



**UNIVERSITÄT  
HEIDELBERG**  
ZUKUNFT  
SEIT 1386

Dekanat Biowissenschaften, Im Neuenheimer Feld 234, D-69120 Heidelberg

**Fakultät für Biowissenschaften  
Studiendekan Molekulare Biotechnologie  
Prof. Dr. M. Wink**

Studien- und Prüfungssekretariat  
für Pharmazie und Molekulare Biotechnologie  
Im Neuenheimer Feld 234  
D-69120 Heidelberg  
☎ +49-(0)6221 54-6036  
📠 +49-(0)6221 54-4953  
📧 [Pharmazie@uni-hd.de](mailto:Pharmazie@uni-hd.de)

14. Mai 2013

Antrag zur Anschaffung eines Hellfeld-Phasenkontrast-Fluoreszenzmikroskops Keyence BZ-9000 aus Qualitätssicherungsmittel (zentral) Quasimiko SS 2013

Beantragte Summe: 139.500 €  
(116.980 € Netto zuzüglich 19% MwSt., Verpackung und Versand)

Zielsetzung:

In der Forschung kommen heutzutage moderne Lichtmikroskope zu Einsatz: sie erzeugen digitalisierte Bilder, die auf einem Bildschirm angezeigt, auf einem Rechner gespeichert und schließlich veröffentlicht werden können. Dazu erleichtern bestimmte Software-Pakete die Bildanalyse, und erlauben durch Verrechnen verschiedener Fokussierungsebenen dreidimensionale Darstellungen.

In den Studiengängen Pharmazie sowie Bachelor und Master Molekulare Biotechnologie dient die Lichtmikroskopie neben der Vermittlung von Grundlagen des Zellaufbaus immer mehr dazu, die Effekte von Wirkstoffen durch Bestimmen von Überlebensraten mittels Auszählen von Zellen und anhand morphologischer Zellveränderungen zu quantifizieren und charakterisieren. Für sehr einfache Fragestellungen setzen wir schon jetzt herkömmliche Fluoreszenzmikroskope in verschiedenen Praktika ein, stoßen damit aber früh an deren Grenzen bezüglich Auflösung und Detektion: So leuchten Zellen bei Fluoreszenzmarkierung wohl in ihrer Gesamtheit, einzelne Strukturen jedoch sind nicht zu erkennen. Die mangelhafte Bildqualität bleibt hinter den studentischen Erwartungen zurück und führt am Ende dazu, die Kursteilnehmer von der Mikroskopie eher zu enttäuschen als zu begeistern. Es ist sinnvoll, den Studierenden neben herkömmlicher auch die moderne Lichtmikroskopie näher zu bringen, um sowohl Grundlagen als auch forschungsrelevante Inhalte zu vermitteln.

Das vielseitige Mikroskop Keyence BZ-9000 ist seit wenigen Jahren kommerziell erhältlich und wird erfolgreich in der Forschung eingesetzt. Das High-End-Mikroskop Keyence BZ-9000 wird komplett PC-gesteuert, umfasst Hellfeld-, Phasenkontrast- und Fluoreszenzanwendungen und auch eine besonders vielseitige Analysesoftware. Es kann die wertvollen Erfahrungen, die durch die herkömmliche Mikroskopie gewonnen werden, nicht ersetzen, dennoch wird es basierend auf der umfangreichen Analysesoftware die Lehre auf vielfältige Weise ergänzen: Die Anwendung von Unschärfereduktion bei der Fluoreszenzmikroskopie (dazu Ausschluss von Streulicht, hohe Auflösung und Tiefenschärfe) erlaubt, auch mit wenig Erfahrung hochqualitative und hochaufgelöste Bilder erzeugen. Alle Funktionen werden elektronisch am PC gesteuert: von der Positionierung des Objektstischs bis zur Auswahl des Objektivs am 6x Objektivrevolver. Die Objekte werden dabei nicht durch ein Okular betrachtet, sondern an einem Flachbildschirm ebenfalls mit intuitiver PC-Steuerung optimiert und ausgewertet: Eine Anwendung zur Zellerkennung erlaubt das automatisierte Auszählen von Zellen. Auch können Objekte vermessen werden. Durch Ansteuern verschiedener Fokussierungsebenen kön-

nen zusätzlich dreidimensionale Bilder generiert werden, was mit herkömmlichen Mikroskopen völlig unmöglich ist. Alle Vorgänge können für alle Kursteilnehmer an eine Leinwand projiziert werden. Die Bilder können schließlich jedem Teilnehmer digital zur Dokumentation und weiteren Analyse zur Verfügung gestellt werden.

Durch den Einsatz eines High-End-Fluoreszenzmikroskops werden demnach die Ziele verfolgt, die forschungsorientierte Lehre mit deutlich besseren, auf Wunsch dreidimensionalen Bildern auch von zellulären Details zu erweitern, somit die Studierenden für die vielseitigen Anwendungsmöglichkeiten zu begeistern und schließlich an tatsächlich relevante Forschung heranzuführen.

#### Zeit- und Maßnahmenplan

In Tab. 1 ist ein Zeitplan der verschiedenen Praktika in den Studiengängen Pharmazie und BSc Molekulare Biotechnologie aufgezeigt, in denen moderne Mikroskopie-Techniken eingesetzt werden würden. Das High-End-Fluoreszenzmikroskop kommt also in den Vorlesungszeiten pausenlos in verschiedenen Grundpraktika zum Einsatz. In der vorlesungsfreien Zeit wird das Gerät hauptsächlich für spezielle Fragestellungen in Wahlpflichtpraktika, Bachelor- und Masterarbeiten verwendet. Bei Einsatz in den verschiedenen Praktika ist wichtig festzuhalten, dass das Gerät nur eine geringe Stellfläche benötigt (DIN A3), einfach zu transportieren ist, und sich selbst verdunkelt, also keinen speziellen Dunkelraum benötigt.

Tab.1 Zeitplan der Praktika, in denen das High-End-Fluoreszenzmikroskop zum Einsatz kommen würde. BSc Molekulare Biotechnologie mit ca. 80 Teilnehmern, Pharmazie mit ca. 40 Teilnehmern.

Zeitraum	Praktikum	Studiengang
Mitte Okt. - Mitte Nov.	Mikrobiologie	MOBI, 3.FS
Mitte Nov. – Dez.	Biochemie	Pharmazie, 5. FS
Jan.-Mitte Feb.	Histologie	Pharmazie, 3. FS
Mitte Feb – Mitte Mrz.	Zellkulturtechniken	MOBI, 5.FS
Apr.	Mikrobiologie	Pharmazie, 2. FS
Mai-Juni	Biochemie	MOBI, 4. FS
Juli	Pharmazeutische Biologie III	Pharmazie, 6. FS
Aug.	Pharmazeutische Biologie II	Pharmazie, 2. FS
Vorlesungsfreie Zeit	Wahlpflichtpraktika, Bachelor- und Masterarbeiten	Pharmazie und MOBI

Das beantragte Gerät lässt sich leicht in allen bisher von uns angebotenen biologischen Praktika implementieren:

1) Die histologischen, pflanzenanatomischen und mikrobiologischen Grundpraktika werden alleine durch die Qualität der mikroskopischen Bilder aufgewertet und dienen in den frühen Fachsemestern als Einstieg in die Benutzung des High-End-Geräts. Bei 40-80 Teilnehmern ist dabei das Konzept zu verfolgen, die Präparate von allen an herkömmlichen Mikroskopen untersuchen zu lassen, während je ein Präparat zusätzlich von einem Studenten an dem High-End-Mikroskop bearbeitet wird. Je nach Kursstärke und -dauer verbringt so jeder Student mehrere Stunden mit dem modernen Gerät. Hierzu ist von Studentenseite natürlich zuvor ein Einarbeiten in die Applikation anhand der Bedienungsanleitung und eine intensive Betreuung durch einen Assistenten von Nöten.

2) In biochemischen Praktika werden rekombinante Proteine in Hefen produziert und ins umgebende Medium ausgeschieden. Durch Fusion der Proteine mit dem Green Fluorescent Protein (GFP) kann der Weg der Proteine vom ER via Golgi bis zur Plasmamembran verfolgt werden. Dies gelingt jedoch nur bei Einsatz einer speziellen Unschärfereduktion-Software, die herkömmlichen Mikroskopen fehlt, so dass das Fluoreszenzsignal immer die komplette Zelle ausfüllt und keine Feinheiten aufgelöst werden können. Ebenfalls softwarebasiert kann das Signal quantifiziert und somit die Menge an gebildetem Produkt in Abhängigkeit von den Kulturbedingungen untersucht werden

3) In der Wirkstoffforschung werden pflanzliche und andere Inhaltsstoffe isoliert, charakterisiert und schließlich an verschiedenen Organismen auf ihre biologische Wirksamkeit untersucht. Dazu werden z.B. Säugetierzellen mit verschiedenen Konzentrationen des Wirkstoffs kultiviert und die Überlebensrate bestimmt. Eine

integrierte Software erkennt einzelne Zellen, kann sie von einander abgrenzen und erlaubt somit das automatisierte Auszählen, was mit einer enormen Zeitersparnis verbunden ist. Mit Hilfe einer weiteren, ebenfalls integrierten Anwendung können auch Längen gemessen und somit morphologische Veränderungen quantifiziert werden. Ebenfalls in den Praktika etabliert sind verschiedene Tiermodelle in *Caenorhabditis elegans*: In einem Modellsystem zur Untersuchung von oxidativem Stress wird die Expression verschiedener GFP-Fusionsproteine mit und ohne Wirkstoffbehandlung analysiert. Eine Änderung der Expressionsrate lässt so z.B. Rückschlüsse auf die Wirksamkeit von Nahrungsmittelbestandteilen zu. Im Alzheimer-Modell erzeugt der genetisch veränderte Fadenwurm  $\beta$ -Ablagerungen die mittels Fluoreszenzmarkierung ausgezählt werden können. Eine Änderung der Anzahl der Ablagerungen nach Behandlung der Würmer ist ein erster Hinweis auf einen potentiellen Alzheimer-Wirkstoff.

4) Die vielfältigen Anwendungsmöglichkeiten werden schließlich auch in Wahlpflichtpraktika, Bachelor- und Masterarbeiten genutzt werden, um spezifische Fragestellungen der Wirkstoffforschung zu untersuchen.

#### Budgetplan

Nach der Anschaffung aus Qualitätssicherungsmitteln werden alle weiteren Kosten für den Ersatz von Halogen- bzw. Quecksilberlampe (Betriebsdauer ca. 2000 bzw. 1000 Stunden) in Höhe von jährlich ca. 1000 € von der Arbeitsgruppe um Prof. Dr. Michael Wink übernommen.

#### Weitere Anmerkungen

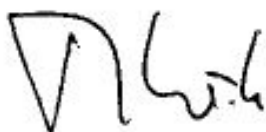
Die Anschaffungskosten für das Fluoreszenzmikroskop Keyence BZ 9000 liegen laut Angebot bei ca. 139.500 € und können unmöglich aus dezentralen Qualitätssicherungsmitteln aufgebracht werden, die sich nach Abzug von Aufwendungen für die Koordinatorenstelle und Tutorien auf ca. 70.000 € pro Semester belaufen, die dringend für die Grundausstattung der Praktika benötigt werden. Das IPMB verfügt über kein ausreichendes Budget für solche Anschaffungen.

Der Nutzerkreis beläuft sich auf jährlich 180 Studierende der Molekularen Biotechnologie (85 BSc, 50 MSc) und Pharmazie (45).

Auf dem Campus ist der Zugang zu hochwertigen Mikroskopen zwar durch das Nikon-Center gewährleistet, das aber ebenfalls Forschungszwecken vorbehalten ist. Dabei ist auch zu bedenken, dass das Nikon-Center unmöglich jährlich über 100 Studenten in Grundpraktika bedienen kann, so dass ein Einblick in diese *State-of-the-Art* Technologie nur mit einem institutseigenen Mikroskop zu verwirklichen wäre.

#### Fazit

Durch Anschaffen des High-End-Fluoreszenzmikroskops Keyence BZ 900 kann die forschungsorientierte Lehre in den Studiengängen Pharmazie und BSc und MSc Molekulare Biotechnologie nachhaltig verbessert werden, da die Studierenden erstmals an forschungsrelevante Lichtmikroskopie herangeführt werden.



Prof. Dr. M. Wink  
Studiendekan