

Gefördert durch:



Bundesministerium  
für Wirtschaft  
und Energie

aufgrund eines Beschlusses  
des Deutschen Bundestages

### Projektinformationen

IGF-Nr.:	19083 N
Laufzeit:	07/2016 – 06/2018
Fördersumme:	183.900 EUR
Industrieleistungen:	29.864 EUR

### Forschungseinrichtungen

- Fraunhofer-Institut für Produktionstechnologie IPT, Aachen

### Projektbegleitender Ausschuss

- ACQUIFER AG <sup>KMU</sup>
- Advanced Light Microscopy Facility
- ALS Automated Lab Solutions GmbH <sup>KMU</sup>
- Berliner Glas KGaA
- Eppendorf AG
- Greiner Bio-One GmbH
- HOLOEYE Photonics AG <sup>KMU</sup>
- InCelligence <sup>KMU</sup>
- ITK Dr. Kassen GmbH <sup>KMU</sup>
- Lead Discovery Center GmbH <sup>KMU</sup>
- LIFE & BRAIN GmbH <sup>KMU</sup>
- LIFE IMAGING GmbH & Co. KG <sup>KMU</sup>
- OLYMPUS SOFT IMAGING SOLUTIONS GmbH
- Physik Instrumente GmbH & Co. KG <sup>KMU</sup>

- **Optische Messtechnik**
- **Phasenkontrastmikroskopie**

## Adaptive Phasenkontrastmikroskopie zur Eliminierung des Randeffektes in Mikrotiterplatten (APERITif)

### Die Herausforderung

Die Phasenkontrastmikroskopie, eines der wichtigsten mikroskopischen Kontrastverfahren um transparente, ungefärbte Zellen sichtbar zu machen, ist ein Durchlichtmikroskopieverfahren, bei dem eine Ringblende in den Beleuchtungsstrahlengang eingebracht und das Licht im Objektiv über einen Phasenring geleitet wird. Überlagern sich Ringblendenabbild und Phasenring, entstehen Phasenkontrastbedingungen.

Bei der Zellkulturherstellung, z. B. in der Stammzellforschung, werden standardisierte Mikrotiterplatten (MTP) zur Kultivierung verwendet. Diese bestehen aus mehreren zylindrischen Einzelgefäßen, den „Wells“. Innerhalb eines Wells bildet das Nährmedium in Abhängigkeit vom Verhältnis seiner Kohäsion zur Adhäsion zur Gefäßwand in der Regel eine Oberflächenwölbung aus, so dass eine Flüssigkeitslinse entsteht. Die konkave Wölbung der Flüssigkeitslinse bewirkt sowohl Verzerrungen des Ringblendenabbildes als auch Verschiebungen durch den sich im Bildfeld verändernden Tan-

gentialwinkel, wodurch die Überlagerung von Ringblende und Phasenring insbesondere in den stärker gewölbten Randbereichen nicht mehr in der Fläche erstreckend einzustellen ist. Dieser Effekt ist umso extremer, je kleiner der Durchmesser eines Wells ist. Das Phasenkontrastverfahren versagt hier und ein Großteil der Zellen kann nicht untersucht werden.

### Die Innovationsidee

Ziel des IGF-Projekts APERITif ist die vollständige Wiederherstellung des Phasenkontrasts durch eine automatische optische Kompensation der unerwünschten Effekte durch die Flüssigkeitslinse. Adaptive Phasenkontrastmikroskopie kann diese Verzerrungen und Verschiebungen rein optisch ausgleichen, indem adaptive optische Elemente in den Strahlengang eingebracht werden.

### Die Ergebnisse

Ein adaptives, flüssigkeitsgefülltes Prisma, das im Rahmen des Projektes entwickelt wurde, wird in die Beleuchtung ein-

## Das Programm „Industrielle Gemeinschaftsforschung“ (IGF) ...

... fördert Studien zur industriellen Machbarkeit von Innovationsideen und beschleunigt so Technologietrends. Dazu arbeiten Wissenschaft, Industrie und Politik zusammen:

0 Das **BMW**i fördert vorwettbewerbliche, innovationsorientierte Forschung mit dem IGF-Programm.

1 **Industrie** und **Wissenschaftler** entwickeln Innovationsideen und geben Projektimpulse.

2 **AiF-Forschungsvereinigungen**, wie die F.O.M., finden Forschungspartner.

3 **Wissenschaftler** von je 1-3 Forschungseinrichtungen schreiben Förderanträge.

4 **Industrieunternehmen** beraten bei der Entwicklung der Anträge.

5 Die **Forschungsvereinigungen** optimieren die Qualität der Vorhaben und der Anträge und reichen die Anträge ein.

6 Die **Arbeitsgemeinschaft industrieller Forschungsvereinigungen (AiF)** lässt die Anträge durch **Experten aus Industrie und Wissenschaft** begutachten.

7 Das **BMW**i finanziert die Forschungskosten bis max. 250/500/750 T EUR.

8 Die **Industrie** teilt sich die Administrationskosten.

9 Die **Wissenschaftler** der Forschungseinrichtungen führen die Forschung durch.

10 Die **Forschungsvereinigungen** stellen einen regen Technologietransfer zwischen den **Forschungseinrichtungen** und den 10-15 Unternehmen eines projektbegleitenden **Industrieausschusses** mit mindestens 50 % KMU sicher.

11 Die **Industrie** steuert das Projekt mit, berät während der Forschungsphase, validiert die Ergebnisse, absorbiert sie und verwertet sie.

**Gemeinsam stärken wir die Innovationskraft des Mittelstands und den Fachkräftenachwuchs in Deutschland.**

gebracht, so dass der Tangentialwinkel der Flüssigkeitslinse kompensiert werden kann. Dazu wird das Prisma über Motoren im Winkel geneigt. Ein Strahlteiler erlaubt die gleichzeitige Beobachtung von Ringblendenabbild und Phasenkontrastbild. Die Ringblende wird durch eine transmissive Flüssigkristallanzeige (LCD) erzeugt, welche wie ein Smartphone-Display funktioniert. Dadurch kann die Ringblende dynamisch als Schwarz-Weiß-Matrix erzeugt und in Position sowie Form verändert werden.

Auf Basis einer kontinuierlichen Auswertung der Überlagerung im Ringblendenabbild bestimmen vollautomatische Algorithmen dann die Einstellung von Ringblende und Prisma. Die entwickelte Software erlaubt so eine automatische Aufnahme von ganzen Mikrotiterplatten mit vollautomatischer Kompensation bei verschiedenen Vergrößerungen. Dabei wird der Aufnahmebereich im Stop-and-Go-Modus abgerastert. Bei jedem Stopp wird die Art der Überlagerung durch Bildverarbeitung bestimmt, Prisma und Ringblende ausgerichtet und anschließend ein Phasenkontrastbild aufgenommen. Die Beleuchtungselemente sind in einem Adapter zusammengefasst, der sich leicht an marktübliche Mikroskope anpassen lässt.

Mit diesem Ansatz konnte der Bereich, in dem Phasenkontrast möglich ist, deutlich gesteigert werden. Je nach Vergrößerung und Wellgröße können auf diese Weise mehr als das 10-fache der Fläche unter Phasenkontrastbedingungen aufgenommen werden. Damit ist es mit dieser Lösung erstmals möglich, automatisierte adaptive Phasenkontrastmikroskopie bei Standard-Mikrotiterplatten durchzuführen.

## Die Verwertung

### KMU-Nutzen

Aufgrund der weiten Verbreitung der Phasenkontrastmikroskopie als Standardverfahren ist die wirtschaftliche Be-

deutung als hoch anzusehen. Zum einen ist das für die manuelle Mikroskopieanwendung an Mikrotiterplatten, zu anderen bei automatisierten Mikroskopiesystemen mit automatisierten Bildverarbeitungsroutinen relevant. Hier sind schonende Kontrastverfahren wichtig. Der Verzicht auf eine Fluoreszenzfärbung spart nicht nur Kosten und Zeit, sondern ist auch für viele Lebendzellenuntersuchungen von Vorteil, da keine externen Störfaktoren in Form von Farbstoffen vorliegen.

Im Mikroskopiebereich zählen Systemintegration und Softwareentwicklung zu den Aufgabenfeldern der Gesamtsystemanbieter. Mikroskopkameras, Scanningtische und Beleuchtungen sind in der Regel Zukaufteile, die von spezialisierten Firmen entwickelt werden. Die Platzierung der Meniskuseffekt-Kompensationseinheit am Markt ist in gleicher Weise denkbar. Für die als Zulieferer in Frage kommenden Unternehmen ist eine Modularisierung des Aufbaus vorteilhaft. So können einzelne Submodule, wie das adaptive Prisma mit seiner präzisen Mechanik, von darauf spezialisierten Unternehmen, wie die Physik Instrumente GmbH & Co. KG, angeboten werden. Das gleiche gilt für die adaptive Ringblendeneinheit, bei der die Displaytechnologie der HOLOEYE Photonics AG zum Einsatz kommen kann. Die Modularisierung öffnet zudem die Technologie für KMU. So können z. B. Anbieter von Komplettsystemen auch auf KMU-produzierte Module zurückgreifen und sie in ihre Geräte integrieren.

### Geplante Umsetzung

Weiterführende Kooperationen und Verwertungsaktivitäten sind geplant, z. B. Veröffentlichungen, Folgeprojekte und Messeauftritte in Zusammenarbeit mit den im projektbegleitenden Ausschuss vertretenen sowie weiteren in Frage kommenden Industrieunternehmen. Auf diese Weise wird das hier entwickelte Kompensationsverfahren gegen den Meniskuseffekt in konkrete Produktinnovationen überführt werden.

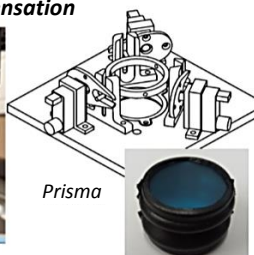
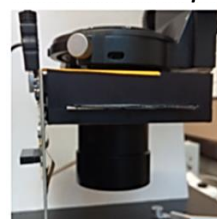
Für eine ausführlichere Fassung des Abschlussberichts wenden Sie sich bitte an:

### Kontakt / Impressum

Forschungsvereinigung F.O.M.  
Werderscher Markt 15, 10117 Berlin  
030 4140 2139,  
info@forschung-fom.de  
www.forschung-fom.de



### Elemente zur Kompensation



Displayhalterung und adaptives Prisma als Komponenten zur Kompensation.