



**DEUTSCHER ZUKUNFTSPREIS**  
Preis des Bundespräsidenten  
für Technik und Innovation

Home › Presseservice › 2006 › Nominierte 2006 › Team 2

## Fokussiertes Laserlicht lässt Zellen fliegen - Berührungsfreie Gewinnung biologischer Proben für Forschung und Diagnostik



(v.l.n.r.) Dr. rer. nat. Carsten Hoyer, Dr. rer. nat. Karin Schütze, Dr. rer. nat. Yilmaz Niyaz

### Kurzbeschreibung der Institute und Unternehmen zu ihren nominierten Projekten

#### Von der Idee zur internationalen Technologieführerschaft

Biotechnologie und Biophotonik gewannen in den vergangenen Jahren zunehmend an Bedeutung, sowohl für die Grundlagenforschung im Bereich der molekularen Biologie und Medizin als auch für die Umsetzung der gewonnenen Erkenntnisse in die Therapie, in Produkte oder Wirkstoffe. Eine der wichtigsten Aufgaben in diesem Bereich ist die exakte Aufklärung zellulärer Vorgänge auf molekularer Ebene. Solche Vorgänge führen zur genetischen Veränderung einer Zelle und somit zu Krankheiten wie Krebs. Bislang war man in der medizinischen Diagnostik auf das Auge und die Erfahrung des Pathologen angewiesen. Die neu entwickelten und etablierten molekularbiologischen Methoden erlauben dagegen detaillierte Aussagen, die für die Diagnose und Therapie unmittelbar genutzt werden können.

Doch die molekularen Ursachen der Prozesse in der Zelle lassen sich nur dann erkennen, wenn die Proben, die untersucht werden, rein sind. Das heißt, sie dürfen nicht aus einer Mischung von gesunden und kranken Zellen bestehen. Nur mit reinem Probenmaterial lässt sich eine sinnvolle und aussagekräftige Analyse bzw. Diagnose erstellen, da nur so die Ergebnisse sicher zugeordnet werden können und sich eine gezielte Therapie einleiten lässt.

Deshalb spielen berührungslose Präparationsverfahren einzelner Zellen für die Biomedizin der Zukunft eine herausragende Rolle. Ein solches Verfahren, das inzwischen in den Labors weltweit angewendet wird, hat die Firma P.A.L.M. seit 1993 entwickelt und als Technologieführer international vermarktet. Ohne jede Berührung, und damit völlig rein, schneidet ein Laserstrahl einzelne Zellen oder kleine Zellareale aus einer Gewebeprobe, treibt sie - nur basierend auf der Kraft des gebündelten Lichtes - aus der Präparatebene hinaus und transportiert sie zielgenau in ein Probengefäß. Dieses aus „Schneiden“ und „Katapultieren“ kombinierte Verfahren ist unter der Abkürzung LMPC (Laser Microdissection and Pressure Catapulting) bekannt geworden.

#### Die PALM-Technologie

Gebündelte Laserstrahlen, die über ein Mikroskop-Objektiv auf einen Durchmesser von ca. 1 µm fokussiert werden, erlauben das Fangen und Bewegen bzw. die hochpräzise Mikrobearbeitung von Zellen oder subzellulären Strukturen wie auch von nicht-biologischen Materialien. Je nach eingesetzter Laserart gibt es zwei unterschiedliche Prinzipien der Lasermikromanipulation.

Für die Optische Pinzette, Optical Tweezers, wird ein kontinuierlicher, im roten oder im nahen Infrarotbereich arbeitender Laser in ein Forschungsmikroskop eingekoppelt und durch ein Objektiv mit hoher numerischer Apertur fokussiert. Die dadurch entstehenden Strahldruckkräfte ermöglichen das Fangen, Halten und Bewegen mikroskopisch kleiner Objekte. So können beispielsweise bewegliche Organismen wie Bakterien oder Spermien festgehalten oder einzelne Individuen aus einer Mischpopulation für eine nachfolgende molekularbiologische Untersuchung herausgesucht werden.

Beim Lasermikromanipulationssystem PALM MicroBeam wird ein gepulster Ultraviolett-A-Laser ins Mikroskop eingekoppelt und durch das Objektiv auf wenige Mikrometer fokussiert. Im Fokus des Lasers entstehen so hohe Energiedichten, dass biologisches Material in einzelne Moleküle zerlegt bzw. geschnitten wird. Dieses Phänomen basiert auf der sogenannten ablativen Photozerersetzung, einem photochemischen Prozess, bei dem im schmalen Laserfokus durch die extreme Photonendichte alle chemischen Bindungen gesprengt werden. Dies geschieht in Bruchteilen von Nanosekunden, so dass kein

Hitzetransfer in die unmittelbar benachbarten Regionen stattfinden kann. Außerhalb des Laserfokusbereichs bleiben alle Biomoleküle unverändert. Verunreinigungen werden vermieden.

Zur Entnahme der ausgeschnittenen Proben mussten ursprünglich mechanische Hilfsmittel wie Nadeln oder Kapillare eingesetzt werden. Während der Laserschneidarbeiten wurde durch Zufall entdeckt, dass der Laser nicht nur zum Freipräparieren, sondern auch zum Herauskatapultieren der Zellen verwendet werden kann. Dazu wird der Laser leicht unterhalb der Probe fokussiert, die ausgeschnittenen Teilchen fliegen durch die entstehende Druckwelle aus der Objektebene heraus und werden zielgenau ins Auffanggefäß getrieben. Die Kombination aus „Laserschneiden und Laserkatapultieren“ wurde unter dem Begriff LMPC patentiert. Sie ist mittlerweile zu einer vollkommen berührungsfreien, zuverlässigen und schnellen Laserpräparationsmethode weiterentwickelt worden. Mehrere hundert Publikationen über die Lasermikrodissektion und das Laserkatapult haben gezeigt, dass der Prozess weder DNA und RNA noch Proteine beeinträchtigt. Das Gerätesystem PALM MicroBeam wurde zu einem festen Bestandteil molekularbiologischer Forschung und Analyse.

#### **Die Anwendungsmöglichkeiten**

Das LMPC-Verfahren wird zu einer Schlüsseltechnologie der modernen Biowissenschaften und der molekularen Medizin: Es eröffnet in der funktionellen Gen- und Proteinforschung völlig neue Einblicke in die zellulären Mechanismen und Zusammenhänge bei der Entstehung von Krankheiten. Nur anhand reiner Proben lassen sich in der biomedizinischen Forschung sinnvolle molekularbiologische Analysen erstellen, funktionelle Zusammenhänge zweifelsfrei erkennen oder Fehlfunktionen schnell und eindeutig diagnostizieren. Die Anwendungsfelder der Lasermikrodissektion sind daher vielseitig und reichen von der Isolierung einzelner Chromosomen oder Zellkompartimente über die Gewinnung ausgesuchter Zellen aus fixierten Gewebeproben bis hin zu Patientenproben wie Sputum, Zellabstrichen oder Biopsaten. Aber auch aus Zellkulturen können Zellen lebend für eine nachfolgende klonale Vermehrung gewonnen werden. Sogar ganze Organismen überleben den laserbasierten Transport.

Das PALM-MicroBeam-System hat sich nicht nur in der Tumorforschung etabliert, es findet zunehmend auch Eingang in die Botanik zur Erforschung der Zusammenhänge in Pflanzenzellen. Ganz aktuell und sehr interessant sind auch die Anwendungen in der Forensik, wo beispielsweise laserisolierte Speichel-, Haar- und Spermienproben oder Hautzellen direkt vom Spurensicherungsband, also berührungslos, in die Probenbehälter des kriminaltechnischen Labors katapultiert werden und so zur Ermittlung des „genetischen Fingerabdrucks“ für die Überführung des Täters bereitstehen. Eine weitere interessante Perspektive ist das Isolieren und „Aufreinigen“ lebender Zellen in der Stammzellforschung. Sogar die sehr empfindlichen Stammzellen lassen sich katapultieren, ohne dass sie ihre Stammzeleigenschaften verlieren, so dass differenzierte von nicht-differenzierten Stammzellen gezielt isoliert und weiterkultiviert werden können. Ausgewählte Zellklone bilden die Basis für Stammzellforschung und -therapie oder für die Gewebezüchtung in der regenerativen Medizin. Reine Lebendzellpopulationen sind zunehmend auch für die Entwicklung und Testung spezifischer Wirkstoffe in der personalisierten Medizin unentbehrlich. Dies hat in der Arzneimitteltestung zu unglaublicher Zeitersparnis geführt.

Das Potenzial der Lasermikromanipulation ist noch lange nicht ausgeschöpft. Vor allem die Erforschung zellulärer Reaktionen auf Wirkstoffe könnte für die patientenspezifische Therapie eine wichtige Rolle spielen. Die Kombination aus Lasermikrobearbeitung wie Mikroinjektion oder Zellfusion mit der Katapulttechnik zum Aussortieren der erfolgreich manipulierten Zellen ist eine Herausforderung und bietet mit entsprechender Automatisierung innovative Anwendungen für Stammzellforschung und regenerative Medizin.

#### **Die PALM-Systeme**

Die aktuelle Generation der PALM-Systeme besteht aus einem inversen Forschungsmikroskop (ZEISS Axiovert), einem Laser bestimmter Wellenlänge mit ausgesuchter Strahlqualität und einem speziell für die Lasermikromanipulation entwickelten Softwarepaket zur automatisierten Probengewinnung. Ein spezieller Mikroskopisch führt mehrere Objektträger oder Probengefäße im Mikrotiterformat mit höchster Präzision, und ein innovativer RoboMover sortiert die katapultierten Proben in bis zu 96 einzelne Gefäße einer Mikrotiterplatte. Eine Bildanalysesoftware unterstützt den Anwender beim Auffinden der relevanten Zellen.

#### **Die Firmengeschichte**

Die Firma P.A.L.M. wurde von Karin und Raimund Schütze im Jahr 1993 als GmbH mit Firmensitz im privaten Reihenhaus in Wolfratshausen gegründet. Der Erfolg der Firma beruhte im Wesentlichen auf der Synergie von technischem Know-how, Gefühl bzw. Geduld für Präzision und Mut zu alternativen Lösungswegen, kombiniert mit anwenderorientierter Forschung und Entwicklung. Der Goldschmiedemeister Raimund Schütze war verantwortlich für die Entwicklung und Produktion sowie Installation und Service der Lasermikroskopsysteme, während Karin Schütze für die anwendungsorientierte Forschung, das Systemdesign und die Vermarktung (wissenschaftliches Marketing und Vertrieb) zuständig war. Die ersten Systeme wurden im Keller entwickelt und aufgebaut. Der Hobbykeller diente als Forschungs- und Testlabor, das Kinderzimmer war Büro, die Küche der Besprechungsraum, und im Wohnzimmer fand die Endmontage statt.

Stetiges Wachstum als Folge von intensiver Forschungsarbeit, Publikationen in Fachzeitschriften und Präsenz auf wissenschaftlichen Symposien führten zur personellen und räumlichen Expansion, so dass 1998 mit zehn Mitarbeitern ein neues Firmengebäude in Bernried am Starnberger See bezogen werden konnte. Zwei Jahre später hatte die Firma 24 Mitarbeiter. Ein P.A.L.M.-eigenes Labor für molekularbiologische Untersuchungen der mikrodisssektierten Proben wurde aufgebaut. Zur Unterstützung des Unternehmenswachstums gewann die P.A.L.M. GmbH Finanzinvestoren und wurde im August 2000 in eine Aktiengesellschaft umgewandelt. Mittlerweile sind weltweit mehrere hundert PALM-Systeme in Forschungslabors und Universitätskliniken installiert. Die P.A.L.M. Microlaser Technologies GmbH beschäftigt rund 60 Mitarbeiter. Der Vertrieb der PALM-Systeme erfolgt über das

Vertriebsnetz von Carl Zeiss und weiteren internationalen Händlern. Ein Team hoch qualifizierter und engagierter Mitarbeiter sorgt für exzellente Kundenbetreuung und Vertriebsunterstützung, zuverlässige Produktion und Service sowie innovative System- und Applikationsentwicklung.

P.A.L.M. war und ist an mehreren staatlich geförderten Forschungsprojekten beteiligt mit dem Ziel, den Anwendern innovative Lösungen für zukunftsweisende Aufgaben bereitzustellen - eine wichtige Voraussetzung, um die internationale Technologieführerschaft zu erhalten und auszubauen. Seit September 2004 gehört die P.A.L.M. AG zur Carl-Zeiss-Gruppe. Heute ist die P.A.L.M. Microlaser Technologies GmbH eine 100-prozentige Tochter der Carl Zeiss Microlmaging GmbH.

Das Vorschlagsrecht zum Deutschen Zukunftspreis obliegt den führenden deutschen Einrichtungen aus Wissenschaft und Wirtschaft sowie Stiftungen.

Das Projekt „Fokussiertes Laserlicht lässt Zellen fliegen - Berührungsfreie Gewinnung biologischer Proben für Forschung und Diagnostik“ wurde vom Philip-Morris-Forschungspreis vorgeschlagen.