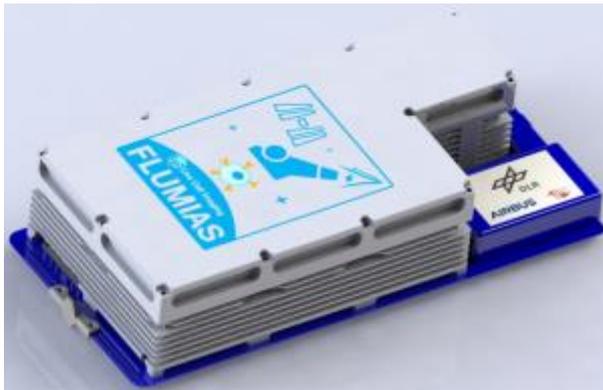


# Infos zum FLUMIAS-Mikroskop auf der ISS

Am Freitag, den 29. Juni 2018 ist ein Mikroskop zur [Internationalen Raumstation](#) geflogen. Die "Commercial Resupply Service Mission 15" ([SpaceX CRS-15](#)) hat, unter anderem, das FLUMIAS Demonstrator Experiment zu [Alexander Gerst](#) in den Orbit befördert. Das Experiment gehört zur [ISS Horizons Mission](#) des DLR – die Fragestellung zum Experiment lautet: Funktioniert es, auf der ISS, von lebenden Zellen Fluoreszenz-Bilder mit einem automatisierten Mikroskop zu machen?



Entwickelt und gebaut wurde das Gerät von der Firma [TILL I.D.](#) (Anpassung für den Einsatz auf der ISS & Projektleitung durch [Airbus D&S](#)) und die wissenschaftliche Seite wird von der Arbeitsgruppe um Prof. Ullrich an der [Uni Magdeburg](#) betreut.

## Warum?

Wir wissen schon sehr sehr viel über die verschiedensten Zelltypen – größtenteils allerdings von Proben, die auf Glas aufgewachsen sind, und immer unter Einfluss der Schwerkraft. Auf der Erde können wir in Falltürmen für kurze Zeit "Schwerelosigkeit" auf eine Probe wirken lassen, bei Parabelflügen teilweise einige Dutzend Sekunden. In diesen kurzen Zeitspannen hat man bereits Reaktionen und teilweise komplette Anpassungen nach 42s nachgewiesen. Folglich will man nun Untersuchungen in längeren Phasen der Schwerelosigkeit durchführen. Mit dem Mikroskop auf der ISS soll die Morphologie von Zellen in der Schwerelosigkeit untersucht werden, also wie sich das Zytoskelett, die einzelnen Bestandteil der Zelle (Organellen) und die Membranen verhalten. Auch soll untersucht werden, ob sich Eiweiße in der Zelle in anderen Bereichen sammeln, anders verteilen und ob und wie sie miteinander interagieren, im Vergleich zu Zellen auf der Erde. Schließlich soll auch untersucht werden, ob es auf zellulärer Ebene Prozesse gibt, die durch Schwerkraft überhaupt erst ausgelöst werden. All das wird dazu beitragen, Zellen und deren innere Prozesse besser zu verstehen – schließlich wird das Mikroskop Live-Bilder liefern, also räumlich-zeitliche Daten unter Schwerelosigkeit.

## Anforderungen an das Mikroskop



Leider gibt es kein Mikroskop, das man kaufen und dann auf die ISS schicken kann. Man merkt hier auf der Erde oft gar nicht, wie sehr uns die Schwerkraft dabei hilft Ordnung zu halten und Dinge zu benutzen. Beispielsweise dürfen auf der ISS keine Objektträger und Deckgläschen aus Glas benutzt werden – denn wenn diese kaputt gehen, warum auch immer, fliegen scharfkantige Scherben durch die ISS und fallen nicht einfach nur auf den Boden wie bei uns auf der Erde. Dasselbe gilt für Schmiermittel, zum Beispiel um die Höhenverstellung oder die Schärfe eines Mikroskops zu steuern, Flüssigkeiten wie Immersionsöl für bestimmte Objektive, und die einzelnen Teile des Mikroskops müssen auch besonders verkapselt werden. Sollte ein Fluoreszenzfilter brechen, oder eine Linse, haben wir wieder das gleiche, gefährliche Szenario der herum schwebenden Scherben wie bei den Objektträgern. Allein schon wegen dieser Gründe musste das Mikroskop dafür neu “erfunden” werden, um es auch auf der ISS gefahrlos benutzen zu können.

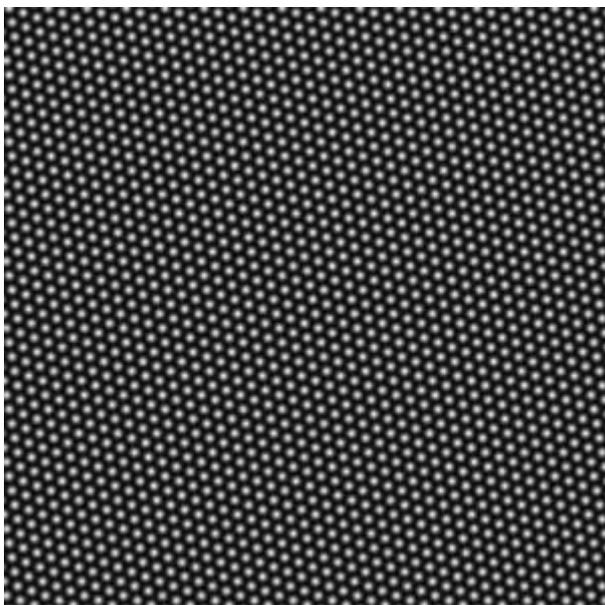
Aber es gibt nicht nur Sicherheitsregeln, die erfüllt werden müssen, sondern auch Anforderungen daran, was das Mikroskop können muss. Um einzelne Eiweiße in der Zelle beobachten zu können, müssen die Zellen erst einmal am Leben gehalten werden. Eiweiße, die man beobachten will, müssen mit [Fluoreszenz-Farbstoffen](#) markiert werden; die Zellen sollten in 3D abgebildet werden können und die Bedienung sollte zum großen Teil automatisch erfolgen – die Besatzung der ISS hat ja noch mehr zu tun.

Und natürlich wäre es praktisch, einen direkten Vergleich zur Erde auch auf der ISS zu haben, also vielleicht “Schwerkraft zum Anschalten”. Dazu ist eine Zentrifuge geplant, welche die Probe dann verschiedenen Beschleunigungen aussetzen kann, über eine längere Zeit. Diese Zentrifuge ist beim FLUMIAS Demonstrator noch nicht dabei – erst will man sicher gehen, dass das Mikroskop auch einwandfrei funktioniert.

## Das Mikroskop

Gebaut wurde der FLUMIAS Demonstrator von [TILL I.D. GmbH](#) und von Airbus Defense and Space GmbH für den Einsatz im Weltraum angepasst. In manchen Presseartikeln zum Thema liest man noch, dass das Mikroskop ein “spinning disc confocal” ist – Schnee von gestern. In dem FLUMIAS Demonstrator steckt ein “strukturierte Beleuchtung”-Mikroskop (Structured Illumination Microscope, SIM).

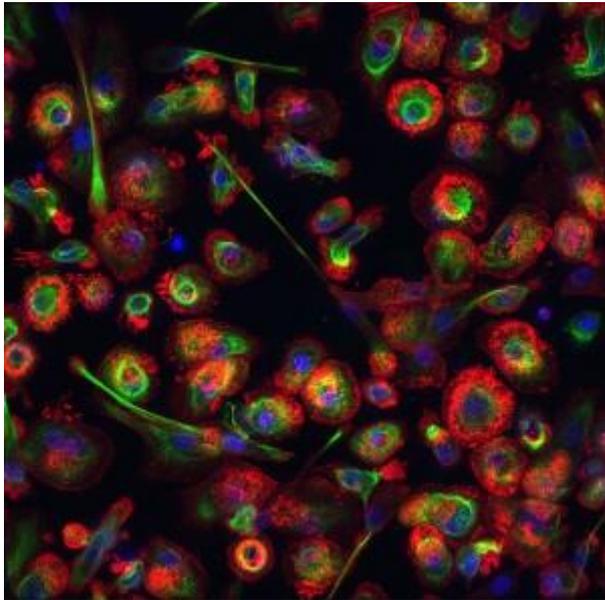
Mit einem SIM kann man 3D Bilder aufnehmen und theoretisch Details unterhalb der Beugungsgrenze des Lichts auflösen (mehr zur Beugungsgrenze gibt's bei [Ernst Abbe war ein faszinierender Mensch](#)). Der Bau des Gerätes ist für TILL I.D. nicht einfach gewesen – für den Demonstrator war der Platz und das Gewicht beschränkt: Volumen maximal 7 Liter, Gewicht maximal 7 Kilogramm.



Ich habe vorhin geschrieben, dass man “theoretisch Details unterhalb der Beugungsgrenze des Lichts” auflösen kann. Das SIM im FLUMIAS Demonstrator wird so nicht benutzt, es liefert “nur normal” aufgelöste Mikroskopiebilder. Die strukturierte Beleuchtung wird dafür benutzt, um die Probe in 3D aufzunehmen. Man könnte auch höher aufgelöste Bilder machen, dies stellt sich allerdings schwieriger dar als man denkt, wieder wegen der Beschränkungen für Dinge auf der ISS. Das Objektiv muss ein “Luft-Objektiv” sein, also ein Objektiv, das auf die Probe schaut ohne einen Tropfen Immersionsöl dazwischen (wird gemacht um eine höhere [numerische Apatur](#) zu erreichen). Die Abbildung von Luft-Objektiven ist nicht optimal und führt zu vielen Schwierigkeiten in Details von SIMs. In den Laboren, die strukturierte Beleuchtung auf der Erde einsetzen, wird eigentlich immer ein Öl-Immersions-Objektiv benutzt.

Das SIM im FLUMIAS Demonstrator benutzt ein etwas anderes Gitter als die meisten zur Zeit verwendeten SIMs. Es ist ein hexagonales Gitter, also kein eindimensionales Strichgitter, sondern ein zweidimensionales Gitter aus kleinen Löchern. Verwendet man ein solches Gitter, fällt ein Schritt der Rohdaten-Aufnahme weg, der bei SIMs mit Strichgittern erforderlich ist: die Rotation des Gitters. Wie ein SIM funktioniert steht im Artikel [Hochauflösungsmikroskopie](#). Wer sich für die Details von SIM mit hexagonalen Gittern interessiert: Es gibt einen open access Fachartikel dazu: [Schropp et al. “XL-SIM: Extending Superresolution into Deeper Layers”](#).

## Die Probe (Demonstrator)



Test-Bild, aufgenommen mit dem FLUMIAS Demonstrators (noch am Boden) von menschliche Makrophagen (Fresszellen, weiße Blutkörperchen). [Zellkern](#) in blau, [Aktin](#) (Teil des Zytoskeletts) in rot, [Vimentin](#) (Teil des Zytoskeletts) in grün.

Im FLUMIAS Demonstrator werden am Freitag 29.06.2018 zwei Proben zur ISS fliegen. Einmal eine Probe mit lebenden [Makrophagen](#) (Fresszellen, weiße Blutkörperchen), die mit Fluoreszenz-Farbstoffen markiert sind und derselbe Zelltyp in einer fixierten (toten) Probe, ebenfalls markiert mit Fluoreszenz-Farbstoffen. Diese Makrophagen sind menschliche Zellen, sie wurden aus zentrifugierten Proben von Blutspendern gewonnen, aus dem sogenannten [buffy-coat](#). Präpariert und bereitgestellt wurden die Proben von der Arbeitsgruppe um Prof. Ullrich an der Uni Magdeburg. Der Demonstrator soll vor allem zeigen, dass das Gerät auf der ISS Bildserien von biologischen Proben anfertigen kann, in guter und gleichbleibender Qualität, die auch auswertbar für die Wissenschaft sind.

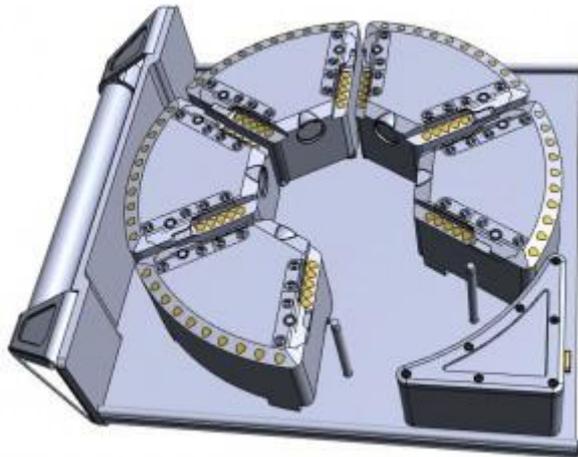
## Wie kommen wir an die Bilder?

Die aufgenommenen Rohdaten werden mit einer SSD (solid-state-disk, im Prinzip ein USB-Stick) bei der nächsten Gelegenheit wieder mit zur Erde gebracht, im Labor ausgewertet und daraus werden dann dreidimensionale SIM-Bilder errechnet. Aber es handelt sich ja nur um einen Demonstrator, für die Zukunft ist ein direkter Datentransfer geplant. Bisher ist die Übertragungskapazität der ISS für die erwarteten 2TB Rohdaten zu schwach.

Was die Kamera und die Beleuchtung angeht war ich überrascht. Die Kamera ist ein einfacher [CMOS](#), mit einem Sony-Chip, also kein Eigenbau sondern ein so gekauftes Teil. Verbunden ist sie mit dem Rechner über eine PCI-Express-Schnittstelle, was dann zu einer maximalen Bildrate von 40 Bildern pro Sekunde bei 3000 x 3000 Pixeln führt. Zum Vergleich: Full-HD heißt 1920 x 1080 Pixel, UHD 4k heißt 3840 x 2160 Pixel. Die Beleuchtung der Probe übernehmen vier LEDs in verschiedenen Farben: violett, blau, grün-gelb und rot. Vor diesen LEDs befinden sich Fluoreszenz-Anregungsfilter, die nur in einem recht schmalen Wellenlängen-Fenster durchsichtig sind, ca. 20nm. Das führt

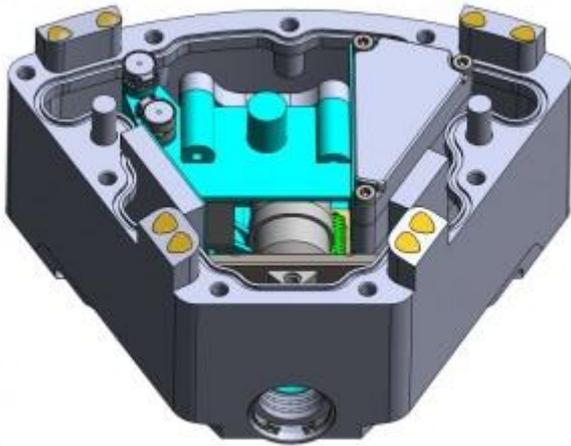
dazu, dass mit diesen LEDs Fluoreszenz-Farbstoffe oder fluoreszente Proteine bei folgenden Wellenlängen angeregt werden können: ca. 400nm, ca. 470nm, ca. 550nm und ca. 640nm. Das passt für viele gängigen fluoreszenten Marker (mehr dazu auch unter [Farbe und das Fluoreszenzmikroskop](#)).

## Was kommt nach dem Demonstrator?



Welche Techniken und Fähigkeiten später bei FLUMIAS (ohne Demonstrator) auf die ISS fliegen werden, wird gerade untersucht, und ist natürlich auch abhängig von den Ergebnissen des Demonstrators. Was man aber definitiv sagen kann – also was sich das DLR vorgestellt hat – wäre Folgendes: Ein ständiges Gerät mit wechselbaren Experiment-Blöcken. In jedem Block ist eine Probe, auch lebende Zellen, mit eigenem Lebenserhaltungssystem. Letzteres besteht bei lebenden Zellen vor allem aus kleinen Pumpen, die das Zellmedium in regelmäßigen Abständen tauschen und einer Gasversorgung für die Zellen. Im finalen Experiment wird die LED-Beleuchtung durch eine Vierfarben Laser-Beleuchtung ersetzt, und die Kamera wird eine [sCMOS](#) (scientific CMOS) sein, die noch etwas schneller und empfindlicher ist als die Kamera im Demonstrator.

Die ganze Geschichte, also der Experimenthalter mit den einzelnen Experiment-Blöcken, das Mikroskop und wohl auch der eingebaute Rechner zur Datennahme und Auswertung werden auf einer Zentrifuge montiert sein, und zwar so, dass die Proben unterschiedliche Beschleunigungen erfahren können. Damit kann man Kontrollmessungen machen, um Vergleichbarkeit mit der Erde herzustellen (0g – 1g – 0g) und auch Schwellwerte bestimmen, also feststellen, ab wann bestimmte Beschleunigungen bestimmte Prozesse in Zellen auslösen und schnelle interne Effekte bei Änderung der Beschleunigung beobachten.



Das DLR hat das FLUMIAS als multi-user Experimentanlage konzipiert. Wie das im Detail später aussehen wird ist noch nicht klar. Ich würde mir wünschen, wenn das Gerät etwas wird, für das jede® Wissenschaftler(in) einen Antrag schreiben kann, einen Experimentblock baut und dann Zellbiologie bei verschiedenen Beschleunigungen und Schwerelosigkeit machen (lassen) kann. Das oben dargestellte Bild zeigt das Experiment-Block-Konzept – mit etwas Mühe kann man auch erkennen, dass in diesem Block ein Objektiv integriert ist. So hat man die Möglichkeit verschiedene Vergrößerungen für die Experimente auf der ISS benutzen zu können. Und wer weiß, vielleicht kommt jemand noch auf eine Idee ein Objektiv zu bauen, das die positiven Eigenschaften der Öl-Immersion besitzt, ohne diesen nervigen Öltropfen, der auf der ISS verboten ist.