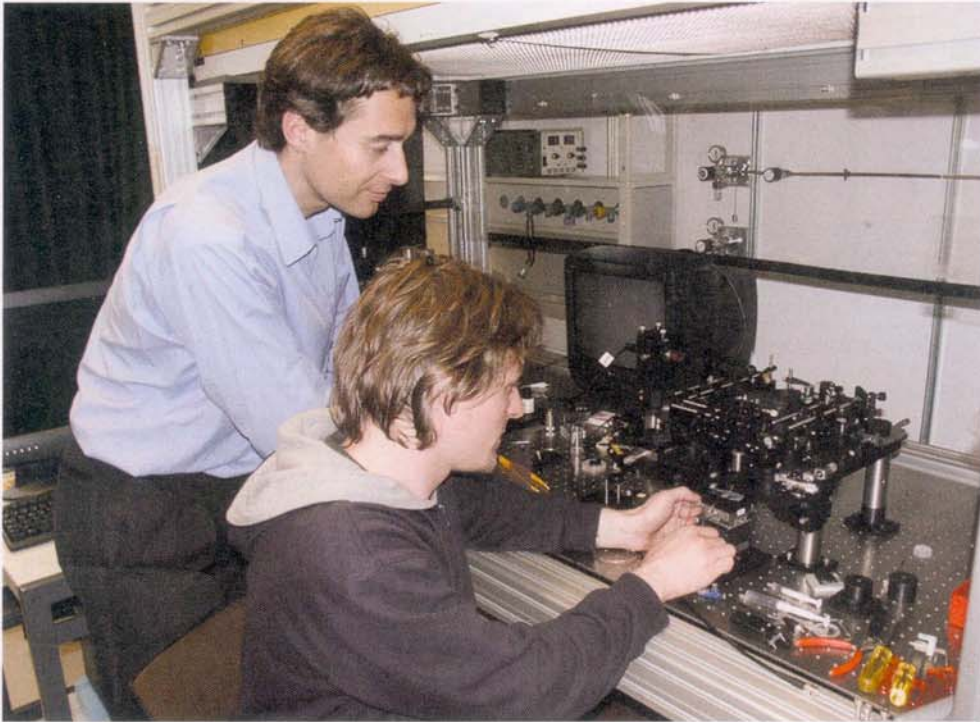
Mit dem Laser als intensive kohärente Lichtquelle wurde die Holografie praktisch nutzbar. Doch den eigentlichen Durchbruch schaffte sie erst mit der Erhöhung der Rechnerkapazität und dem Auftauchen digitaler Signalprozessoren. Die Wellenfront liess sich nun aus dem Hologramm einfach digital rekonstruieren, womit die digitale Holografie für industrielle Anwendungen interessant wurde.

Schon früh hatte Dr. Christian Depeursinge an der EPF Lausanne das Potenzial der digitalen Holo-



Anwendungsbeispiel: Qualitätskontrolle in Mikrooptik
Teil einer Mikrolinse, beobachtet mit dem DHM. Die Visualisierung der Probe erfolgt entweder durch Niveaukurven oder Bilder in Phase, eine 3D-Messung mit Höhenmassstab in Farbe oder eine Schwarz-Weiss-Abstufung. Mit den Messungen lässt sich die Krümmung einer Mikrolinse und ihre Oberfläche kontrollieren. (Bild: Lyncee Tec)

grafie erkannt und Wege gesucht, diese auf optische Mikroskopie anzuwenden. Seine Arbeiten führten nun im TOP NANO 21, dem Schweizer Förderprogramm für Nanotechnologie, zu einer völlig neuen Abbildungstechnik, der Digitalen Holografischen Mikroskopie. Mit DHM lässt sich die Wellenfront – direkt basierend auf dem Hologramm – mit einer Digitalkamera aufnehmen und auf dem Rechner rekonstruieren. «Mit diesem Verfahren erhält man simultan Amplituden- und Phaseninformation, abgeleitet von der komplex rekonstruierten Wellenfront», erklärt Christian Depeursinge. Gerade die Phaseninformation gibt Kenntnis über die Morphologie, Grundlage für die 3D-Darstellung des Objekts. «Mit der Rekonstruktionsmethode berechnen wir die Ausbreitung der komplexen optischen Wellenfront, die vom Objekt gebeugt wird. Damit können wir den Brechungsindex und/oder den Umriss des Objekts mit einer Genauigkeit im Nanometerbereich entlang der optischen Achse festlegen.» Je nach verwendetem Objektiv und Art der Probe erzielt das Mikroskop eine Auflösung bis zu 0,6 nm entlang der optischen Achse und 300 nm seitlich. Das Verfahren ist robust, weist wenig Rauschen auf, was in einer hohen Geschwindigkeit und einer



Die Gründer der Lyncee Tec SA, Yves Emery (links) und Etienne Cuche, erörtern Fragen der Mikroskop-Montage. (Bild: Elsbeth Heinzelmann)

hohen Auflösung resultiert. Mit DHM lässt sich ein Hologramm bei Videofrequenzen (25 Hz) erstellen, wobei die Rekonstruktionsrate bei 10 Bildern pro Sekunde liegt.

Die genaue 3D-Bestimmung von Zellen und Gewebe-Zytoarchitektur liefert wertvolle Angaben für Biologie und Medizin, beispielsweise für grundlegende Untersuchungen von Membranen und Zellen oder der Dichte und des dynamischen Verhaltens von Biozeptoren. Dank der raschen Bildakquisition und Wellenfront-Rekonstruktion ist die dynamische Beobachtung schnell ablaufender biologischer Phänomene in Verbindung mit der Stimulation erregbarer Zellen möglich. Voraussetzung für die effiziente Bildrekonstruktion der Wellenfront ist eine anspruchsvolle Software, welche die EPFL-Wissenschaftler in mehrjähriger Forschung erarbeiteten. Die DHM-Methode könnte bisher undenkbbare Anwendungen erschliessen. Ein Beispiel dafür sind die Pharma-Wissenschaften, wo DHM erstmals ein funktionelles

Bild des Zellaustausches und der durch medizinische Substanzen verursachten Einwirkungen liefert. Für Diagnostotechnologien, die sich dichte Anordnungen sensitiver Pads zu Nutze machen, bietet holografische Mikroskopie die Möglichkeit, Biochips kleiner zu dimensionieren und das bisher benötigte Probenvolumen zu reduzieren.

Starke Partner im Verbund

Mit von der Partie ist im Projekt des TOP NANO 21 Dr. Pierre Marquet vom Institut de Physiologie, mit dem Christian Depeursinge seit Jahren kooperiert. Er setzt DHM in seinen Forschungsarbeiten unter der Federführung von Professor Pierre Magistretti ein. «Wir konnten Neuronen in Kultur mit bisher nicht erreichbarer Auflösung abbilden», so der Forscher der Uni Lausanne. «DHM ist ausserordentlich empfindlich gegenüber Veränderungen und Bewegungen – wie den metabolischen Aktivitäten der Zellen – auf Nanometerebene.» Da die Methode kein Scannen benötigt und die Bildakquisition parallel mit grosser Bandbreite erfolgt, ist sie besonders rapid. Damit sind auch schnelle Bewegungen von Membranen oder Zytoplasmen gut zu beobachten. «Die Abbildung in Echtzeit ermöglicht es, Proben rasch zu analysieren, Vibrationen kleiner Objekte und selbst geringste Deformationen festzustellen.» Selbst Änderungen in der Morphologie der Probe unterhalb einer Wellenlänge konnten die Forscher einwandfrei detektieren. Dank der kontaktlosen Beobachtung und der Verwendung eines Lasers sehr geringer Intensität ist die Messung

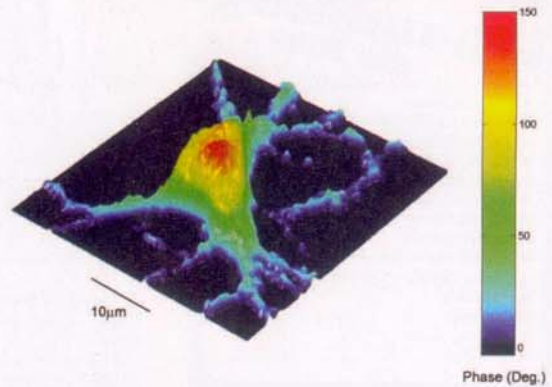
Treffpunkt der Nano-Welt in St. Gallen

Neueste Hightech-Resultate aus dem TOP NANO 21 stehen im Brennpunkt der Nano Conference, die vom 9. bis 11. September 2003 auf dem Gelände der OLMA St. Gallen über die Bühne geht. Renommierete Wissenschaftler aus aller Welt treffen sich auf dieser Plattform für Innovation mit Industrievertretern zum Gedankenaustausch. In einer Poster session zeigen sie über 200 Projektergebnisse aus Life Science, Werkzeuge und Sensoren, Optik und Elektronik, Material und Oberflächen, Dienstleistungen sowie Aus- und Weiterbildung. Die gleichzeitig stattfindende nanofair bietet attraktive Sonderschauen wie Nano-Entwicklungen aus dem Gastland USA, ein International & Exhibitors Forum und One-to-One Meetings für massgeschneiderte «Nano-Partnerschaften».

Informationen: www.nanofair.ch

Informationen zum TOP NANO 21: www.ethrat.ch/topnano21/

nicht invasiv. Damit bleiben Zellen und Gewebekulturen unberührt durch Farbstoffe oder toxische Agenten, wie sie sonst zur Beobachtung verwendet werden. «Sowohl morphologische wie funktionelle Untersuchungen sind an lebenden Präparationen durchführbar», so Pierre Marquet. «Die Kulturen können mehrere Stunden, ja Tage am Leben erhalten wer-



Anwendungsbeispiel: Forschung in Zellbiologie
Als nicht invasive Technologie ist DHM besonders interessant für Beobachtungen in Life Science und Zellbiologie. Forscher an der Uni Lausanne verfolgten Änderungen in der Morphologie von neuronalen Zellen nach Erhöhung ihrer elektrischen Aktivität. Diese Weltneuheit erfolgte in Echtzeit und auf Nanometerebene. (Bild: Lyncee Tec)

Inserat

BALLUFF
Sensors Worldwide

Minis – Miniaturisierte Sensorik von Balluff
Das innovative Programm kleiner und kleinster Sensoren für Handling und Montage.
Balluff – Ihr Sensor-Experte für alle Aufgaben in der modernen Automation.

mini.s
die neue Sensor-Dimension

- Induktive Sensoren
- Magnetfeld-Sensoren
- Optoelektronische Sensoren
- Analog-Wegsensoren
- Induktive Wegsensoren
- Identifikations-Systeme

mehr INFOS unter:
www.balluff.ch

BALLUFF Sensortechnik AG Riedstrasse 6 8953 Dietikon
Telefon 043 322 32 40 Telefax 043 322 32 41 E-Mail: sensortechnik@balluff.ch

den, was auch Langzeitstudien an Zellen gestattet.»

Optikwerkzeug für Life Science

DHM kommt vielen Anforderungen der Lebenswissenschaften entgegen. «Der Markt verlangt quantitative Phasenkontrastbilder mit Nanometerauflösung, speziell in der Biologie- und Medizinforschung», stellt Dr. Yves Emery fest. Als Mitarbeiter im Projekt möchte er die DHM-Technologie zusammen mit Forscherkollege Dr. Etienne Cuche kommerziell verwerten. Die beiden gründeten dazu im Mai 2003 das Spin-off Lyncee Tec SA. «Es besteht ein wachsendes Bedürfnis nach nicht invasiven Techniken für das Handling von Zellkulturen, beispielsweise im Wirkstoffscreening, und nach einer raschen und leicht zu benutzenden 3D-Mikroskopiemethode in neuen Gebieten wie der Zelltechnik.» Die von den Jungunternehmern angepeilten Marktsegmente sind einerseits die Werkstoffwissenschaften mit Oberflächenanalyse, Mikrotechnik, Mikroelektronik, Halbleiter, Mikrooptik und Messtechnik. Ebenfalls im Visier stehen andererseits die Lebenswissenschaften mit Anwendungen in Zellbiologie, Lebensmittel, Pharma und Biochips.

Mail-box

Dr. Christian Depeursinge
Laboratoire de Photonique Avancée
Institut de l'Imagerie, d'Optique et d'Ingénierie Biomédicales, EPFL
1015 Lausanne, Tel. 021 693 6177
christian.depeursinge@epfl.ch

Dr. Yves Emery, Lyncee Tec SA
Rue du Bugnon 7, 1005 Lausanne
yves.emery@lynceetec.com

«DHM ist ideal für die Qualitätskontrolle in Produktionsketten sowie in Forschung und Entwicklung», ergänzt Etienne Cuche. «Sie hilft, die Produktqualität zu verbessern, Kosten zu senken und die Produktivität zu erhöhen.» Als der Holografie-Entdecker Dennis Gabor im Jahr 1971 den Nobelpreis für Physik erhielt, meinte er, er schäme sich fast, wegen einer derart einfachen Erfindung so ausgezeichnet zu werden. Der Budapester Ingenieur würde staunen, könnte er sehen, wie drei Jahrzehnte später EPFL-Forscher seinen genialen Geistesblitz zu einem zukunfts-trächtigen Optikwerkzeug weiter entwickelten. ■

Elsbeth Heinzelmänn
Journalistin Technik und Wissenschaft, Basel