

## **Labor- und Messtechnik in der Biophysik** (mit Übungen und Seminar)

(mit Prof. G. Harms, Dr. V. Behr, Dr. I. Tessmer)

4 St., Fr 13.30-16.30, SE 1

Die Veranstaltung umfasst 4 SWS Vorlesungen und Übungen/Seminar für Studierende ab dem 5. Fachsemester. Sie richtet sich an Studierende der Nanostrukturtechnik als Wahlpflichtveranstaltung nach dem Vordiplom (N) und an Studierende der Physik als Zulassungsvoraussetzung für das Prüfungsfach Angewandte Physik (S).

### Inhalt:

Gegenstand der Vorlesung sind relevante Grundlagen von Molekularbiologie bis Zellbiologie sowie physikalische Grundlagen biophysikalischer Verfahren zur Untersuchung und Manipulation von biologischen Systemen. Schwerpunkte bilden optische abbildende Verfahren und Sensorik, Einzelteilchendetektion, Rastermikroskopie, sowie konventionelle Röntgentechnik, Computertomographie, ausgewählte bildgebende Verfahren der Nuklearmedizin und MR-Tomographie.

### Scheinerwerb:

Kurzvortrag & 1-seitige schriftliche Zusammenfassung (vor dem Vortrag zu verteilen --> Sekretariat EP5) & Anwesenheitspflicht & Dateien abgeben.

Benotung: Vortrag (50%) & Klausur (50%). Die Klausur wird nach dem "multiple-choice" Prinzip durchgeführt. Beispielfragen werden nach jeder Vorlesungseinheit ins Netz gestellt. Diplomstudenten müssen Vortrag halten und Klausur bestehen.

### Prozedur:

1. Auswahl der Themen: Liste der Themen im Internet ab heute abend, email an mich mit 5 Wunschthemen. Themenvergabe nach Reihenfolge des Eingangs. Erste Vorträge 08.05.2009! in zwei Wochen.
2. Vortragsplanung:
  - 2 Wochen vor Vortrag: Vorbesprechung,
  - 1 Woche vor Vortrag: Besprechung mit Folienvorlagen
  - Zum Vortrag: 1-seitige Zusammenfassung
3. Vortragsdauer: 20 min. exakt! Diskussion und Fragen nach dem Vortrag
4. Am Ende: alle Vorträge und Vorlesungen und handouts auf CD → Dateien im Sekretariat EP5 abgeben (Scheinvoraussetzung!)

### Termine:

- |     |            |  |
|-----|------------|--|
| 1.  | 24.04.2009 | Hecht                                      |
| 2.  | 01.05.2009 | <b>entfällt (Maifeiertag)</b>              |
| 3.  | 08.05.2009 | Hecht                                      |
| 4.  | 15.05.2009 | Harms                                      |
| 5.  | 22.05.2009 | <b>entfällt (nach Christi Himmelfahrt)</b> |
| 6.  | 29.05.2009 | Harms                                      |
| 7.  | 05.06.2009 | Harms                                      |
| 8.  | 12.06.2009 | <b>entfällt (nach Fronleichnam)</b>        |
| 9.  | 19.06.2009 | Behr                                       |
| 10. | 26.06.2009 | Behr                                       |
| 11. | 03.07.2009 | Hecht                                      |
| 12. | 10.07.2009 | Hecht                                      |
| 13. | 17.07.2009 | Tessmer                                    |
| 14. | 24.07.2009 | Tessmer                                    |

11 Termine, 37 Teilnehmer → 3-4 Kurzvorträge pro Sitzung

### Überblick:

#### **24.04. Optische Einzelmoleküldetektion und -Spektroskopie: Grundlagen (Hecht)**

##### Inhalt:

- Einführung: Detektion einzelner Moleküle
- Theoretische Grundlagen
- Einzelmolekül-Observable

#### **08.05. Optische Einzelmoleküldetektion und -Spektroskopie: Anwendungen auf Biologische Systeme (Hecht)**

##### Inhalt:

- Einzelmoleküldiffusion
  - Zellmembran
  - Im Inneren der Zelle
- Einzelmolekülorientierung
  - Messung von Rotationen
- Einzelmolekülkolokalisierung
  - FRET
- Chemische Reaktionen auf Einzelmolekülebene

Vortragsthemen:

1. Nanometergenaue Lokalisierung und Ko-lokalisierung
2. Photothermal imaging: Prinzip und particle-tracking in Zellen
3. Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie (FCS): Anwendungen in Biologie und Sensorik
4. Anwendungen von molecular beacons zum tracking von mRNA in Zellen
5. Optische Pinzette
6. Molekulare Motoren untersucht mit optischen Pinzetten

15.05. **Molekularbiologie bis Zellbiologie, Proteomics, Massenspektrometrie, Elektronmikroskopie, Durchlichtmikroskopie (Harms)**

Inhalt:

- Prozessierung zellulärer Signale durch Proteomics mit Massenspektrometrie
- Proteomics mit Massenspektrometrie
- Organisation der Zelle (Abbildung von Organellen, Zellen, und Gewebe mit Elektronen- und Durchlicht-Mikroskopie)
- Elektronen- und einföhrung zu Durchlicht-mikroskopische Techniken (Optik, Aufbau, Auflösung, Kontrast und Probenpräparation)

Vortragsthemen:

7. **Neural Networks and Learning – The Model**
8. **Elektronmikroskopie: Einzel-protein-strukturanalyse durch Cryoelectron Microscopy**
9. **Elektronmikroskopie: Improved Resolution and Contrast Through Abberation Correction**
10. **Massenspektrometrie: MALDI (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization) und Quadrupolemassenspektrometrie in Proteomics**

29.05. **Fluoreszenztechniken, Fluoreszenzmikroskopie: Wide-field und Konfokal (Harms)**

Inhalt:

- Durchlichtmikroskopie Kontrast und verbesserungen in Imaging
- Zellular Bewegungen und Migration in Gewebe und Organismen
- Fluoreszenzbestimmungen in der Biologie (Farbstoffe und deren Anwendung für Normalgebrauch in der Biologie, Labelling, FRET, Photophysik und Chemie)
- Spektroskopie und Durchflussszytometrie
- Optische Fluroeszenzmikroskopie
  - a. Konfokal
    - Fokussieren von Licht

- Konzept der Point-spread function
  - Konfokal
- Wide field
- Detektion von zellulärer Signale durch Fluoreszenzmikroskopie (FRET, Polarisation, FLIM, FRAP) mit klassische Assays als Nachweis

Vortragsthemen:

- 11. Cell Tracking (für Eukaroten und Prokaryoten) mit Durchlicht und Fluoreszenz- mikroskopie: Konzept, Aufbau, Beispiele, und Analyse**
- 12. Deconvolution of optical images**
- 13. Grüne Fluoreszierende Proteine (GFP) und Anwendungen in biologischen Bestimmungen**
- 14. Durchflusszytometrie und Anwendungen in der Biologie**
- 15. Anwendungen von FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer) in Biologie**
- 16. Dynamic Light Scattering in Biology, Biomedicine and Biophysics**

**05.06. Histologie und Medizin- Tief ins Gewebe: Multiphoton Mikroskopie und andere Techniken (Harms)**

Inhalt:

- Intravital Microscopy
- Sheet Illumination Microscopy / Selective Plane Illumination Microscopy
- Nicht-Lineare Optik
- Multiphoton Mikroskopie (Aufbau und Verwendung: Optische Messungen in Gewebe)
- Laser Dissection
- Ultrasound Imaging
- Optische Tomographie

Vortragsthemen:

- 17. Zwei-Photon Fluoreszenz Mikroskopie – Prinzip, Setup, und Beispiele (Vor- und Nachteile im Vergleich zu Ein-Photon konfokal Mikroskopie)**
- 18. Sheet Illumination Microscopy / Selective Plane Illumination Microscopy – Prinzip, Setup, und Beispiele**
- 19. CARS Mikroskopie – Prinzip, Setup, und Beispiele**
- 20. THz-Mikroskopie - Prinzip, Setup, und Beispiele**

**19.06. Struktur in atomarer Auflösung (Behr)**

Inhalt:

- Röntgenstrukturanalyse
- Kristallbau
- Braggbedingung, reziprokes Gitter, Laumethode, Debye-Scherrer-Verfahren
- Einkristalldiffraktometrie
- Atomarer Formfaktor, Strukturfaktor, Phasenproblem
- Cryokristallographie
- Röntgenquellen

Vortragsthemen:

- 21. Neutronendiffraktometrie: Informationsgehalt, Vor- und Nachteile & Einsatzbereiche**
- 22. Elektronendiffraktometrie: Informationsgehalt, Vor- und Nachteile & Einsatzbereiche**
- 23. Synchrotronquellen für Strukturuntersuchungen**

**26.06. 1D-NMR-Verfahren (Behr)**

Inhalt:

- Magnetischer Dipol, Kernspin, Elektronenspin
- Zeemaneffekt
- Magnetisierung
- Larmorfrequenz
- Kernresonanz, chemische Verschiebung
- Relaxation, Spin-Spin-Wechselwirkung
- NMR-Spektrometer

Vortragsthemen:

- 24. Physikalische Grundlagen und Informationsgehalt der NMR-Relaxationszeiten T1 & T2**
- 25. Messmethoden zur NMR-Relaxationszeitbestimmung**
- 26. Grundlagen der Fourier-Transformation: Informationsgehalt eines 1D-NMR-Spektrums**
- 27. Longitudinally-detected ESR (LODESR)**
- 28. Proton-Electron Double Resonance Imaging (PEDRI)**
- 29. Fourier-Transform ESR**

**03.07. Nano-optische Messmethoden in der Bio-Physik I: Hochauflösende Mikroskopie (Hecht)**

Inhalt:

- Einführung
- Nahfeldoptische Mikroskopie
- Fernfeld Nanoskopie

Vortragsthemen:

- 30. Oberflächenplasmonen in der Sensorik**
- 31. Nahfeldmikroskopie biologischer Proben**
- 32. Photoactivated Luminescence Microscopy (PALM)**
- 33. Stochastic reconstruction optical microscopy (STORM)**

**10.07. Nano-optische Messmethoden in der Bio-Physik II: Plasmonik (Hecht)**

Inhalt:

- Einführung in die Plasmonik
- Anwendungen in der Sensorik

Vortragsthemen:

- 34. Stimulated emission depletion microscopy (STED)**
- 35. Photonic force microscopy**
- 36. Anwendungen von Surface Plasmon Sensorik**
- 37. Cantilever Sensorik**

**17.07. Trennverfahren und spektroskopische Methoden zur Untersuchung von Proteinzuständen und -wechselwirkungen (Tessmer)**

Inhalt:

- Separationsanalytische Methoden / Trennverfahren:
  - Analytische Gelfiltration
  - Analytische Ultrazentrifugation
  - Gel-Elektrophorese
- Spektroskopie:
  - Infrarot- und Raman-Spektroskopie
  - Circular Dichroism (CD)

Vortragsthemen:

- 38. Grundlagen und Anwendung verschiedener chromatographischer Trennmethoden in der Biologie (Größenausschluss (size exclusion), Ionenaustauscher-Säulen, hydrophobe Wechselwirkungen, Affinitätschromatographie)**
- 39. Untersuchung von Protein-Protein-Wechselwirkungen mit analytischer Ultrazentrifugation**
- 40. Electromobility Shift Assay (EMSA) von Protein-DNA Bindung**
- 41. Surface enhanced Raman Scattering (SERS), Prinzip und biologische Anwendung**
- 42. Detektion von Protein-Ligandenbindung mit CD Spektroskopie**
- 43. SPR imaging, Technik und biologische Anwendung**

## 24.07. **Strukturbiologische Methoden, mechanische Ansätze zur Untersuchung biologischer Wechselwirkungen (Tessmer)**

### Inhalt:

- Röntgen-Kristallographie
- Rasterkraftmikroskopie (atomic force microscopy, AFM):
  - Topographische Abbildungen
    - einzelne biologische Moleküle
    - 2D Kristalle
  - Kraft-Abstandsmessungen:
    - Bestimmung von inter- und intramolekularen Wechselwirkungen
    - Untersuchung von Proteinfaltung

### Vortragsthemen:

- 44. SAXS (small angle X-ray scattering): Technik und biologische Anwendung**
- 45. Integration von AFM mit anderen Methoden (z.B. Fluoreszenzmikroskopie, RAMAN-Spektroskopie)**
- 46. Untersuchung von Energielandschaften (energy landscapes) in der Proteinfaltung mit Hilfe von AFM Kraft-Abstandsmessungen**