

Westfälische Wilhelms-Universität Münster

Medizinische Fakultät

**Institut für Muskuloskelettale Medizin (IMM)**

(Direktor: Univ.-Prof. Dr. med Thomas Pap)

Albert Schweitzer Campus 1

Gebäude D3

**NUTZUNGS- UND GEBÜHRENORDNUNG  
„TECHNOLOGIEANGEBOT ELEKTRONENMIKROSKOPIE“**

**- NUTZUNGSORDNUNG ELEKTRONENMIKROSKOPIE -**

**1. Aufgaben und Organisation**

Das IMM als Betreiber des Technologieangebotes Elektronenmikroskopie verfügt über ein Philips EM-410 Transmissionselektronenmikroskop ausgerüstet mit DITABIS Imaging Plates für die hochauflösende digitale Bilderstellung. Im Weiteren sind ein Leica Ultramikrotom mit optionaler Möglichkeit zur Herstellung von Kryoschnitten, eine Leica EM AFS Anlage zur Einbettung bei tiefen Temperaturen, eine Emitech Bedampfungsanlage mit Glow Discharge Einrichtung sowie eine Balzers Gefrierbruchseinheit vorhanden.

Das Technologieangebot Elektronenmikroskopie bezieht sich auf wissenschaftliche Fragestellungen. Wir beraten die Interessenten hinsichtlich der für die jeweilige wissenschaftliche Fragestellung geeigneten Methode, dem sinnvollen Probenumfang und der entsprechenden Probenvorbereitung. Je nach Methode erfolgt eine Probenvorbereitung für die Transmissionselektronenmikroskopie bzw. die Immungold-Transmissionselektronenmikroskopie, das Negativ-Staining oder für Gefrierbruch-Replika-Techniken. Für die transmissionselektronenmikroskopische Analyse werden nach Fixierung und Einbettung zunächst Semidünnnschnitte angefertigt. Diese lichtmikroskopische Beurteilung der Schnitte ist Voraussetzung für die Auswahl geeigneter Blöcke für die Herstellung von Ultradünnnschnitten und der anschließenden ultrastrukturellen Untersuchung. Je nach wissenschaftlicher Fragestellung erfolgen unterschiedliche Methoden zur Darstellung der optimalen Morphologie und/oder Immunogoldmarkierung zur Lokalisierung bestimmter Proteinstrukturen.

Die wissenschaftliche Leitung wird von **Herrn Dr. Uwe Hansen** übernommen. Eine Kontaktaufnahme ist am besten über die Email-Adresse möglich: [uhansen@uni-muenster.de](mailto:uhansen@uni-muenster.de)

**2. Nutzung**

Das Technologieangebot steht sowohl internen als auch externen Interessenten zur Verfügung. Vor der Inanspruchnahme des Technologieangebotes erfolgt eine Beratung über die generellen Ziele des Vorhabens. An dieser Beratung nehmen die potentiellen Interessenten sowie der Leiter des Technologieangebotes teil. Die Bearbeitung der jeweiligen Projekte erfolgt nach Erhalt der Proben und in Abhängigkeit von den verfügbaren Ressourcen.

In Abhängigkeit der gewählten Methode ist das Intervall zwischen Probeneingang bis zum

Ergebnis flexibel. Es erfolgen bei Bedarf regelmäßige Besprechungen mit dem wissenschaftlichen Leiter über die Fortschritte des Projekts. Das Technologieangebot behält sich vor, bei Vorliegen bestimmter Voraussetzungen (Revisionstermine von Manuskripten, Vorträgen etc.) die Bearbeitung der laufenden Projekte zu gewichten.

### **3. Allgemeine Nutzerregelungen**

Die selbständige Durchführung der elektronenmikroskopischen Analysen ist ohne Hilfe grundsätzlich nicht möglich. Eine Selbstnutzung des Geräts bedarf einer langen Einarbeitungszeit und kann erst nach Rücksprache mit der wissenschaftlichen Leitung in Ausnahmefällen gestattet werden.

### **4. Haftung**

Das Technologieangebot übernimmt keine Gewähr dafür, dass die zur Verfügung gestellten Daten oder Unterlagen brauchbar und vollständig sind.

### **5. Dokumentation und Datenspeicherung**

Die Dokumentation der zur Verfügung gestellten wissenschaftlichen Proben und insbesondere die Probenvorbereitung und die Probenanalyse erfolgt im Laborbuch des Technologieangebots. Die Dokumentation wird über 10 Jahre gelagert. Alle Daten (digitale EM-Bilder) werden zunächst auf einem Server des IMM gespeichert. Um einem möglichen Datenverlust vorzubeugen, wird dringend geraten die Daten nach Erhalt auf einem eigenen Datenträger abzuspeichern.

### **6. Inkrafttreten**

Die Nutzungsordnung tritt ab 01.05.2017 in Kraft.

## - GEBÜHRENORDNUNG ELEKTRONENMIKROSKOPIE -

Die Nutzungskosten für elektronenmikroskopische Untersuchungen können im Rahmen des Förderverfahrens von der DFG übernommen werden. Wir stehen sehr gerne im Vorfeld einer Antragseinreichung für eine Abschätzung des für das Vorhaben erforderlichen Aufwands und der dabei anfallenden Kosten sehr gerne beratend zur Verfügung.

### Kostenübersicht und Leistungen Elektronenmikroskopie, intern (€) und extern (€):

#### A) Kunstharzeinbettung (*routinemäßig in Epon oder LR-White*)

Einbettung der Proben

Herstellung von Semi- und Ultradünnschnitten

Erstellung von digitalen EM-Aufnahmen

#### B) Zusatzkosten zur Routineeinbettung nach A für Immunogold-Markierung

Primärantikörper werden in der Regel vom Nutzer gestellt und die notwendigen Sekundärantikörper werden sofern vorhanden vom Technologieangebot zur Verfügung und entsprechend in Rechnung gestellt. Sofern die verwendeten Primärantikörper noch nicht zuvor in der Elektronenmikroskopie eingesetzt wurden, muss die passende Antikörperkonzentration in den meisten Fällen getestet werden.

#### C) Verfahren ohne Einbettung nach A

Negativkontrastierung (Negative-Staining)

#### D) Gefrierbruch-Verfahren

Gerätenutzung: TEM „Analysezeiten“ (Abrechnung für externe Nutzer in Stunden in Abhängigkeit vom Aufwand der Analyse)

### Weitere Erläuterungen:

#### A) Routineeinbettung

Dieses Angebot umfasst die Beratung zur Entnahme und Fixierung einer Probe bis zur Übergabe der fertigen elektronenmikroskopischen Daten mit Diskussion der Resultate. Nach der Fixierung wird die Probe entwässert, ggf. osmiert und in Kunststoff (Epon oder LR White) eingebettet. Anhand von Semidünnschnitten erfolgt zunächst die lichtmikroskopische Beurteilung und Auswahl der geeigneten Stellen für die Anfertigung der Ultradünnschnitte, die im Elektronenmikroskop analysiert werden. Die bei der Untersuchung anfallenden relevanten Ergebnisse werden photographisch dokumentiert. Die Ergebnisse werden in einer mündlichen Besprechung an Hand der EM-Bilder mit dem wissenschaftlichen Leiter besprochen. Ein schriftlicher Bericht (Methoden-, Ergebnis- Diskussionsteil, Abbildungslegende, beschriftete Abbildungen) wie für Publikationen üblich wird generell erstellt. Der direkt an der Untersuchung beteiligte wissenschaftliche Leiter des Technologieangebots erwirbt im Rahmen der Generierung von Daten das Recht auf eine Ko-Autorenschaft im Fall einer Publikationen der generierten Daten.

#### B) Spezialmethoden

Lokalisation von Proteinen oder Kohlenhydraten

Die Immunogold-Markierung wird zur Lokalisation von Proteinen oder Kohlehydratmolekülen in

Ultradünnsschnitten angewendet. Als Einbettungsmaterial wird LR-White verwendet, welches hydophil ist und deshalb den Antikörpern Zugang zu den antigenen Epitopen von Proteinen ermöglicht. Die dazu notwendigen primären Antikörper oder Lektine sind nicht im Preis enthalten. Im Preis enthalten sind die mit Goldpartikeln markierten sekundären Antikörper. Für diese Technik wird die unter A genannte Routineeinbettung modifiziert.

### C) Alternative Verfahren ohne Einbettung

#### Negative-Staining

Bei der Methode des Negative-Staining wird die Probe (Proteine, Bakterien, Viren, etc.) direkt auf einem Trägernetz nach Kontrastierung ohne weitere Bearbeitung untersucht. Diese Methode ist relativ schnell und ermöglicht insbesondere die Beurteilung z.B. von Liposomen, isolierten Proteinen und Organellen als auch anderen Partikeln hinsichtlich Größe und Homogenität. Auch diese Methode kann mit einer Immunogold-Markierung kombiniert werden.

#### Gefrierbruch-Techniken

Die kryofixierte Probe (in der Regel Zellen) wird im Hochvakuum gebrochen und mit dem Schwermetall Platin zur Kontrastierung schräg bedampft und die Schwermetallschicht des späteren Replikas mit einer Kohleschicht stabilisiert. Das Replika wird anschließend auf einem Grid aufgefangen. Zur Lokalisation von Proteinen kann das Verfahren mit Immunogold-Techniken kombiniert werden.

Das Hauptanwendungsgebiet der Gefrierbruch-Replika-Technik ist die Untersuchung von biologischen Membranen und ihrer Bestandteile.

## KOSTENSÄTZE ELEKTRONENMIKROSKOPIE

			<b>Kalkulation</b>	
<b>Empfänger</b>	<b>Beispiel</b>	<b>Geldgeber</b>	Teilkosten	Vollkosten
Extern	(Privat-)unternehmen	(Privat-)unternehmen		x
Extern	Universität	Drittmittel (DFG, BMBF, ohne Auftragsforschung), Landesmittel	x	
Extern	Universität	<b>Auftragsforschung</b>		x
Extern	Nicht (Privat-)unternehmen		x	
Intern	Klinik/Institut	Drittmittel (DFG, BMBF, ohne Auftragsforschung), Landesmittel	x	
Intern	Klinik/Institut	<b>Auftragsforschung</b>		x

### Übersicht über Leistungen, deren Umfang und die daraus resultierenden Kosten:

	<b>Intern (Teilkosten)</b>	<b>Extern (Vollkosten)</b>
Einbettung in LR White (bis zu 5 Gewebeproben/Zellkulturen)	25,53 Euro	136,80 Euro
Einbettung in Epon (bis zu 5 Gewebeproben/Zellkulturen)	29,78 Euro	143,37 Euro
Ultramikrotom (Anfertigung von Ultradünnsschnitte) (9 Grids für 3 Proben)	13,46 Euro	99,18 Euro
Immunogold-Markierung (9 Grids für 3 Proben)	18,70 Euro	126,29 Euro
Negative Staining (5 Grids pro Probe)	5,89 Euro	91,33 Euro
Freeze Fracturing (Replikas von 2 Proben)	13,68 Euro	151,25 Euro
Analysezeiten am Elektronenmikroskop (pro Stunde)	0,00 Euro	99,50 Euro