

# Miniaturisierte parallele Mikroskopie in der Systembiologie

Eike Slogsnat, Robert Buschlinger, Karl-Heinz Brenner  
*ziti*, Lehrstuhl für Optoelektronik, Universität Heidelberg  
<mailto:eike.slogsnat@ziti.uni-heidelberg.de>

Es wird ein konzeptionelles Design für ein miniaturisiertes paralleles Fluoreszenz-Mikroskop vorgestellt, welches GRIN-Linsen als mikrooptische Objektive enthält. Ein Demonstrator für den Abbildungsstrahlengang wurde aufgebaut und simulierte Abbildungen mit den experimentellen Aufnahmen des Demonstrators verglichen.

## 1 Einführung

Bei genomweiten Experimenten in der Systembiologie wird eine große Anzahl von Einzelexperimenten mittels Fluoreszenz-Mikroskopie untersucht. Typischerweise werden dafür automatisierte Weitfeld-Mikroskope verwendet.

Um diesen sehr zeitaufwendigen Prozess zu beschleunigen, wurde ein optisches System für ein miniaturisiertes paralleles Mikroskop entwickelt.

## 2 Parallelisierung

Das Verhältnis von Linsendurchmesser zu Field of View ( $D_L/FOV$ ) ist ein limitierender Faktor für die Parallelisierung. Die Scanzeit  $T$  hängt neben dem Grad der Parallelisierung in Scanrichtung  $N_{scan}$ , der Scanstrecke  $d_{scan}$  und der Scangeschwindigkeit  $v_{scan}$ , im Wesentlichen von diesem Faktor ab [1]:

$$T = \frac{D_L}{FOV} \frac{1}{N_{scan}} \frac{d_{scan}}{v_{scan}} \quad (1)$$

## 3 Skalierung eines optischen Systems

Wird ein optisches System herunterskaliert (Skalierungsfaktor  $s < 1$ ), werden auch die Off-Axis-Bildfehler skaliert (Abb. 1), was sich günstig auf das  $FOV$  auswirkt.



Abb. 1 Skalierte Wellenfronten

Es lässt sich zeigen, dass durch Herunterskalieren ein günstigeres Verhältnis  $D_L/FOV$  entsteht. Zusätzlich kann aufgrund der kompakteren Bauform die Parallelisierung in Scanrichtung besser ausgenutzt werden.

Für die gesamte Scanzeit  $T$  eines skalierten Systems gilt dann:

$$T \sim s\sqrt{s} \quad (2)$$

## 4 Konzeptionelles Design

Das optische System des miniaturisierten parallelen Mikroskops besteht aus drei Schichten: Zwischen zwei auf Glassubstraten fixierten GRIN-Linsen-Arrays befindet sich eine Strahlteilerschicht [2], um das Anregungslicht auf das Objekt zu führen (Abb. 2).

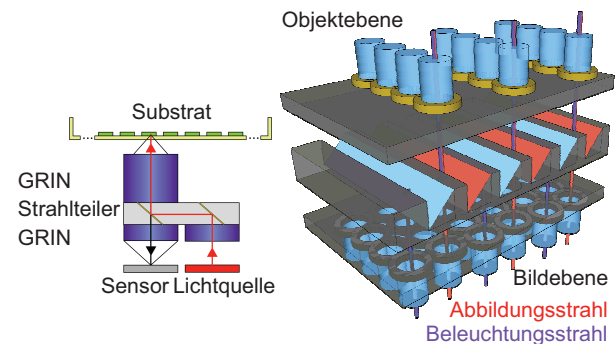


Abb. 2 Links: Objektiv mit Beleuchtungs- und Abbildungsstrahlengang; Rechts: Entwurf des Mikroskopaufbaus

Die Simulation eines Objektivs mit optimierten Herstellungsparametern der GRIN-Linsen und einer Apertur nach der objektseitigen GRIN-Linse zeigt eine beugungsbegrenzte Abbildung (Abb. 3).

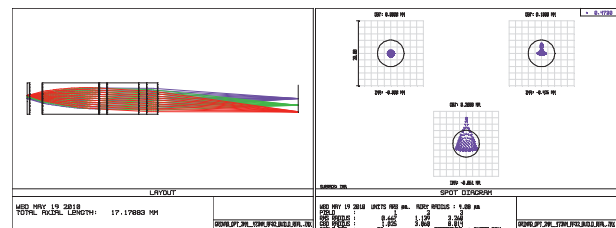


Abb. 3 Links: Layout des Objektivs; Rechts: Spotdiagramm

Das Objektiv ist für den Fluoreszenzfarbstoff DAPI ausgelegt, der seinen Emissionspeak bei 461nm hat. Da noch keine Korrektur der chromatischen Aberrationen stattfindet und somit eine monochromatische Lichtquelle im Versuchsaufbau notwendig ist, wurde eine Wellenlänge von 473nm gewählt, die der gängiger Laser entspricht.

Die Eigenschaften des Systems sind:  $NA=0,3$ ;  $D_L=2\text{mm}$ ;  $FOV=400\mu\text{m}$ ; Vergrößerung=4,25. Der RMS des Spotdurchmessers am Bildfeldrand beträgt  $3,26\mu\text{m}$ .

### 5 Demonstrator

Um den Zusammenbau und die Abbildungsqualität zu untersuchen, wurde ein Demonstrator realisiert. Dieser enthält noch keinen Beleuchtungsstrahlengang. Die Strahlteilerschicht wurde durch ein Glassubstrat ersetzt. Die Herstellungsparameter der GRIN-Linsen wurden nicht optimiert und es wurde keine Apertur nach der ersten GRIN-Linse eingeführt. Der Demonstrator besteht aus 2 x 2 Objektiven (Abb. 4) und es wurde eine Kamera mit einer Pixelgröße von  $2,2\mu\text{m} \times 2,2\mu\text{m}$  verwendet.

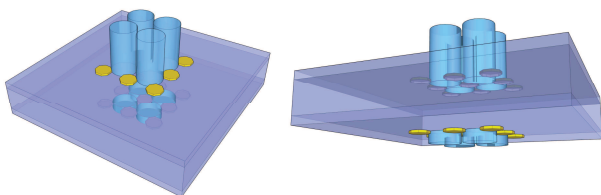


Abb. 4 Optisches System des Demonstrators

Eine Simulation des optischen Systems des Demonstrators zeigt aufgrund der nicht-optimierten GRIN-Linsen und der fehlenden Apertur keine beugungsbegrenzte Abbildung (Abb. 5).

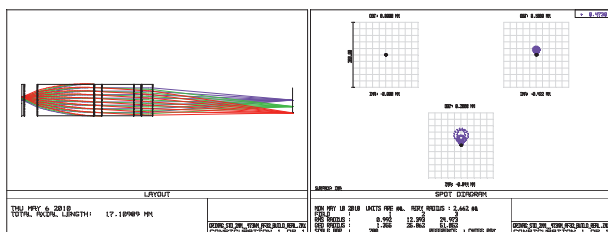


Abb. 5 Links: Layout des Objektivs; Rechts: Spotdiagramm

Die Eigenschaften des Systems sind:  $NA=0,44$ ;  $D_L=2\text{mm}$ ;  $FOV=400\mu\text{m}$ ; Vergrößerung=4,29. Der RMS des Spotdurchmessers am Bildfeldrand beträgt  $24,97\mu\text{m}$ .

### 6 Demonstrator – Aufbau

Um die GRIN-Linsen auf den Glassubstraten zu fassen, wurden  $150\mu\text{m}$  hohe Achtecke aus SU-8 hergestellt und die Linsen mit NOA fixiert (Abb. 6).

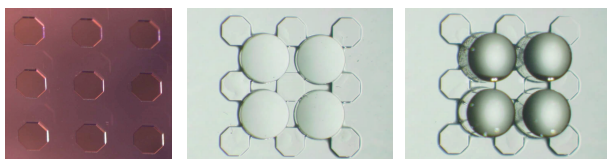


Abb. 6 Links: SU-8 Haltestrukturen; Mitte: Bildseitige GRIN-Linsen; Rechts: Objektseitige GRIN-Linsen

### 7 Demonstrator – Abbildungsqualität

Zur Abschätzung der Abbildungsqualität wurden verschiedene geometrische Strukturen mit einem Durchmesser von  $400\mu\text{m}$  (entspr.  $FOV$ ) mit ZEMAX abgebildet und mit den Aufnahmen aus dem Demonstrator verglichen (Abb. 7 und Abb. 8).

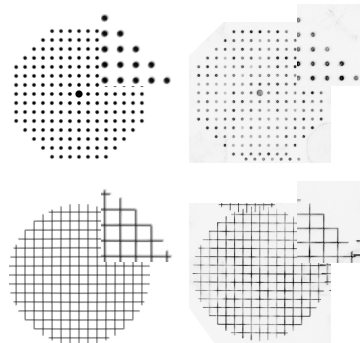


Abb. 7 Oben: Punkte ( $\varnothing = 10\mu\text{m}$ ) mit  $25\mu\text{m}$  Abstand; Unten: Gitter mit  $25\mu\text{m}$  Periode und  $2\mu\text{m}$  Linienstärke (links Simulation, rechts Demonstrator)

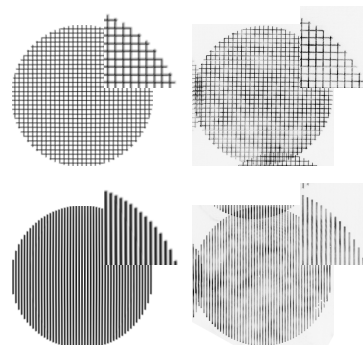


Abb. 8 Oben: Gitter mit  $12,5\mu\text{m}$  Periode und  $2\mu\text{m}$  Linienstärke; Unten: 125 Linienpaare/mm (links Simulation, rechts Demonstrator)

Aus dem Vergleich der Simulationsbilder mit den Aufnahmen des Demonstrators wird deutlich, dass selbst in den Randbereichen der Demonstrator schärfer abbildet als die Simulation voraussagt.

### 8 Zusammenfassung

Wir haben gezeigt, dass mit paralleler Mikroskopie, die auf GRIN-Linsen basiert, gute Ergebnisse erzielt werden können. Hiermit lässt sich der Parallelisierungsgrad nahezu unbegrenzt steigern. Im Experiment wurden selbst 125 Linienpaare/mm noch sehr gut aufgelöst.

### Literatur

- [1] D. Wohlfeld: „Simulation, Analysis, and Fabrication of Miniaturized Components with Applications in Optical Interconnects and Parallel Microscopy“, *Dissertation*, Universität Heidelberg (2009)
- [2] D. Wohlfeld, E. Slognat, K.-H. Brenner: „Integrated beam splitters for array microscopy in life science“, *DGaO-Proceedings 2009*, ISSN: 1614-8436 (2009)