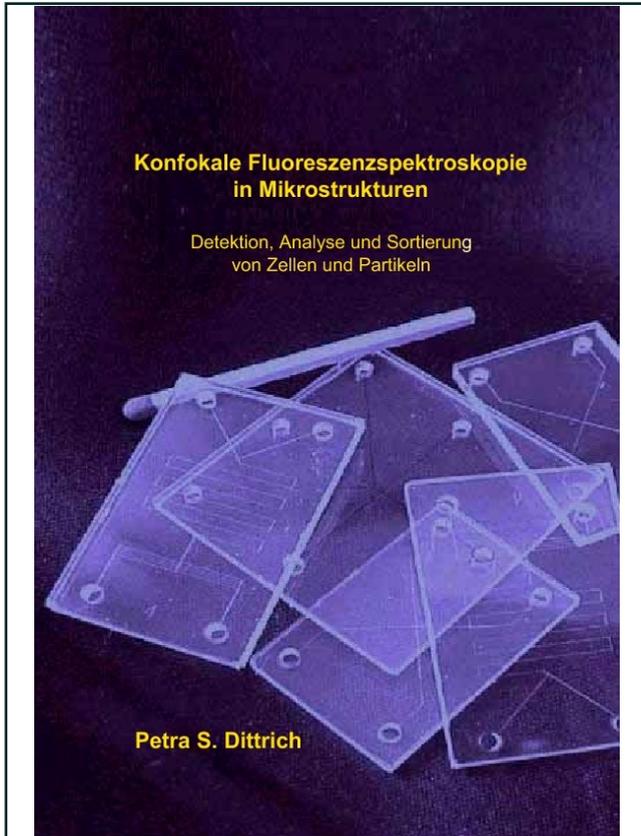




Petra Dittrich (Autor)

Konfokale Fluoreszenzspektroskopie in Mikrostrukturen: Detektion, Analyse und Sortierung von Zellen und Partikeln



<https://cuvillier.de/de/shop/publications/3124>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen,
Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: info@cuvillier.de, Website: <https://cuvillier.de>

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Konfokale Fluoreszenzspektroskopie	7
2.1	Fluoreszenzspektroskopie	8
2.2	Beschreibung des Fluoreszenzsignales im konfokalen Aufbau	10
2.2.1	Intensität des Anregungslichtes	11
2.2.2	Berechnung der Signalintensität	12
2.2.3	Zweiphotonen-Anregung	14
2.3	Experimenteller Aufbau	17
2.3.1	Optiken	19
2.3.2	PC-Karten	24
2.3.3	Farbstoffe und Beads	25
2.4	Histogramm-Analyse	29
2.5	Fluoreszenz-Korrelations-Spektroskopie	31
2.5.1	Diffusionsanalyse	34
2.5.2	Photophysikalische Reaktionen	37
2.5.3	Kalibrierungsmessungen	47
2.6	Zusammenfassung	49
3	Herstellung mikrostrukturierter Kanalsysteme	51
3.1	Materialien für mikrofluidische Kanalstrukturen	54
3.2	Design der Strukturen - CAD-Zeichnungen	57
3.3	Herstellung der Maske für die Photolithographie	59
3.4	Herstellung des Siliziumwafers	60
3.4.1	Beschichtung des Wafers mit Photoresist	60
3.4.2	Optische Photolithographie	62
3.4.3	Inversion des Photoresists	64
3.4.4	Musterübertragung in das Substrat (Plasma-Ätzen)	65
3.5	Abformung des PMDS	67
3.6	Handhabung der Mikrostrukturen	70
3.7	Zusammenfassung	75



4	Mikrofluidik	77
4.1	Strömungsdynamik	78
4.1.1	Beschreibung von Flüssigkeiten	78
4.1.2	Laminarer Fluss	79
4.1.3	Hydrodynamischer Fluss	80
4.1.4	Oberflächenspannung und Kapillarkräfte	80
4.1.5	Elektrokinetische Effekte	81
4.2	Messung der Flussgeschwindigkeit mit FCS	83
4.2.1	Einstrahl-FCS zur Messung der Flussgeschwindigkeit	84
4.2.2	Räumliche Kreuzkorrelation	87
4.2.2.1	Theoretische Beschreibung	87
4.2.3	Experimenteller Aufbau und Justierung	89
4.2.4	Räumliche Kreuzkorrelation nach Zweiphotonenanregung	92
4.2.5	Vergleich von Ein- und Zweistrahlmessungen	94
4.2.5.1	Messbarer Geschwindigkeitsbereich	95
4.2.5.2	Bestimmung der Flussrichtung	95
4.2.5.3	Intramolekulare Reaktionen und Photobleichen	96
4.2.6	Kalibrierungsmessungen in Mikrostrukturen	100
4.2.7	Transportprozesse in biologischen Kanälen	101
4.3	Reaktionen in Mikrokanälen: <i>lab-on-a-chip</i>	103
4.3.1	Vermischen von Flüssigkeiten	104
4.3.2	Kontinuierlicher Flussreaktor	108
4.4	Zusammenfassung	113
5	Sortierung	115
5.1	Hydrodynamische Fokussierung	116
5.2	Sortierungsstrategien	119
5.2.1	Hydrodynamische Ablenkung	119
5.2.2	Elektroosmotische Ablenkung	121
5.2.3	Hydrodynamischer Fluss und elektroosmotische Ablenkung	123
5.3	Automatisierung der Sortierung	125
5.3.1	Datenanalyse: Sortierungsparameter	126
5.3.2	Experimenteller Aufbau	127
5.3.3	Programmierung	130
5.3.4	Kalibrierung, Durchführung und Ergebnis	133
5.4	Flusszytometrie und Zellsortierung	137
5.4.1	Bestimmung der Überlebensrate	138
5.4.2	Helligkeitsanalysen	138
5.4.3	Analyse von Farbigkeit	142
5.4.4	Kombination von Reaktion und Sortierung	145
5.5	Einzelmoleküldetektion und -manipulation	149



5.6 FACS oder μ FACS?- Zusammenfassung der Sortierungsversuche	152
6 Zusammenfassung und Ausblick	155
Literaturverzeichnis	159
Abkürzungsverzeichnis	171
Abstract: Confocal Fluorescence Spectroscopy in Microstructures	173