



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Entwicklung und Erprobung eines voxelbasierten Bildgebungs-
verfahrens für dreidimensionale (3D) Tumor-Zellkulturen aus der
Kombination von Raman- und Fluoreszenzspektroskopie**

Autor: Steffen Manser
Institut / Klinik: Center for Mass Spectrometry and Optical Spectroscopy
(CeMOS)
Doktorvater: Prof. Dr. M. Rädle

In der rapide fortschreitenden Landschaft der medizinischen Forschung manifestieren sich kontinuierlich bemerkenswerte Innovationen. Insbesondere die Entstehung von dreidimensionalen Zellkulturen, die eine authentische und räumliche Reproduktion komplexer zellulärer Strukturen ermöglichen, stellt einen bedeutenden Meilenstein dar. Diese innovative Dimension erlaubt die präzisere Untersuchung räumlicher Gefüge sowie intrazellulärer Abläufe. Um dieses Potential effizient zu erschließen, bedarf es jedoch adäquater Analysemethoden. Unter diesen Methoden erlangt die Lichtscheibenmikroskopie, die konventionell in Verbindung mit dem Fluoreszenz-Effekt eingesetzt wird, zunehmende Bedeutung. Die Verschmelzung eines fluoreszenzbasierten Lichtscheibenmikroskops mit der Raman-Spektroskopie verleiht dieser Methode eine erhöhte Anwendbarkeit im Kontext dreidimensionaler Zellkulturen und ermöglicht eine schonende, nichtinvasive Abbildung der strukturellen Gegebenheiten innerhalb der zellulären Matrix.

Die Konstruktion eines solch komplexen Geräts ist maßgeblich von der präzisen Selektion und Integration einzelner Komponenten geprägt. Durch die Implementierung zweier koaxial ausgerichteter Laserquellen wird eine breitbandige Anwendung im optischen Spektrum ermöglicht. Der Einsatz eines akustooptischen durchstimmbaren Filters mit enger Bandbreite und hoher Wiederholgenauigkeit gestattet eine präzise Isolation der Signale spezifischer Moleküle. Dank geringer Lichtblattdicken und einer präzisen Verfahrengenauigkeit der Bewegungsachsen können auch mikroskopisch präzise Schnitte erfasst und gezielt angefahren werden. Ein weiterer Fortschritt ergibt sich durch die Anwendung von hochwertigen optischen Komponenten in Kombination mit einer hochwertigen Kamera, welche ein großflächiges Abbildungsgebiet ermöglicht und den gesamten Zellquerschnitt vollumfänglich darstellen kann. Die intrinsische Stabilität der individuellen Gerätekomponenten gewährleistet erwartungsgemäße Reproduzierbarkeit der Ergebnisse.

Hinsichtlich der gewählten Zellkultur hat sich insbesondere die Ko-Kultur aus Ht29-Zellen und Fibroblasten bewährt, die als etabliertes Standardmodell fungiert und einen soliden Vergleichspunkt zu Referenzgeräten bereitstellt, wodurch das Lichtscheiben-Raman-Mikroskop adäquat validiert wird. Vergleichende Untersuchungen zwischen den verschiedenen Modalitäten ergeben divergierende Ergebnisse, welche sich insbesondere auf die Charakterisierung von C-H-Verbindungen, beispielweise im Kollagen, beziehen. Dies betont den Mehrwert der multimodalen Visualisierung durch das konzipierte Instrument.

Die Implementierung der einzelnen Modalitäten innerhalb des dreidimensionalen Modells offenbart differenzierte Bereiche mit variierenden Intensitätsverteilungen, die auf spezifische Molekülansammlungen zurückzuführen sind. Technisch betrachtet etabliert sich das entwickelte System als funktionsfähig, jedoch bedarf es noch weiterer Optimierungen an bekannten Engstellen. Trotz dieser Aspekte kann das System bereits im klinischen Umfeld Anwendung finden, besonders in Synergie mit anderen Geräten wie Massenspektrometern. Ebenso eröffnet es die Möglichkeit zur Untersuchung von Zellkulturen ohne Beeinflussung biochemischer Prozesse, wodurch anfängliche Erkenntnisse gewonnen werden können, während potenziell störende Verfahren wie das "Clearing" vermieden werden.

Im Kern lässt sich konstatieren, dass die Verschmelzung diverser Modalitäten sowohl Einblicke in die molekulare Zusammensetzung als auch in morphologische Unterschiede gestattet, was wiederum neuartige Perspektiven zur ganzheitlichen Charakterisierung von Proben eröffnet. Nichtsdestotrotz

bleibt die kontinuierliche Entwicklung des präsentierten Lichtscheiben-Raman-Mikroskops erforderlich, um vorhandene Defizite zu beseitigen.