

Organisation des Versuchs Immunfluoreszenz SS 2014

Betreuung:

Ningning Gao (gnnzhu@163.com)

Durchführung:

Fatemeh Rajabi (fat.rajabi@yahoo.de)

Liang Ye (hawkliangsu27@sina.com)

Di 15.04.2014 bis Do 17.04.2014 Gruppe 18+19 (Biologen)

Di 29.04.2014 bis Mi 30.04.2014 Gruppe 2+3 (Chemische Biologen)

Di 13.05.2014 bis Do 15.05.2014 Gruppe 6+7 (Biologen)

Di 27.05.2014 bis Do 29.05.2014 Gruppe 10+11 (Biologen)

Di 10.06.2014 bis Do 12.06.2014 Gruppe 14+15 (Biologen)

Ziel des Versuchs

Am Beispiel einer Mikrotubuli-Anfärbung sollen die Studierenden den Prozess der Immunfluoreszenz von Anfang bis Ende in allen Schritten durchführen und gleichzeitig Geläufigkeit in gängigen Labormethoden bekommen (chemisches Rechnen, Puffer ansetzen, korrektes Pipettieren, Verdünnen, Wiegen). Praktische Einführung in die moderne Fluoreszenzmikroskopie.

Ablauf

Anmerkung: Unterteilung in Teams von ~2 Leuten, immer zwei Teams rechnen zusammen den Puffer selbst aus und präpariert die Lösungen selbst. Die Präparation wird dann für jedes Team parallel durchgeführt. Die Präparationsschritte geschieht im Raum 104 im 1. Stock. Sterile Entnahme der Zellen im Raum 009 (EG) mit jeweils 4 Leuten. Damit es für alle etwas interessanter wird, hat jedes Team Zellen, die jeweils unterschiedlich behandelt wurden. Hintergrund dazu wird jedem Team bei der Vorbesprechung ausgehändigt.

Di, 14:00-18:00:

1. Vorbesprechung und Einteilung in 2-er Teams (R 104, 1. Stock)

Hauptsächlich zur Klärung von Fragen und zur Organisation. Achtung: Wir gehen davon aus, dass Sie das Skript vorher gelesen haben und werden das auch überprüfen. Wenn wir feststellen, dass Sie das Skript nicht gelesen haben, schicken wir Sie wieder nach Hause! Es hat keinen Sinn, das Experiment mit Leuten durchzuführen, die nicht wissen, was sie da eigentlich tun...

2. Berechnung der Pufferlösungen (R 104, 1. Stock)

Um das zu strukturieren, bitte die Ergebnisse ihrer Rechnung in das Blatt im Anhang des Skripts eintragen und dieses den Betreuern vorzeigen. Wenn was nicht stimmt, müssen Sie nochmal rechnen, eventuelle fragen Sie die anderen Teams um Hilfe. Die Betreuer haben strikte Anweisung, Ihnen nicht beim Rechnen zu helfen. Sie haben zwei Semester Chemie gehabt und wir erwarten von Ihnen, dass Sie das könne – es handelt sich um Alltagsgeschäft in jedem biologischen Labor. Die Betreuer werden Ihnen zeigen, wo die Chemikalien zu finden sind. Auf den Chemikalien finden Sie alle Informationen, die Sie zur Berechnung brauchen, aufgedruckt.

3. Ansetzen der Pufferlösungen (R 103)

4. Sterile Entnahme der Zellen und Fixierung für IF

Schritte 3 und 4 laufen parallel, während die Einen Abwägen / Ansetzen, werden die Anderen die Zellen entnehmen. Die Fixierlösung stellen wir aus Sicherheitsgründen in Aliquots bereit (Das Kochen von Paraformaldehyd erfordert besondere Sorgfalt). Wichtig: bitte Ihre Flaschen mit Klebeband (!) beschriften: was ist drin? Von wem ist es? Von wann ist es?

Sterilbank: bitte vor dem Praktikum die Videoinstruktion zur Arbeit an der Sterilbank anschauen. Sterilräume sind immer klein (warum wohl?) und es können nur immer 4

Leute auf einmal instruiert und beaufsichtigt werden. Jede Person entnimmt steril eine Probe und gibt sie in die vorbereitete Fixierlösung. Der Kulturkolben wird dann mit der Nummer des Teams markiert und weiterkultiviert (für die Bestimmung des Mitoseindex am folgenden Tag), gleichzeitig sehen wir dann, wie gut Sie steril gearbeitet haben...

Wichtig: Waagen, pH-Meter und Tische sind sauber und ordentlich zu hinterlassen. Wer herumsaut, bekommt einen Vermerk im Laufzettel und muss sich beim Institutsleiter wegen einer Kompensationsleistung vorsprechen.

5. Waschen und Färbung bis zur Inkubation in Antikörper 1

Mi, 14:00-16:00:

6. Sterile Entnahme der Zellen und Fixierung für MI

Wie Schritt 4, aber jetzt können Sie es selbst. Die Kölbchen werden nach Gebrauch zum Autoklavieren gestellt. Sterilbank sauber hinterlassen.

7. Abschliessen der IF (Aufräumen!)

Raum 104 im 1. Stock.

8. Einweisung in die Mikroskope

Nach einer Einweisung arbeiten die Teams selbständig (2 Leute pro Mikroskop, so dass jeder ca. eine halbe Stunde Zeit am Mikroskop hat)

Anmerkung: Schritte 6-8 laufen parallel

Mi, 16:00-18:00:

9. Bestimmung MI

Do, 14:00-18:00:

10. Auswertung Immunofluoreszenzfärbung

Anmerkung 1: Schritt 9+10 laufen parallel in 2-er Teams, jedes Team bekommt einen Mikroskop-Slot von 60 min, Zeiteinteilung über eine Liste in der Vorbesprechung.

Anmerkung 2: voraussichtlich wird das Zeitfenster Do 16-18 nicht benötigt werden.

Achtung:

Mikroskope: Mitoseindex – hier können zwei Mikroskope in -107.2 genutzt werden (Axioskop, Zeiss-Mikroskop bei Mikroinjektion, hier können also gleichzeitig 2 Teams (4 Leute) arbeiten). Auswertung Mikrotubuli am Lasertweezer und am Spinning Disc (ebenfalls 2 x 2 Leute)

Tabelle zur Einteilung auf der folgenden Seite

Generelle Anmerkung: im Institut leben viele Menschen aus vielen Nationen und Absichten einträchtig zusammen. Das funktioniert nur, weil alle genug Selbstdisziplin und Kooperativität mitbringen. Sie sind hier für ein paar Tage zu Gast und wir erwarten von Ihnen, dass Sie ebenfalls Selbstdisziplin und Kooperativität mitbringen. Dazu zählt, dass man nach getaner Tat seinen Arbeitsplatz ordentlich hinterläßt und seine Sachen wegräumt. Sie arbeiten zum Teil in S1-Labors, wo mit gentechnisch veränderten Organismen gearbeitet wird. Ordnung ist hier nicht nur eine Frage der angenehmen Arbeitsatmosphäre, sondern der Sicherheit. Die Betreuer sind angehalten, auf diesen Punkt zu achten. Sie können die Betreuer jederzeit fragen, wie und wohin irgendwas zu verräumen oder zu entsorgen ist. Wir denken, dass alle von Ihnen aus innerer Einsicht die Spielregeln einhalten werden. Sollten Sie diese innere Einsicht nicht mitbringen, müssen Sie freilich mit entsprechenden Konsequenzen rechnen.

| Zeitfenster | Mitoseindex am Axioskop | Mitoseindex an Mikroinjektion | Mikrotubuli am Laser-Tweezer | Mikrotubuli am spinning disc |
|----------------|-------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | | | | |
| Mi 16:00-17:00 | Team 1 | Team 2 | Team 3 | Team 4 |
| Mi 17:00-18:00 | Team 3 | Team 4 | Team 1 | Team 2 |
| Do 14:00-15:00 | Team 5 | Team 6 | Team 7 | Team 8 |
| Do 15:00-16:00 | Team 7 | Team 8 | Team 5 | Team 6 |
| Do 16:00-17:00 | Team 9 | Team 10 | Team 11 | Team 12 |
| Do 17:00-18:00 | Team 11 | Team 12 | Team 9 | Team 10 |

Teams (2 Leute, Namen bitte eintragen)

1:

2:

3:

4:

5:

6:

7:

8:

9:

10:

11:

12: