

# **Erfahrungsbericht von Tim Holler**

Freiwilliges Wissenschaftliches Jahr 2012/-13  
an der Medizinischen Hochschule Hannover



## **Projekt:**

**Untersuchung der Familiären Hypertrophen Kardiomyopathie  
mithilfe des sog. in vitro Motilitätsassays**

## **Betreuung durch:**

**Herrn Dr. Tim Scholz und Frau Prof. Theresia Kraft  
Medizinische Hochschule Hannover  
Molekular- und Zellphysiologie – OE 4210**



# Aufbau des Berichts

## Einleitung:

- Wie von dem FWJ erfahren?
- Warum beworben? + Erwartungen
- Warum dieses Projekt?

## Hauptteil:

- Das Projekt: Untersuchung der Krankheit FHC
- "in vitro motility assay"
- Sonstige Tätigkeiten

## Ergänzungen:

- Medien- und Pressearbeit
- Seminare
- Vorschläge für die zukünftigen FWJler
- Schluss



## EINLEITUNG:

### Wie von dem FWJ erfahren?

Von dem FWJ-Programm habe ich zum ersten Mal in der Schule gehört, denn mein ehemaliger Biolehrer hatte in den Herbstferien an einem Seminar an der MHH teilgenommen und so von dem Freiwilligen Wissenschaftlichen Jahr erfahren. Nachdem er uns diese Möglichkeit erläutert hat, habe ich mich in dieser Richtung weiter schlau gemacht, weil ich mir zu diesem Zeitpunkt noch absolut unsicher war, wie ich mir meine Zukunft nach der Schule vorstelle.

Außerdem gab es noch jemanden aus meinem Freundeskreis, der sich für den ersten Durchgang des FWJs beworben hatte und ich habe auch an einer "Berufsberatung" beim Arbeitsamt teilgenommen, wo man mich auch noch einmal auf das FWJ aufmerksam gemacht hat.

Ich hatte mich zu Beginn der Sekundarstufe II für ein naturwissenschaftliches Profil mit den LKs Chemie, Bio und Mathe entschieden, wobei ich mir auch andere Kombinationen für mich vorstellen konnte, aber mit der Zeit zeigte sich, dass diese Kombination wohl die beste Wahl gewesen war.

Ich habe immer mehr Interesse für diese Fächer entwickelt und ich hatte sehr viel Spaß daran, weshalb mich das FWJ dann immer mehr gereizt hat. Deshalb habe ich mich dann auch entschieden, zu einer der Informationsveranstaltungen zu gehen, was für mich sehr hilfreich und wichtig war, um einen richtigen Einblick in das Programm und seine Ziele zu bekommen.

Danach stand für mich fest, dass ich mich in erster Linie für das freiwillige wissenschaftliche Jahr bewerben möchte. Ich habe mich dann zwar auch für Studienplätze beworben, aber das nur, um einen Plan B zu haben, und ggf. den erhaltenen Studienplatz für das nächste Jahr aufzuheben.

### Warum beworben? + Erwartungen

Neben meinem großen naturwissenschaftlichen Interesse, fand ich es sehr spannend, zu sehen, wie in einem Forschungslabor gearbeitet wird. Was genau wird dort gemacht? Wie wird gearbeitet? Wie organisiert man das alles? ...

Außerdem war ich mir noch nicht sicher, was ich denn nun studieren möchte, denn gerade in dem naturwissenschaftlichen Bereich gibt es ja Unmengen an verschiedenen Studiengängen und anderen Möglichkeiten, wo man als Schüler kaum wissen kann, was sich jeweils wirklich dahinter verbirgt.

Mir war auch wichtig, eine längere Zeit mal an *einem* speziellen Thema zu arbeiten, alles von vorne bis hinten einmal mitzumachen, was gerade in der Schulzeit kaum möglich gewesen ist, um noch selbstständiger arbeiten zu können.



Aber auch oder vor allem die persönlichen Punkte waren letztendlich für meine Bewerbung entscheidend:

Mit ein bisschen Abstand vom Lern- und Prüfungsstress hat man einfach mal ein bisschen mehr Zeit, sich Gedanken darüber zu machen, wie man sich sein Leben vorstellt, in welche Richtung es gehen soll und ob es wirklich das ist, was man sich für seine Zukunft vorstellt (nicht nur bezogen auf die Arbeit, sondern vor allem auf den privaten Bereich).

Ich fand es sehr wichtig, praktische Erfahrungen zu sammeln, was zum Beispiel den Umgang /die Auseinandersetzung mit Problemen, Stresssituationen oder auch Menschen angeht. Das hatte ich mir vor allem (bewusst) von den geplanten Seminaren erhofft, aber natürlich nimmt man auch aus der Abteilung viele Erfahrungen mit, die dabei sehr hilfreich sind. (Ein abschließender Kommentar zu den Seminaren auf Seite 8.)

### **Warum dieses Projekt?**

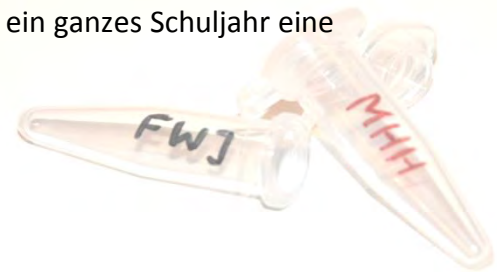
Ich habe mein freiwilliges wissenschaftliches Jahr in der Abteilung für Molekular- und Zellphysiologie unter der Leitung von Frau Prof. Theresia Kraft und Herrn Dr. Tim Scholz durchgeführt. In der Auswahlphase habe ich mich für dieses Projekt entschieden, weil mich vor allem die Projektbeschreibung angesprochen hat.

Ich hatte das Gefühl, dass mir dieses Projekt eine tolle Orientierungshilfe bieten konnte - dass ich viele Felder abdecken kann, viele Dinge sehen kann, lernen kann und einen guten Überblick über die verschiedenen Naturwissenschaften bekomme, was mir ziemlich wichtig war.

Außerdem fand ich es ansprechender, ein Projekt zu bekommen, das sich direkt auf dem MHH-Gelände befindet, um auch die anderen Bereiche der Forschung und der Klinik ein wenig kennenzulernen. Ich hatte mir erhofft, mit vielen verschiedenen Menschen sprechen zu können (z.B. nicht nur Forschern und Wissenschaftlern, sondern auch Ärzten, Assistenten und natürlich den Studenten selbst, um einige Meinungen einzuholen, was die berufliche Zukunft angeht.)

Neben diesem Wissensaspekt hat mir aber auch schon beim Vorstellungsgespräch die Abteilung sehr gut gefallen, weil die Betreuer und Mitarbeiter auf den ersten Blick sehr nett zu sein schienen und ich das Gefühl hatte, dort gut aufgenommen zu werden und mich dort wohl zu fühlen. (Und ich wurde nicht enttäuscht, Genaueres aber erst ab Seite 6) ;-)

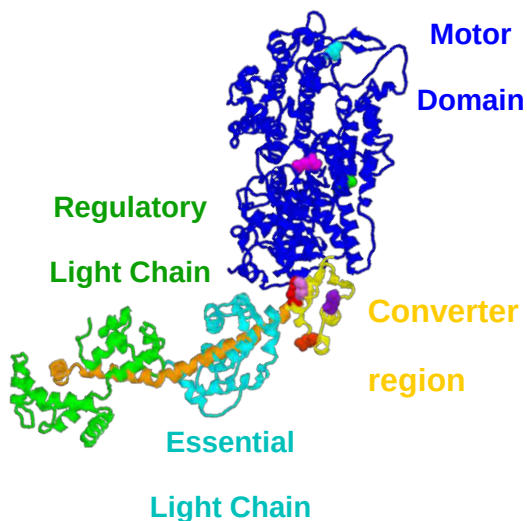
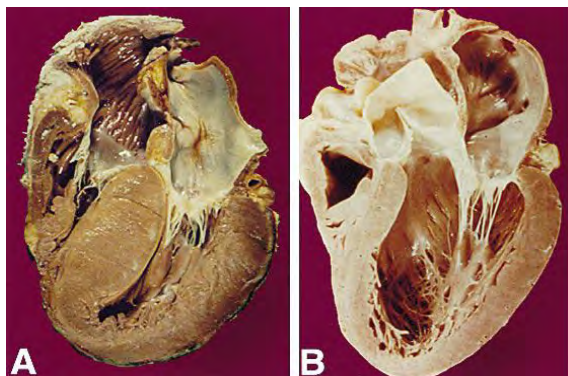
Mit dem Thema Physiologie hatte ich mich auch schon ein bisschen in der Schule beschäftigt, denn in dem frei wählbaren Seminarfach hatte ich mich für den Fachbereich Sport und Bio entschieden. Dort war es unsere Aufgabe, in kleinen Gruppen über ein ganzes Schuljahr eine "wissenschaftliche Studie" zu diesem Thema durchzuführen.



Meine Gruppe hat sich auf *"die Untersuchung der Auswirkungen von Traubenzucker auf die sportliche Ausdauerleistung"* geeinigt, und unter dieser Unterschrift haben wir einige Tests mit Probanden aus anderen Klassen durchgeführt und letztendlich unser Vorgehen und unsere Ergebnisse vorgestellt und in einer Facharbeit zusammengefasst. Das hat mir sehr viel Spaß gemacht und deswegen habe ich auch versucht, in dem FWJ ein Projekt zu finden, was in eine annähernd ähnliche Richtung geht.

HAUPTTEIL:

### Das Projekt: Untersuchung der Familiären Hypertrophen Kardiomyopathie



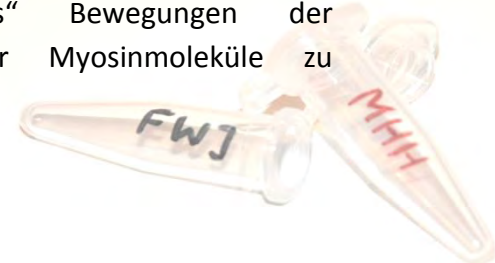
Bei der Krankheit FHC handelt es sich um eine erblich bedingte Herzkrankheit, die in der durchschnittlichen Bevölkerung relativ häufig vorkommt (1:500). Typische Symptome sind eine asymmetrische Verdickung der linken Herzkammer und Herzrhythmusstörungen – im schlimmsten Fall kann es zum plötzlichen Herztod kommen.

Der Auslöser für die Krankheit ist in 1/3 der Fälle eine Punktmutation im Muskel-Protein Myosin. Alleine in der Kopfregion des beta-Myosins sind mehr als 150 verschiedene Mutationen bekannt, die zu funktionellen Veränderungen des Herz-Muskels führen können.

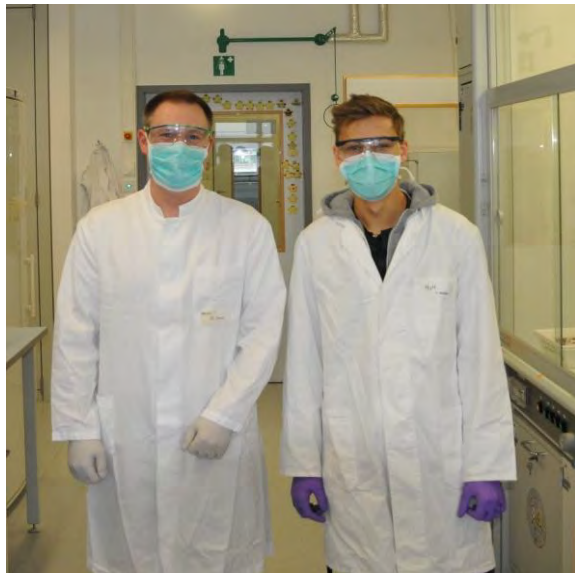
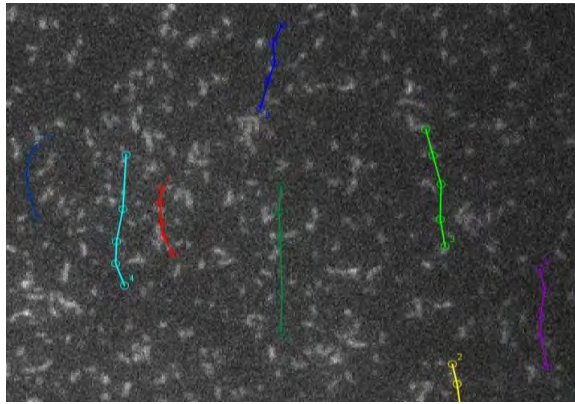
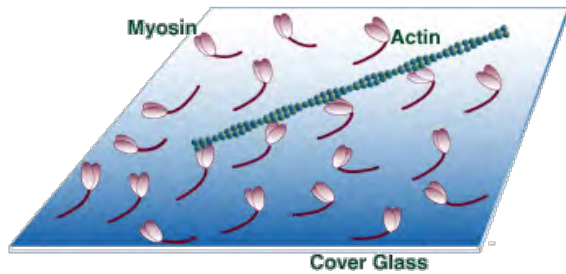
In meiner Abteilung gibt es verschiedene Projekte auf molekularer und zellulärer Ebene, die sich mit der Aufklärung dieser Krankheit beschäftigen und unterschiedliche Parameter untersuchen. Von dem Vergleich zwischen gesunden und krankhaft veränderten Proben erhoffen wir uns, wissenschaftliche Erfolge zu erzielen. Eins dieser Projekte führe ich durch:

#### "in vitro motility assay"

Meine Aufgabe als FWJler besteht im Wesentlichen darin, Myosin aus einzelnen Muskelfasern und Herzproben zu isolieren und mithilfe des sogenannten „in vitro Motilitätsassays“ Bewegungen der Aktinfilamente entlang der Myosinmoleküle zu beobachten.







Die Aktinfilamente, die auch im Muskel zusammen mit dem Myosin die Bewegung ausmachen, sind hier fluoreszenzmarkiert, d.h. man kann sie unter dem Mikroskop sehen und deren Bewegung verfolgen. Von den Probenkammern werden jeweils Aufnahmen gemacht, die später bei der Auswertung am PC genauer bearbeitet werden (siehe Bild). Letztendlich werden die Geschwindigkeiten der Aktinfilamente gemessen und miteinander verglichen.

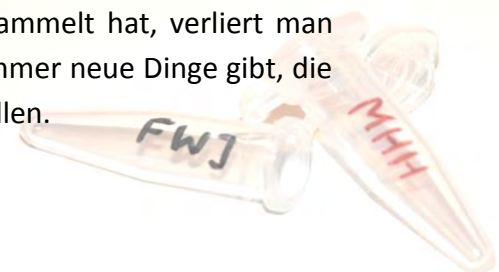
Neben der Vorbereitung, Durchführung und Analyse dieses Assays gehört natürlich auch die Präsentation der Daten zu meinen Aufgaben, sowie die regelmäßige Teilnahme an Laborbesprechungen und den sog. „Journal Clubs“.

Mit diesem Forschungsprojekt bin ich sehr zufrieden! Ich hatte zunächst eine sehr gute Einarbeitung durch eine Doktorandin (Eva Nemann, Zahnmedizinstudentin), die über diesen Assay ihre Doktorarbeit schreibt. Sie hat mir zusammen mit meinem Betreuer Tim Scholz alles gezeigt und mich angelernt, sodass ich nach ein paar Wochen schon relativ selbstständig alle Schritte alleine durchführen konnte. Mit der Zeit habe ich viele praktische Sachen gelernt - die Arbeitsabläufe konnten sicherer und routinierter durchgeführt werden.

Neben dem Umgang mit der Fluoreszenzmikroskopie und der Herstellung verschiedener Versuchslösungen beinhaltet die Umsetzung des Projektes auch die Polymerisation und Fluoreszenzmarkierung von Aktinfilamenten, die Herstellung von miniaturisierten Probenkammern (~1µl), gelelektrophoretische Techniken u.v.m...

Nach einiger Zeit konnte ich dann meine ersten eigenen Ergebnisse vor der Gruppe vorstellen und ein Teil meiner Ergebnisse ist auch schon auf medizinischen Kongressen bei Poster-Präsentationen gezeigt worden.

Von daher macht es auf jeden Fall sehr viel Spaß und auch wenn es lange dauert, bis man dann endlich mal genug verwertbare Daten gesammelt hat, verliert man nicht die Motivation, weil es immer neue Dinge gibt, die getestet/überprüft werden wollen.



## Sonstige Tätigkeiten

Neben diesem Forschungsprojekt habe ich aber auch bei vielen anderen Dingen mitwirken dürfen. Beispielsweise habe ich die Möglichkeit bekommen, an einigen Vorlesungen zur Physiologie teilzunehmen, weil viele Kollegen aus der Abteilung auch in der Lehre tätig sind. So konnte ich zum einen mehr über die Hintergründe und Zusammenhänge meines Projekts erfahren, aber auch einen Einblick in den studentischen Alltag bekommen.

Außerdem habe ich mir auch die studentischen Praktika zum Thema Physiologie regelmäßig angeschaut und im Säure/Base/Energiehaushalts-Praktikum durfte ich auch als Tutor bei einer der Stationen zum Thema Leistungs-/ und Sportphysiologie arbeiten.

Ich bin sehr froh, dass man mir hier in der Abteilung sehr Vieles zutraut und mir die Verantwortung für mein Projekt und auch andere Dinge überlässt. So habe ich zum Beispiel für ein paar Tage selbst einen Schülerpraktikanten betreuen dürfen und bei der Informationsveranstaltung im März den potentiellen Bewerbern für den nächsten FWJ-Jahrgang mich und mein Projekt vorstellen dürfen. Es gibt auch ab und zu Phasen, in denen ich weniger mit meinem eigenen Projekt beschäftigt bin, sondern eher den Kollegen über die Schulter schaue, was auch ein bisschen Abwechslung in den Alltag bringt.

Meine beiden Betreuer sind immer da, wenn ich sie brauche und auch wenn ich sonst Fragen habe, oder mir nicht so ganz sicher bin, was ich wie machen soll, gibt es immer jemanden, den ich ansprechen kann und der mir dann auch hilft.

Ich fühle mich hier also sehr wohl :-)

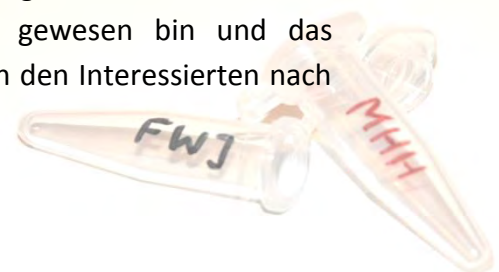
## ERGÄNZUNGEN:

### Medien- und Pressearbeit

Der kleine Einblick in die "Medienwelt" war für mich schon ganz lustig, denn ich hatte neben der Schule schon gerne privat Kurzfilme gedreht und Artikel für meine Handball-Mannschaft oder die Schülerzeitung geschrieben.

Das Radio war für mich dann aber noch mal etwas Neues und nach kurzem Zögern habe ich ja dann doch zugestimmt, mit einem Radiomoderator über mein Projekt und meine Motivation zu sprechen. Auch der Filmdreh für die Internet-Plattform "wissen.hannover.de" hat mir sehr viel Spaß gemacht und es war spannend zu sehen, was daraus geworden ist.

Ich habe mich auch gefreut, dass ich auf der offiziellen Info-Veranstaltung mein Projekt vorstellen durfte. Das hatte ich mir vorgenommen, schon als ich angenommen wurde, weil ich vor meiner Bewerbung selbst bei der Info-Veranstaltung gewesen bin und das unglaublich informativ und wichtig fand. Von daher wollte ich auch den Interessierten nach mir einen guten Einblick in das FWJ geben.



Nebenbei habe ich mit Simon Wagner aus dem Büro für Freiwilligen Dienste ja außerdem die Facebook-Seite "Freiwilliges Jahr in der MHH" aufgebaut. Das finde ich ganz sinnvoll, weil so eine Plattform für die meisten Freiwilligen, Interessierten und Ehemalige geschaffen wird, wo man sich austauschen kann, Informationen erhalten und einstellen kann. Es wäre sehr schön, wenn sich jemand findet, der sich dieser Sache annehmen kann, wenn Simon und ich mit dem Jahr fertig sind.

Ich kümmere mich seit ein paar Jahren auch um die Facebook-Seite von meinem Handball-Verein, von daher weiß ich, dass es bei so einer Seite wichtig ist, dass regelmäßig Meldungen eingestellt werden, damit die Seite nicht "einschläft" und ihre "Follower" verliert. Deswegen ist es ganz gut, dass ein Link zu der Seite auf der Homepage mittlerweile eingestellt wurde. Vielleicht kann man bei Veranstaltungen oder bei kommenden Seminaren die Freiwilligen darauf auch noch einmal hinweisen. Wir versuchen derzeit auch andere Organisationen bei Facebook auf diese Seite und den Freiwilligen Dienst an der MHH aufmerksam zu machen, damit potentielle Bewerber davon Wind bekommen (beispielsweise die HAZ, Ideenexpo, NP, Leibniz-Uni, usw...).

## Seminare

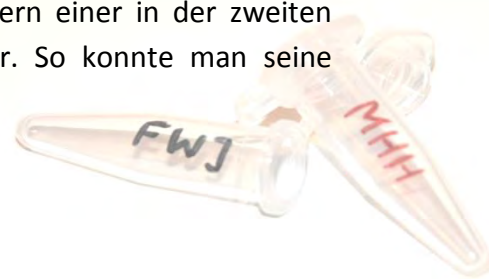
Die Seminare haben mir im Großen und Ganzen richtig gut gefallen! Von ein paar Freunden, die anderswo ein FSJ oder BFD leisten, habe ich gehört, dass die zu ihren Seminaren immer wegfahren und häufig mit unterschiedlichen Freiwilligen zusammenarbeiten. Ich fand es aber sehr schön, dass wir zu den Seminaren immer wieder in unserer Gruppe zusammen waren, sodass man sich öfter austauschen konnte und Freundschaften schließen konnte. Das war immer sehr angenehm und hat meistens auch sehr viel Spaß gemacht.

Auch inhaltlich finde ich die Themen sehr wichtig und gut ausgesucht! Bei dem ein oder anderen Thema hätte ich mir persönlich gewünscht, dass es intensiver behandelt wird, weil ich es vorher noch nie durchgenommen hatte – andere kannten es jedoch schon und dann ist es auch in Ordnung, nicht so viel Zeit dafür zu investieren.

Auch wenn die Seminare in erster Linie nicht zur Aneignung von Fachwissen gedacht sind, finde ich es gut, dass wir immer Handouts mit den wichtigsten Punkten bekommen haben. Das sollte man auch in Zukunft so beibehalten, damit jeder, der Lust hat, es auch mit nachhause nehmen kann.

Bei dem Vorweihnachtstreffen gab es ja so ein bisschen Kritik an dem zweiten Seminar "*Gute wissenschaftliche Praxis/Scientific English*", weil es bei dem ein oder anderen nicht zum Projekt gepasst hat... Auch bei mir ist nicht alles wirklich relevant gewesen, was dort vermittelt wurde, aber man kann es ja nicht jedem recht machen und für andere ist es eben doch wichtig, was behandelt wurde. Von daher sollte man an diesem Seminar meiner Meinung nach nichts ändern.

Sehr wichtig fand ich auch die zwei Encouraging-Tage und es war auch ganz gut, dass diese Tage bei meiner Gruppe nicht direkt nacheinander kamen, sondern einer in der zweiten Seminarwoche stattfand und der andere erst nach dem Winter. So konnte man seine Erfahrungen aus dem FWJ gleich mit einbinden.





## Vorschläge für zukünftige FWJ-Durchgänge

Für das FWJ 2013/-14 wurde das Ende der Bewerbungsfrist ja schon einen Monat nach vorne gezogen. Das finde ich ganz gut, denn so haben sowohl die Freiwilligen als auch die Abteilungen dann früher Planungssicherheit. Vor allem für Bewerber, die von weiter weg kommen, ist es so viel besser, deswegen würde ich das auch so beibehalten.

Ich fand es ein bisschen schade, dass man die vergünstigten Üstra-Fahrkarten erst so spät bekommen hat und nicht gleich zu Beginn des Jahres. Vielleicht kann man das in den folgenden Jahren mit der Üstra besprechen.

## Abschluss

Das Jahr hat mir in meiner Orientierung und Selbstfindung sehr geholfen und ich bin froh, dass ich nicht gleich nach dem Abi angefangen habe, zu studieren. Die Wissenschaft und Laborarbeit macht mir sehr viel Spaß und bestätigt mein Interesse an den Naturwissenschaften noch einmal. Ich habe vor allem gelernt, selbstständiger zu sein und zu arbeiten, was mir auch unglaublich wichtig gewesen ist. Den Bereich der Physiologie habe ich in diesem Jahr natürlich am besten kennengelernt und ich kann mir sehr gut vorstellen, auch in Zukunft daran weiter zu arbeiten.

Das Medizinstudium hatte ich für mich zunächst gar nicht so in Betracht gezogen, aber durch die Einblicke in die Arbeit eines Mediziners und die Gespräche mit vielen Kollegen und Studenten auch in der Klinik, ist mir immer mehr klar geworden, dass ich darauf große Lust habe und mir auch langfristig vorstellen kann, als Mediziner zu arbeiten, sei es als Arzt oder dann doch in der Wissenschaft. Ich hoffe sehr, dass ich hier an der MHH nach meinem FWJ eine Chance bekomme, ins Auswahlgespräch zu kommen.

Alles in allem habe ich mich nämlich hier an der MHH in diesem Jahr sehr wohl gefühlt und werde das Jahr in guter Erinnerung behalten! Ich habe viele tolle Menschen kennengelernt, viele neue Freunde gefunden und werde sicherlich ab und an mal wieder in meiner Abteilung oder im Büro für Freiwilligen Dienste vorbei schauen.

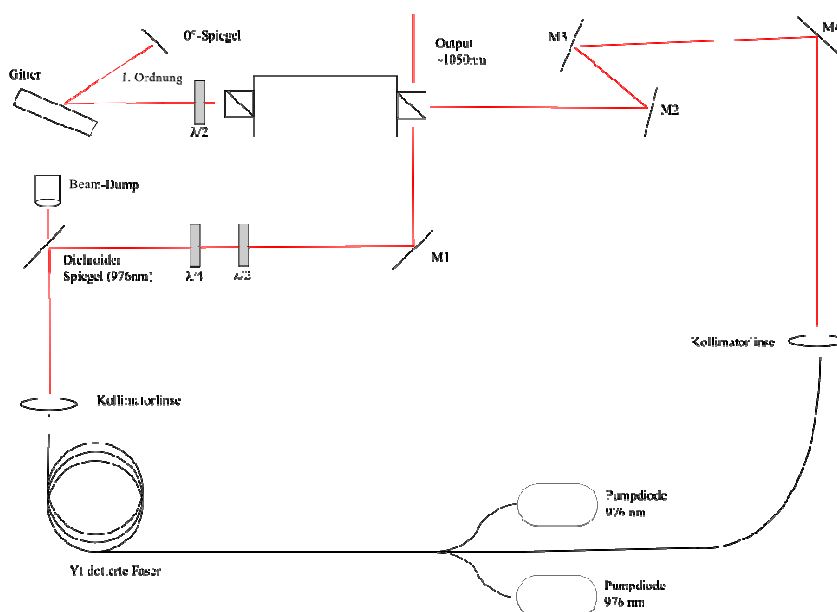
Danke für alles! :-)



## Erfahrungsbericht über das Freiwillige Wissenschaftliche Jahr am Laser Zentrum Hannover (01.09.2012 - 31.08.2013)

Seit dem 01.09.2012 bin ich im Rahmen des Freiwilligen Wissenschaftlichen Jahres (FWJ) am Laser Zentrum Hannover (LZH) in der Abteilung „Laserentwicklung“ (EW) tätig. Dort bin ich in der Forschungsgruppe „Single Frequency Lasers“ (SFL) tätig, welche sich unter anderem mit sogenannten Faserlasern beschäftigt.

Zu Beginn des FWJs im LZH gab es für uns vier FWJler drei einwöchige Praktika zu den Themen Elektronik, Löten und das Arbeiten mit einem Laser im Labor. Während des Elektronikpraktikums beschäftigten wir uns hauptsächlich mit verschiedenen Schaltungen und elektronischen Bauteilen wie Operationsverstärkern. Da ich während meiner Arbeitszeit kaum mit selbst zusammengesetzten Schaltungen verbrachte, war die Thematik nicht direkt wichtig für meine Arbeit, dennoch sehr interessant. Im zweiten Praktikum wurde die Thematik des Lötens behandelt. Während dieser Woche bekamen wir jeweils unterschiedliche Schaltungen, die es richtig zu verlöten galt. Aufgrund der gelegentlichen Arbeit mit dem LötKolben war auch dieses Praktikum sinnvoll und interessant. Das letzte Praktikum war jenes, welches am meisten mit meiner späteren Arbeit zu tun hatte. An der Leibniz Universität Hannover (LUH) erhielten wir das Laserpraktikum. Wir arbeiteten dort in einem kleinen Labor an einem einfacheren Laseraufbau. Diesen sollten wir aufbauen und den Laser schließlich auch zum Emittieren von Laserlicht bringen. Dieses gelang uns auch kurz, doch sollte dieser Erfolg nicht bis zum Ende des Praktikums andauern. Zwei Tage nach unserem kleinen Erfolg, versuchten wir den Laserprozess herzustellen, leider ohne Erfolg. Dennoch war dieses Labor- und Laserpraktikum für mich sehr interessant und war für meine spätere Tätigkeit im Labor hilfreich.



Während des FWJs bot sich mir die Gelegenheit unter anderem an zwei langzeitigen Projekten zu arbeiten. Das erste Projekt war ein faserbasierter Ringlaser mit einstellbarer Wellenlänge. Bei einem solchen System durchläuft das Licht immer wieder die laseraktive Faser und wird so verstärkt. Stellt man zusätzlich noch z.B. ein optisches Gitter mit in den Ring, wird nur ein kleiner Wellenlängenbereich (abhängig von der Stellung des Gitters) wieder in die Faser

zurückgekoppelt und der Laser beginnt stabil bei einer Wellenlänge zu emittieren (siehe Aufbauskitze). Das Ergebnis ist ein Laser mit einer einstellbaren Wellenlänge zwischen 1030 nm und 1060 nm. Dieser Laser diente zur Stabilisierung eines sogenannten Faser-Verstärkers in einem anderen Experiment.

Das zweite Langzeitprojekt beschäftigt sich mit einer Simulation eines weiteren Lasers. Das Ziel der Simulation ist es, die optimale Faserlänge im Bezug auf sich verändernde Parameter, wie unterschiedliche Pumpleistung und unterschiedliche Reflektivität des Auskopplungsgitters, zu berechnen. Die Simulation wurde in Python geschrieben, jedoch nicht von mir. Mir obliegt die tabellarische und graphische Auswertung der noch laufenden Simulation.

Zudem arbeite ich mit dem CAD-Programm SolidWorks und entwerfe Bauteile, die von anderen Mitarbeitern gebraucht werden und nach der Vorlage aus SolidWorks gefertigt werden. Außerdem habe ich noch ein Modell einer Beschichtungsanlage mit diesem Programm Stück für Stück erstellt (für Beispielsbilder siehe Anhang).

Von der MHH wurden fünf Seminarwochen vorgegeben zu den Themen Kommunikation, Encouraging, wissenschaftliche Praxis und wissenschaftliches Englisch, Bewerbungsgespräch und Etikette, die Planung des Studiums, Life-Work-Balance, interkulturelles und soziales Lernen und das Abschlussseminar. Die FWJler wurden in drei Seminargruppen aufgeteilt deren Größe zwischen ca. 15 bis 20 FWJlern lag.

Die erste Seminarwoche war neben der Thematik Kommunikation auch dazu gedacht unsere Seminargruppe kennen zu lernen. Hierzu wurden Teamspiele genutzt und ebenso die Kommunikation behandelt. Diese Seminarwoche war sehr abwechslungsreich und trug deutlich dazu bei, dass sich unsere Seminargruppe sehr gut versteht. Für mich persönlich war das Seminar interessant und ich habe einige Dinge daraus mitgenommen.

Das zweite Seminar war interessant, jedoch thematisch sehr auf Medizin und Biologie bezogen und somit trotz einiger Themenexkursionen in die Richtung Physik für jene, die nicht an einem medizinischen oder biologischen Institut tätig sind, etwas unpassend. Für dieses Seminar empfehle ich, die FWJler nach der Ausrichtung ihres Instituts zu gruppieren, damit das Programm passender gestalten werden kann. Da ich in der 10. Klasse Biologie abgewählt habe, kann ich beispielsweise wenig mit der Replikation von DNA anfangen. Dennoch war meiner Meinung nach, Dr. Talbot ein guter Referent. Dieses zeichnet sich dadurch aus, dass er, wenn er merkte, dass die meisten an einem Thema nicht so stark interessiert waren, dieses kürzer gestaltete und immer wieder andere Themen ansprach.

Die zwei Seminartage zum Thema Encouraging ähnelten der Struktur des ersten Seminars, doch empfand ich manche Aufgaben, die mit dem Präsentieren der eigenen Persönlichkeit zu tun hatten, als teilweise unangenehm. Die Seminarleiterin berücksichtigte den Wunsch, manche Teile der Aufgaben nicht vorzustellen.

Die Thematiken Bewerbungsgespräch, Etikette und Planung des Studiums fielen in die dritte Woche. Es wurden zwar bekannte Bereiche wiederholt, aber auch neue Bereiche sind zum Wissen um Bewerbungsgespräche und Etikette hinzugefügt worden. Es war interessant, aber einige Fragen wurden nur mit „Es ist einfach so.“ beantwortet. Der Nachmittag an der Universität zum Thema Planung des Studiums war aufschlussreich und auch sehr wichtig für einige.



Der nachzuholende Vormittag zum Thema Work-Life-Balance war schlecht. Es wurden zwar verschiedene Themen angesprochen, wie zum Beispiel mögliche Schwangerschaften im Studium, die meiste Zeit gab es jedoch eine Diskussion zwischen der Vortragenden und zwei FWJler, um einige Kommentare der Vortragenden, die männerfeindlich wirkten.

Das letzte Seminar beinhaltete interkulturelles und soziales Lernen. Dieses war gut organisiert und abwechslungsreich. Vor allem das Gespräch mit der Krankenhaus-Seelsorgerin und der soziale Standrundgang von „Asphalt“ waren sehr interessant und es war positiv, dass man auch unseren Themenwunsch zum Thema „Sterbehilfe“ berücksichtigt hat. Zudem kam noch der selbstgestaltbare Freitagnachmittag, welchen wir zu einer „Gruppenübung“ mit dem Spiel „Werwölfe“ nutzten. Dieses kam Sonjas Rollenspiel nahe, in welchem es um einen erschlagenen Mann ging und die Schuldzuweisung.

Das Abschlusssseminar zum Thema Präsentation wird erst noch folgen.

## **Fazit**

Für mich hat sich im Laufe der letzten zehn Monate herausgestellt, dass es genau die richtige Entscheidung war, sich für das FWJ zu bewerben. Die Tätigkeit im LZH hat mir Freude bereitet. Ich führte verschiedene Tätigkeiten, von Laborarbeit, über Konstruktionsarbeiten, bis hin zu einigen kleineren Fräsarbeiten durch. Die Konstruktionsaufgaben fanden bei mir großen Anklang. Die Seminare haben auf Grund der Teilnehmer in der zweiten Seminargruppe sehr viel Spaß gemacht und gleichzeitig auch wichtiges Wissen vermittelt. Die Arbeit im LZH und der regelmäßige Besuch der Experimentalphysik II – Elektrizität als „Juniorstudent“ hat mich darin bestärkt Physik zu studieren. Das FWJ hat einen sehr positiven Eindruck bei mir hinterlassen und ich empfehle dieses Jahr jedem, der sich noch nicht in der Studienwahl sicher ist, und/oder vor dem Studium einen persönlichen Eindruck von der Tätigkeit in einem Forschungsinstitut der gewünschten naturwissenschaftlichen Richtung erlangen möchte.

## **Danksagung**

Mein Dank gilt dem Laser Zentrum Hannover und dem Büro für Freiwillige Dienste an der MHH, welche mir die Möglichkeit boten, für die Dauer des Freiwilligen Wissenschaftlichen Jahres hier tätig zu sein.

Für dieses interessante und lehrreiche Jahr möchte ich mich bei Michael Steinke, Dr. Peter Wessels, Marc Priehs und Dr. Marco Jupé für die sehr gute Betreuung während des Freiwilligen Wissenschaftlichen Jahres am LZH bedanken.

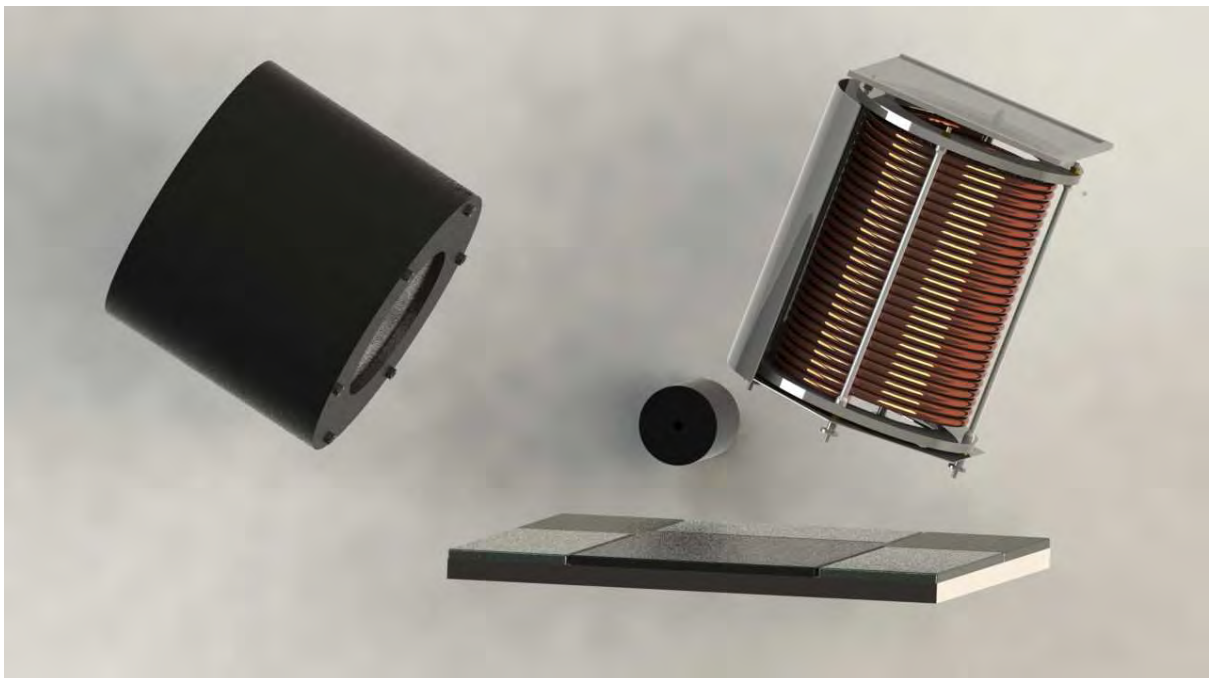
Für das angenehme Arbeitsklima bedanke ich mich bei der Abteilung „Laserentwicklung“.

Des Weiteren möchte ich mich bei den anderen FWJler Nicole Knust, Malte Misfeldt und Jan Müller für die gemeinsame Zeit hier bedanken.

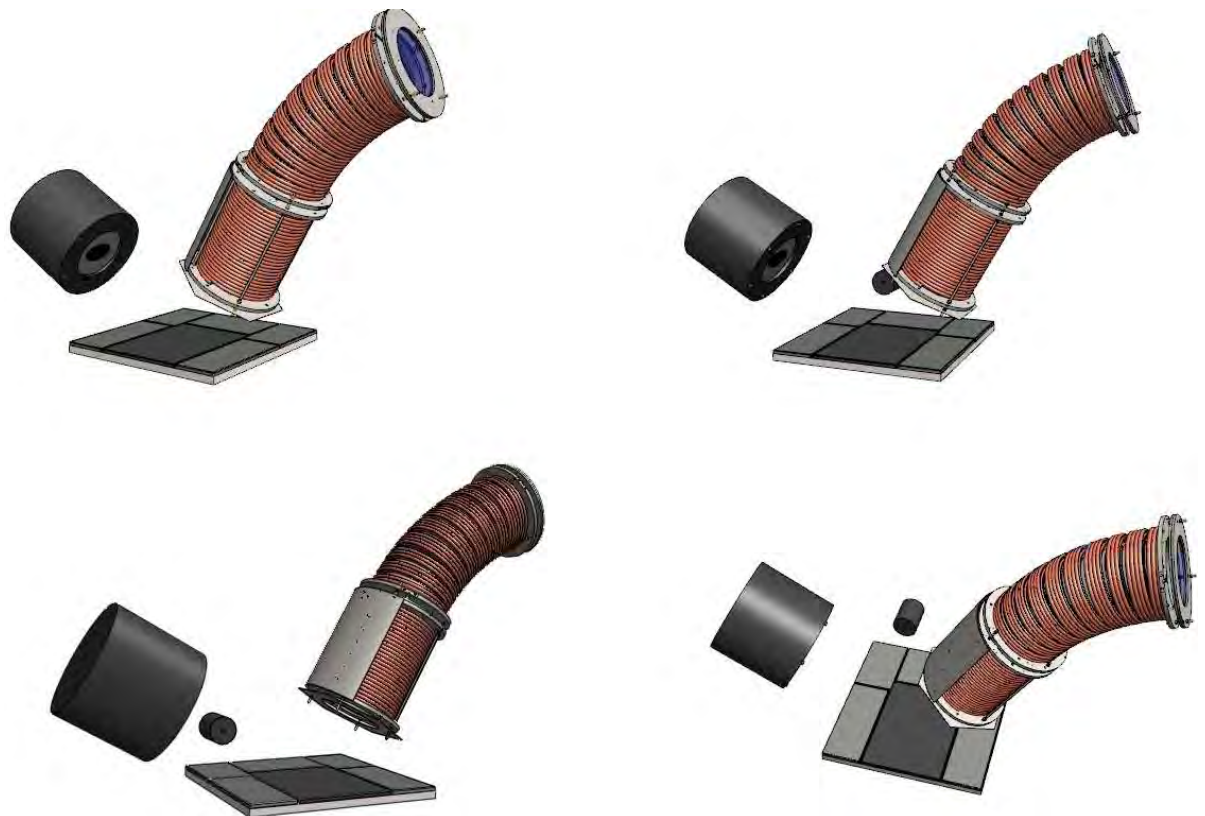
Anhang:



Die erste Version des Modells der Beschichtungsanlage



Die zweite Version des Modells

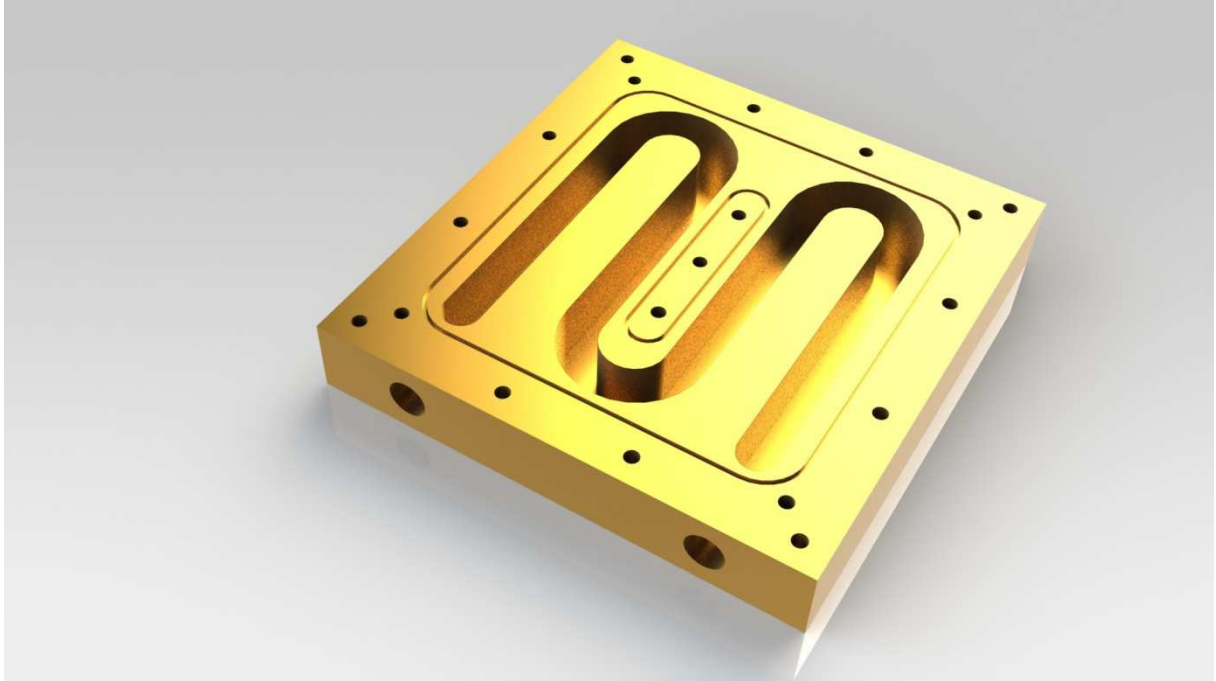


Die dritte Version des Modells (kein Rendering)



Die dritte Version des Modells (Rendering)





Eine vergoldete Laserdiodenkühlplatte

# Abschlussbericht Freiwilliges Wissenschaftliches Jahr

Von Anne Graw

An meinem ersten Tag des FWJ's kam ich an eine mir unbekannte Hochschule, in einer mir fremden Stadt, in ein fremdes Institut, zu einem fremden Chef und war bereit, 1 Jahr einem Projekt zu widmen, von dem ich noch nichts wusste.

Hatte ich mir das gut überlegt? Nun fast ein Jahr später ziehe ich ein erstes Fazit.

Was habe ich aus diesem Jahr mitgenommen? Was hat mir dieses eine Jahr gebracht?

Viele Menschen prophezeiten mir, ich würde ein Jahr verschwenden. Viele fragten, ob ich diesen Freiwilligendienst leisten würde, weil ich noch nicht wüsste wie weiter. Unsinn.

Molekulare/Medizinische Biotechnologie sollte es werden, das wusste ich. Einen Studienplatz hatte ich. Wie es weiter gehen sollte, wusste ich also ganz genau. Warum dann dieses „verschwendete“ Jahr fragten viele verwirrt.

Und dann präsentierte ich ihnen meine Vorstellung davon, was mir das Jahr bringen würde. Warum ich es für sinnvoll erachte, dieses Jahr einzuschieben, obwohl ich doch schon einen Studienplatz hatte.

Ich wollte sehen, was passiert denn, wenn ich das Studium abgeschlossen habe? Das Studium würde genau nach meinen Interessen sein, das wusste ich, doch was mache ich dann mit einem Bachelor/Master of Science? Was passiert dann?

Außerdem wollte ich praktische Erfahrung im Labor sammeln, meinen zukünftigen Kommilitonen einen Schritt voraus sein. Einen einfacheren Start in mein Studium haben. Erstes fachliches Wissen erlangen. Nicht aus der Vorlesung sondern aus der Praxis heraus!

Und ja, natürlich habe ich mich auch gefreut mal ein Jahr kein Prüfungsstress zu haben, einfach mal Feierabend haben, wenn ich nach Hause komme.

Und nun, ist meine Zeit fast um. Und was habe ich mitgenommen? War es ein verschwendetes Jahr?

Ich kann schon mal so viel sagen, meine Zeit verschwendet habe ich nicht!

Ich habe so einiges mitgenommen.

Erst einmal kann ich mir nun selber die Frage beantworten: Was ist Forschung und was macht gute Forschung aus?

Forschung ist für mich der Versuch, ungelöste Fragen zu beantworten. Der Versuch ist es nur deshalb, weil man sich doch nie sicher sein kann, so oft man einen Versuch wiederholt, ob nicht beim 101. Mal etwas anderes dabei herauskommt. Man kann sich der Wahrheit nur annähern, ob man sie wirklich gefunden hat, kann man nie genau sagen. Forschung bedeutet Wiederholungen. Um der Wahrheit näher zu kommen und um den Fehler kleinst möglich zu halten, muss man Versuche wiederholen, wieder und wieder. Daraus folgt, dass Forschung auch manchmal langweilig ist und

meistens langwierig. Es wäre ja auch zu einfach, wenn immer alles auf Anhieb klappen würde. Man muss so lange an seinen Versuchen schrauben, drehen, validieren und herumprobieren, bis man das erhaltene Ergebnis als „es klappt“ betiteln kann. Dabei sind, das habe ich gelernt, Negativ- und Positivkontrollen essentiell. Und da diese bei einigen Versuchen teils nicht möglich sind und man somit nicht weiß, ob es nun geklappt hat oder nicht, ob das Ergebnis spezifisch oder doch nur zufällig ist, muss man weitersuchen, nach anderen Möglichkeiten, seine Frage zu beantworten. Und das verlängert die Langwierigkeit um ein Vielfaches. Also, Forschung ist langwierig! Forschung baut auch sehr stark auf Kontakten auf und ist in sich hochpolitisch. Häufig braucht man in der Forschung viele teure Geräte, so teuer, wie ich es mir nie zu träumen gewagt hätte. Und wenn dann das Gerät, so wie das Massenspektrometer, mit dem ich gearbeitet habe, um die 500.000€ kostet und nur einen einzigen Knopf hat, dann fragt man sich schon, wofür das ganze Geld. Man braucht vielleicht, wenn ein Forschungsprojekt einen ungeahnten Verlauf nimmt, bestimmte unsagbar teure Geräte nur ein paar Mal. Oder das für die Forschung vorgesehene Geld reicht einfach nicht aus, dann muss man eben die Kontakte zu anderen Instituten und Forschungsgruppen nutzen oder aufnehmen, um deren Ausstattung mit zu nutzen. Dabei erweisen sich meist schon bestehende und gut gepflegte Kontakte als sehr hilfreich. Wäre ja auch Unsinn, wenn jede Forschungsgruppe sich jedes Gerät selber kaufen würde. Somit heißt Forschung auch Teilen.

Und warum ist Forschung nun politisch? Forscher sind, meist zu Recht, sehr stolze Menschen und so ein Institut ist nach einer klaren Ordnung aufgeteilt. Institutsleitung- Stellvertreter- Arbeitsgruppenleiter- Doktoranden/Technische Assistenten/ Studenten. Wenn man nun etwas von anderen Arbeitsgruppen braucht, sollte man stets Institutsintern über die Gruppenleiter, institutsextern über die Institutsleitung gehen, um niemanden zu übergehen. Manchmal ist es gar nicht so einfach, immer den richtigen Weg zu wählen, ohne irgendwo anzuecken und trotzdem seinen eigenen Anliegen durchzusetzen.

Was habe ich noch mitgenommen aus meinem Freiwilligen Dienst? Ich wollte doch einen Einblick in mein späteres Berufsfeld bekommen, sehen, was kommt nach dem Studium, was passiert danach?

Ich habe in diesem Jahr gelernt, Arbeiten in der Forschung ist dynamisch! Kein vorhersehbares Berufsbild. Da man die Antwort auf die Frage ja noch nicht kennt, kann man auch nicht wissen, wie es mit dieser Antwort dann weiter geht. In welche Richtung einen der nächste kleine Fortschritt lenkt. Somit bedeutet dieser Beruf auch unglaublich viel Abwechslung, mal abgesehen von der schon erwähnten Wiederholung. Diese Abwechslung geht jedoch Hand in Hand mit der Unsicherheit. Niemand gibt einem eine Garantie darauf, dass man Antworten findet. Außerdem hat man in der freien Forschung auch häufig nur befristete Verträge, was eine allgemeine Unsicherheit in Bezug auf den Arbeitsplatz bedeutet.

In der Forschung zu Arbeiten bedeutet für mich auch Abhängigkeit. Da ich ja schon festgestellt habe, dass man auf Kontakte angewiesen ist, um sowohl Wissen, als auch Geräte und Materialien von anderen zu beziehen, begibt man sich in eine gewisse Abhängigkeit. Und nicht nur dies, man ist ebenso abhängig von der Arbeit anderer. Mir persönlich fiel dies auf, als mein eigenes Projekt in die Phase der bioinformatischen Auswertung kam. Niemand ist ein Experte in allen Bereichen, keiner kann eine Frage ganz alleine beantworten, ein Projekt ganz allein bestreiten. Man ist abhängig von dem Wissen anderer, von der Hilfe anderer. Man ist abhängig von Kooperationspartnern, vom Chef und ich bekam besonders oft die Abhängigkeit von Zentraleinkauf der MHH zu spüren. Als FWJ-ler merkt man wahrscheinlich am meisten die Abhängigkeit vom Wissen anderer und von der

Betreuung. Als frisch gebackener FWJ-ler kann man nicht einfach mal irgendwas herumexperimentieren. Ohne Fachwissen, ohne praktische Erfahrung. Man ist abhängig davon, dass einem eine Richtung vorgegeben wird. Dass einem gesagt wird, dass man mit Handschuhen keine Türklinken anfasst und mit Acetonitril nur unter dem Abzug gearbeitet werden darf. Man ist auch besonders abhängig davon, dass die lieben Kollegen es schaffen, ihr hochkompliziertes, in vielen Jahren Studium erlerntes Fachwissen, auf Abiturniveau herunterzubrechen. Und nicht direkt verlangen, dass man etwas mit Aliquotieren und Vortexen anfangen kann. Man ist abhängig davon, dass man erst einmal mehr Betreuung und Einführung in das Thema bekommt, als ein Student es brauchen würde. Dadurch, dass mir in dieser Einführungsphase, aber auch über das ganze FWJ hinweg viel von meiner Arbeitsgruppe gegeben wurde, gebe ich dann auch gerne zurück und hänge mich mit vollem Enthusiasmus in mein Projekt und bin dann auch gerne mal das Mädchen für alles. Das ist meine Form der Dankbarkeit. Meine Dankbarkeit dafür, dass man immer wieder für meine Unwissenheit Verständnis hatte und so viel Mühe aufbrachte, um mich nicht in dieser Abhängigkeit verhungern zu lassen. Somit kam ich dann auch zu der Ehre zwei Wochen eine Schülerin in ihrem Praktikum zu betreuen und einer Schülerin am Zukunftstag zu zeigen, was in der Forschung so auf sie wartet. Ein wenig Selbstüberwindung kostete mich dann jedoch die Betreuung Hochschulinterner Bachelor- und Masterstudenten. Hierbei wurde ich also vom einen auf den anderen Tag in einen weiteren wichtigen Teil der Forschung geschubst, die Lehre. Forschen bedeutet auch Wissen an andere weitergeben, das heißt, Vorlesungen oder Seminare halten. Aber eben auch Praktika in den eigenen Hallen durchführen. Natürlich habe ich unsere zwei Gruppen von Praktikanten nicht alleine betreut. Ich „lehrte“ jeweils nur in dem Gebiet, welches sich auch mit meinem Thema beschäftigte. Außerdem hatte ich im ersten Durchgang, den 5 Bachelorstudenten, tatkräftige Unterstützung von meinem Mentor, der mich während meines FWJ's betreut. Im zweiten Durchgang mit gleich doppelt so vielen Studenten, die nun auch schon etwas länger im Studium steckten, durfte ich mich dann mal ganz alleine ans Werk machen. Und ich muss sagen, ich weiß gar nicht, wie das ein Dozent mit 50 oder 100 Studenten in einer Vorlesung aushält. Also diese 10 wuseligen, schwatzhaften, aber auch interessierten Studenten haben mich ordentlich auf Trapp gehalten!

Und nun zu dem, was ich an fachlichem Wissen über das Jahr hinweg gelernt habe. Erst einmal habe ich so dies und das gelernt, allgemeine Dinge, angefangen bei:

-1 $\mu$ L ist 1/1000mL,

-an einer sterilen Werkbank arbeiten und das ist um einiges schwerer als es klingt!

-Verdünnen(Hierzu brauchte ich einige Anläufe, vor allem um zu begreifen, dass etwas 1:5 verdünnen nicht heißt, ein Teil von dem einen und fünf Teile von dem anderen zu nehmen, sondern, dass man insgesamt 5 Teile hat und ein Teil davon das zu Verdünnende ist und die restlichen 4 das ist, mit dem man verdünnt.)

-Gel-Elektrophorese, und vor allem das Gel-Gießen

-der Zusammenhang zwischen g, rcf und rpm bei einer Zentrifuge

-was ist eGFP

Bis hin zu:

-was bedeutet Zellen füttern und ernten



-was ist ein PHD

-wie wird man ein Professor

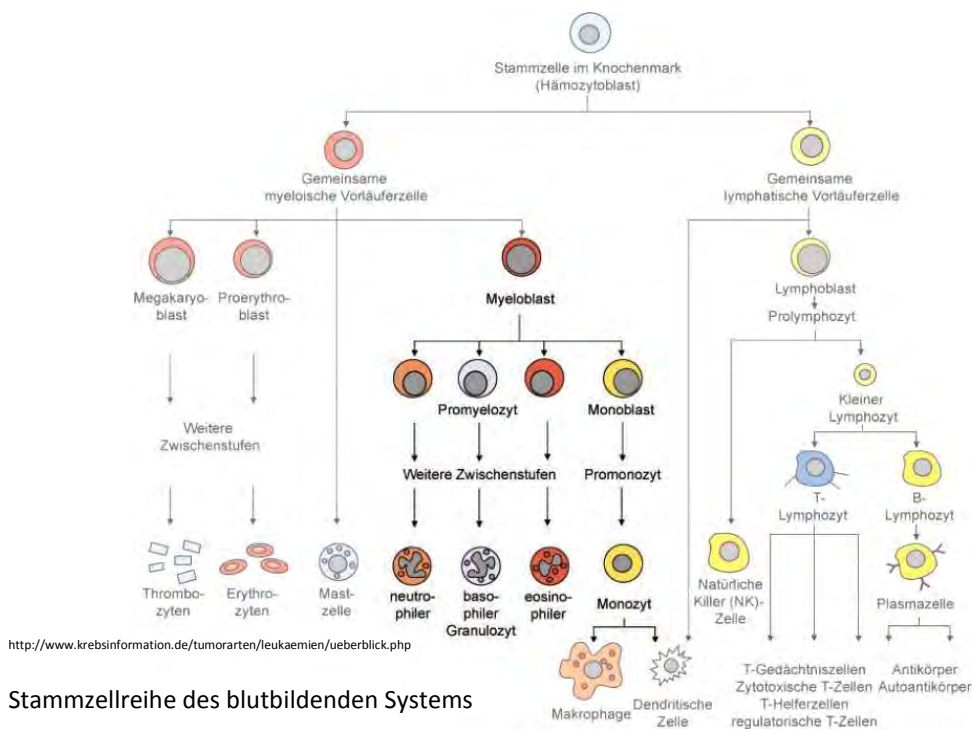
-wie läuft eine Masterarbeit und deren Verteidigung ab

Außerdem habe ich sehr viel über andere Projekte gelernt, naja gehört würde ich mal sagen. Einerseits durch unsere vielfältige Arbeitsgruppe, andererseits durch die regelmäßige Teilnahme an institutsinternen wöchentlichen Seminaren, in denen renommierte Paper oder die eigenen Projekte vorgestellt wurden. Besonders wichtig für die Weiterentwicklung meiner Fähigkeiten im wissenschaftlichen Denken erachte ich die Besprechungen unserer Arbeitsgruppe, in denen wir weitere Schritte und Probleme unserer eigenen Projekte ansprechen konnten und in der Gruppe darüber diskutierten.

Und nun, zu dem, was ich spezifisch in meinem Projekt gemacht und gelernt habe.

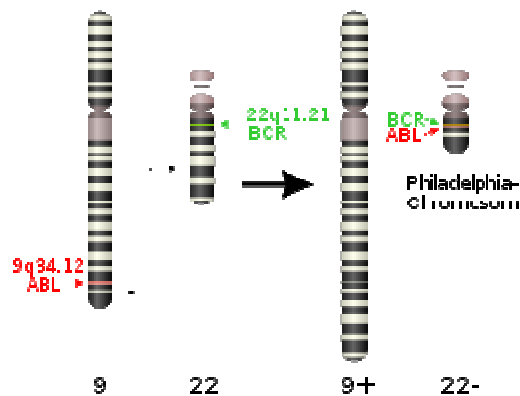
Ich habe das Plasmaproteom von Patienten mit einer Chronischen Myeloischen Leukämie untersucht und dabei die Gruppe der Imatinibresistenten der Gruppe gegenübergestellt, die auf Imatinib ansprechen. Uff! Für einen Normalsterblichen nicht wirklich sofort durchschaubar. Verständlicher Weise! Also nochmal von vorne. In meinem Projekt beschäftige ich mich mit dem Blutplasma von Patienten, die an einer Leukämie erkrankt sind. Genauer einer chronischen myeloischen Leukämie. Leukämie wird im Volksmund auch „Blutkrebs“ genannt. Und das trifft es eigentlich auch schon ganz gut. Das menschliche Blut wird im Knochenmark gebildet. Dieses liegt zum größten Teil in Röhrenknochen wie dem Oberschenkelknochen und nicht, wie viele Menschen fälschlicher Weise denken, in der Wirbelsäule. Dort sitzt das Rückenmark!

Zurück also zum Knochenmark. Dort sitzen bestimmte Stammzellen, also ursprüngliche Zellen, aus denen verschiedenste Blutzellen gebildet werden können. Hier ergibt sich eine Stammzellreihe, wobei es zu einer immer stärkeren Ausdifferenzierung der Stammzellen kommt.



Wie kommt es denn nun zu einer chronischen myeloischen Leukämie?

Hierbei wird durch Mutagene eine Mutation in den myeloischen Stammzellen hervorgerufen. Dies führt zu einer Translokation von 9. und 22. Chromosom, d.h. je ein Arm dieser beiden Chromosomen bricht ab und setzt sich an das jeweils andere Chromosom. Dabei entsteht das so genannte Philadelphia Chromosom. So wird das sehr kleine jetzt fehlerhafte 22. Chromosom bezeichnet.



<http://de.wikipedia.org/wiki/Philadelphia-Chromosom>

Und was passiert dann?

Über der Bruchstelle des 9. liegt das ABL-Gen und unter der Bruchstelle des 22. Chromosomen das BCR-Gen. Wenn diese beiden nun aneinandergefügt werden, so wurde es mir bildhaft erklärt, ist ABL der Motor und BCR das durchgetretene Gaspedal. Und was rauskommt, ist eine hoch regulierte Thyrosinkinase, ein Enzym, das jetzt mehr macht, als es soll. Kommt es also zu dieser Translokation (t(9;22)) werden BCR und ABL zu BCR-ABL zusammengefügt und die Thyrosinkinase verstärkt exprimiert, also gebildet. Dieses Enzym verhilft der Tumorzelle dazu schnell zu wachsen und sich unkontrolliert zu teilen. Hierbei befinden wir uns immer noch im Knochenmark, wo auch einige andere blutbildende Zellen außer den myeloischen liegen. Diese werden nun verdrängt und die Tumorzellen breiten sich aus. Weiterhin können aus diesen veränderten Zellen keine funktionstüchtigen fertigen Zellen gebildet werden. Diese wären weiße Blutkörperchen, welche wichtig für die Immunabwehr sind. Somit entsteht bei den Betroffenen eine große Menge an kaputten Zellen. Hierdurch treten erste Symptome wie allgemeine Schwäche, erhöhte Anfälligkeit für Krankheiten, Blässe und eine schlechte Kondition auf. Das Gefährlichste an dieser Krankheit sind mit ihr einhergehende weitere Erkrankungen, die das stark beeinträchtigte Immunsystem nicht bewältigen kann.



Funktionsweise von Imatinib als Thyrosinkinaseinhibitor

Glücklicherweise, gibt es seit 2001 dank N. Lydon, A. Matter und B. Druker einen Wirkstoff, genannt Imatinib, der als Thyrosinkinaseinhibitor das überproduzierte Enzym hemmt und die Leukämie zurückdrängt. Leider kann dieser sie nicht heilen, wodurch es zu einer chronischen Erkrankung kommt, die ein Leben lang medikamentös behandelt werden muss.

Und was war da jetzt mit der Resistenz?

Während des Verlaufs der Erkrankung kann es zu weiteren Mutationen in dem neu geschaffenen BCR-ABL-Gen kommen, wodurch sich auch die Konformation der Thyrosinkinase ändern kann. Was zur Folge hat, dass der Hemmstoff für diese nicht mehr richtig „passt“ und sich das Befinden des Patienten verschlimmert, die Anzahl der „kaputten“ weißen Blutkörperchen steigt und die der gesunden sinkt.

Bei solch einer Verschlechterung werden diagnostische Mutationsanalysen auf bekannte Mutationen durchgeführt, um herauszufinden, welchen der anderen leicht veränderten Thyrosinkinaseinhibitoren, die mittlerweile entwickelt wurden, der Patient nun nehmen könnte. Wenn nichts hilft, muss als letzte Möglichkeit eine Knochenmarkstransplantation durchgeführt werden, wobei gesunde Stammzellen von anderen Menschen transplantiert werden, um den Patienten zu retten. Dies geht leider jedoch mit einer starken Beeinträchtigung des Immunsystems einher und ist daher mit einem hohen Risiko verbunden.

Und was hat mein Projekt jetzt mit dieser Krankheit zu tun?

Die Informationen über die CML dienen als Hintergrundwissen für mein Projekt. Ich habe mein FWJ im Institut für Zell- und Molekularpathologie an der Medizinischen Hochschule Hannover geleistet. Ein Schwerpunkt des Instituts ist die Diagnostik von verschiedensten Leukämien. Um eine Leukämie und deren Stadium zu diagnostizieren, senden die behandelnden Ärzte Blut und Knochenmarkspuren von den Patienten ein. Und hier komme ich ins Spiel. Ich habe während meines FWJ's täglich die Überstände dieser Proben gesammelt. Beim Blut ist das das zellfreie Blutplasma, beim Knochenmark gibt es keine direkte Bezeichnung dafür, es ist jedoch ebenfalls zellfrei. Da für die Diagnostik nur die Zellen betrachtet werden, wurde diese durch meine Abnahme von 500µL Überstand je Probe nicht beeinträchtigt.

Trotzdem war es anfangs nicht ganz leicht meine Arbeit und mein kurzes „Dazwischenfunken“ im Diagnostikbereich zu etablieren. Diagnostik geht natürlich vor Forschung. In der Diagnostik gibt es viele sehr aufeinander abgestimmte Prozesse, die verständlicherweise erst mal keine Lust darauf hatten, von mir gestört zu werden. Den betroffenen Kollegen beizubringen, dass ich ihnen nichts Böses will und sich die „Behinderung“ der Prozesse nur auf 2-3min belaufen würde, bedurfte sehr viel Zeit, Fingerspitzengefühl und eine ganze Menge Freundlichkeit. Mittlerweile läuft meine Probenabnahme perfekt auf die Diagnostiker abgestimmt und einwandfrei reibungslos. Somit konnte ich bis jetzt (Juni 2013) ca. 460 Proben Blutplasma/Knochenmarksüberstand sammeln. Das Protokoll zum Entnehmen und Aufreinigen der Proben zu entwerfen war eine meiner ersten Aufgaben während des FWJ's.

## Protokoll- Plasmaprobenaufbereitung

### Inhalt

1. Welche Proben sind relevant?
2. Vorbereitung
3. Entnahme der Probe
4. Verarbeitung der Probe
5. Lagerung der Probe

### 1. Welche Proben sind relevant?

- ALL, AML, CML
- PB und KM
- nur EDTA, kein Heparin
- nicht älter als 24h, bei Verlaufspatienten ja
- Unterschrift unter der Einverständniserklärung

### 2.Vorbereitung

- Schale mit Eis besorgen
- E-Scheine nach genannten Kriterien( siehe 1.) sortieren
- Eppendorfgefäße vorbereiten (beschriften)
- relevante Proben bereitstellen und mit Eppendorfgefäßen abgleichen

### 3.Entnahme der Probe

- Probe vorher nicht schütteln
- 500µl mit der Pipette (mit Filter in der Spitze)vorsichtig(Plasma darf nicht den Filter berühren) entnehmen
- dann:
- Proben wieder chronologisch einsortieren (Ständer für Molekularpathologie)
- Eppendorfgefäße auf Eis legen

#### 4.Verarbeitung der Probe

-Zentrifugieren :

-4°C

-400rcf (0,4x1000)

-10min

-Zentrifuge 5415 R

-Rotor: F45-24-11

-je nach Überstand des Plasmas 100-300µl in ein Nunc und Rest in PCR-Stripes verteilen (mindestens 10 µl)

-WICHTIG: nur Plasma, keine Erythrozyten; evtl. etwas Plasma als Abstand lassen

-Mengen notieren

Beschriftung:

-Nunc: XXXX (C-Nr.)

tt.mm.jj PB

Stripe: C-Nr. (XXXX) PB/KM

tt.mm.jj (ausdrucken)

#### 5.Lagerung der Probe

-Mittelraum, mitte-unten-links

-bei -80°C

-links das Nunc-Röhrchen rechts daneben die PCR-Stripes(ggf. oben Nunc darunter Stripe)

-Box und Lage des Nuncs in der Box notieren und im Register vermerken



Doch ein Jahr lang einfach nur Tag für Tag Proben zu sammeln und einzufrieren hätte den Sinn eines WISSENSCHAFTLICHEN Jahres weit verfehlt. Daher durfte ich mich mit einem Teil dieser Proben auf Proteinebene mit Hilfe der Massenspektrometrie beschäftigen.

[MALDI-]Massenspektrometrie, auch ein Wort, was mir vor diesem Jahr fremd war.

Ein [MALDI-]Massenspektrometer ist ein Gerät, welches Teilchen, in meinem Fall eben Proteine ionisiert, das heißt ihnen eine Ladung verpasst, sie auf Grund dieser Ladung beschleunigen kann, dies auch tut und dann fliegen lässt. Die Proteine also, befinden sich im Vakuum und haben nun eine Geschwindigkeit, die je nach Masse je Ladungsverhältnis unterschiedlich ist und sich während der Flugzeit nicht mehr ändert, da keine weitere Beschleunigung erfolgt. Zum Schluss treffen sie auf einen Detektor. Mit Hilfe der gemessenen Zeit und der bekannten Flugstrecke kann somit die Masse je Ladung bestimmt werden.

Und was bedeutet MALDI?

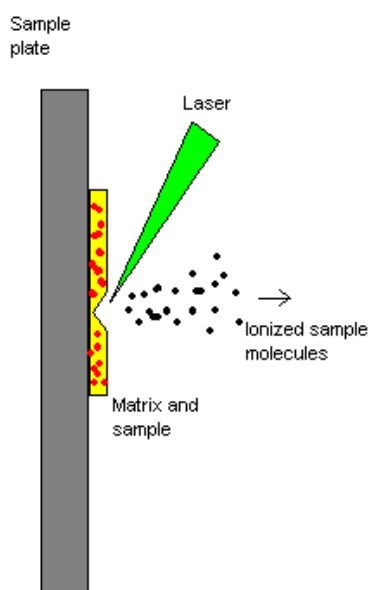
MALDI ist die Abkürzung für „Matrix-assisted Irgendwie muss meine zu messende Probe in das Massenspektrometer gelangen. Hierzu trägt man eine aufgereinigte Probe mit Proteinen auf ein so genanntes Target auf. Das ist eine wiederverwendbare Metallplatte mit bestimmten Polierungen. Die proteinhaltige Probe wird mit einem Volumen von 1µL auf die polierten Spots aufgetragen und dann lässt man sie trocknen.

laser desorption/ionization“.



<http://efnagreining.raunvis.hi.is/maldi.jpg>

Daraufhin wird ebenfalls 1µL Matrix aufgetragen und getrocknet. Die Matrix besteht aus einem Pulver, welches mit Acetonitril und Di-Ammonium-Hydrogenphosphat angesetzt wird und wenn es trocknet, Kristalle bildet, die Proteine einschließen können.



Das Target mit der Probe, in die Matrix eingebaut, wird dann in das Massenspektrometer eingeschleust. Würde man nur die proteinhaltige Probe auftragen, so würde der Laser die Proteine zerstören anstatt sie zu ionisieren und in die Gasphase zu bringen. Schießt der Laser jedoch auf die Matrix mit den eingebauten Proteinen, so werden die Proteine sanft aus den Kristallen gelöst, ionisiert und in die Gasphase gebracht.

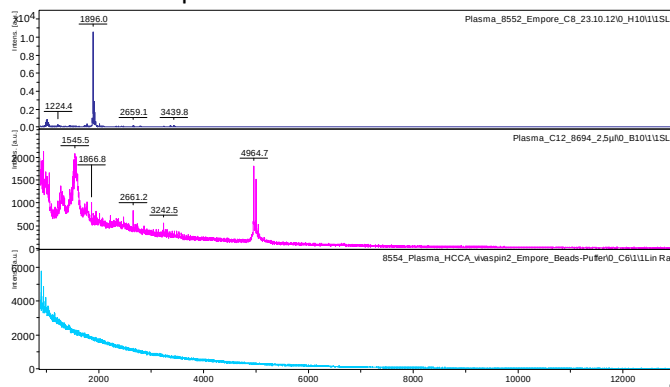
Die Daten, die man dann aus diesen Messungen erhält, werden in Form eines Spektrums angezeigt. Hierbei steht jeder Peak(jede Spitze) dieses Spektrums für ein Protein, genauer, für das Masse-je-Ladungsverhältnis eines Proteins. Somit erhält man ein Spektrum, welches das Proteom(die Gesamtheit der Proteine)der gemessenen Probe widerspiegelt. Hierdurch kann ein gewisser „Fingerabdruck“ der Probe erstellt werden.

<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/a/a4/Maldi.PNG>

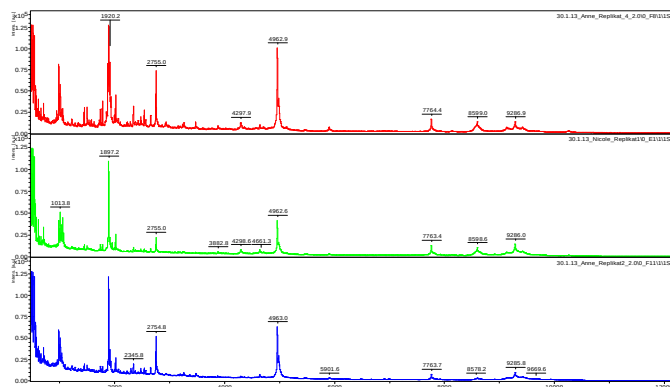
In meinem Projekt habe ich diesen „Fingerabdruck“ von 28 Patienten, die an der chronischen myeloischen Leukämie erkrankt sind und von denen ich 2-4 Proben im Verlauf habe, erstellt und verglichen. Hierbei stellte ich 7 Patienten mit einer Imatinibresistenz 21 gegenüber, die auf das Medikament ansprechen. Die Aufreinigung und Messung dieser 70 Proben kostete viel Mühe und Zeit. Da ich jede Probe 4-mal aufgereinigt habe, hatte ich bei dieser Tätigkeit das Vergnügen, 280-mal die Bedeutung von Wiederholungen in der Forschung am eigenen Leib zu erfahren.

Doch bevor es überhaupt so weit kam, musste ich am Anfang meines FWJ's erst einmal eine Methode finden, die Plasmen aufzureinigen.

Plasma besteht nicht nur aus Wasser und Proteinen. Lipide und Salze sind ebenfalls stark darin vertreten. Diese beiden weiteren Bestandteile stören jedoch die Kristallisation der Matrix und somit die Messung enorm. Damit ein Spektrum eben nicht so:



sondern so:



aussieht, müssen die Fette und Salze da raus. Außerdem gibt es im Plasma bestimmte Proteine, wie Albumin, die den Großteil der Proteine ausmachen und dadurch die Signale anderer Proteine überdecken, für die Forschung aber uninteressant sind.

Um dieses Problem zu beheben, habe ich eine ganze Weile damit verbracht, nach geeigneten Methoden zu recherchieren und sie auszuprobieren. Erst einmal klingt das ziemlich langweilig, ständig klappen Versuche nicht. Ich selber habe diese Zeit jedoch sehr genossen, da meine Frustrationsgrenze nicht überschritten wurde und ich mir den positiven Aspekt vor Augen hielt: Ich konnte eine Vielzahl von häufig genutzten molekularbiologischen Methoden ausprobieren, sie verstehen und lernen anzuwenden. Aufgrund von den schon erwähnten Positiv- und Negativkontrollen wusste ich ja, dass die Methode selber geklappt hat, nur für meine Anwendung nicht geeignet war.

So erlernte ich den Umgang mit Magnetic Beads, SDS-Geldelektrophorese, Stagetips, Emporetips, Trypsinverdau, Vivaspin, HPLC und weiteren. Bis letztendlich eine recht einfache, jedoch wirkungsvolle Methode dabei heraus kam:

## Protokoll Aufreinigung der Zellüberstände mit ZipTip C18

(Protokoll je Probe 4-mal wiederholen)

### Vorbereitung

-Plasma bei RT auftauen

-30µL Acetonitril in ein PCR-Tube geben

-je 30µL 0,1% TFA(Trifluoressigsäure) in 2 PCR-Tubes geben

-Elutionslösung: 3,5µL Acetonitril + 0,7µL 1% TFA + 2,8µL H<sub>2</sub>O

=> 7µL Elutionslösung (50% ACN, 0,1%TFA) in ein PCR-Tube geben

-10µL Plasma mit 10µL 2% TFA verdünnen und in ein PCR-Tube geben

-HCCA-Matrix ansetzen: 2mg HCCA-Pulver( $\alpha$ -Cyano-4-hydroxycinnamic acid) + 875µL Acetonitril + 125µL (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (10mM)

!WICHTIG! Matrix NICHT vorher eindampfen

-ZipTip C18 bereitlegen

### Durchführung

-ZipTip mit 3x10µL Acetonitril befeuchten(10µL in die Pipettenspitze aufziehen und verwerfen)

-3x mit je 10µL 0,1% TFA spülen (10µL in die Pipettenspitze aufziehen und verwerfen)

-der verdünnte Zellüberstand 10x in der ZipTip „hoch- und runterpipettieren“

-3x mit 10µL 0,1%TFA spülen und verwerfen

-5x die Elutionslösung „hoch- und runterpipettieren“

-2x je 1µL des Eluats auf einen Spot auf das Target auftragen und trocknen lassen

-je 1µL HCCA-Matrix daraufgeben und trocknen lassen

Nach einer ersten groben Auswertung meiner Daten kam es zu meinem persönlichen Höhepunkt des FWJ's. Im März hatte ich die große Ehre, mit einem Teil meiner Arbeitsgruppe auf den Kongress „Proteomic Forum 2013“ in Berlin zu fahren. Und nicht nur das, die Masterstudentin meiner AG und ich durften unsere Projekte und Ergebnisse zusammengefasst auf wissenschaftlichen Postern auf dem Kongress vorstellen. Was für eine Ehre!

Auf diesem 5-tägigen Kongress lernte ich viele andere Proteomwissenschaftler kennen, besonders überrascht war ich, als mir Friedrich Lottspreich DER Proteomforscher gegenüber stand und mir beim Einrollen meines Posters half. Zuletzt hatte ich ihn auf der Rückseite des Bioanalytikbuches gesehen, welches ich mir in meiner Einarbeitungsphase zu Gemüte führte. Auf dem Proteomic Forum hatte ich außerdem die Möglichkeit, viele neue und aktuelle Proteomforschungsgebiete kennen zu lernen und das Neueste über Methoden zur Proteomerforschung, unter anderem von renommierten Firmen wie Bruker, zu hören.

Mein kleiner Schwachpunkt auf dem Kongress war jedoch, es war ALLES auf Englisch! Gar nicht so einfach und ganz schön viel für meine Schulenglisch. Glücklicherweise wurde dieses über das halbe Jahr hinweg schon ein wenig durch Paperlesen und Seminare in Scientific English geschult. Ebenso war ich sehr froh, kurz vor dem Kongress mein Seminar in „Businessetikette“ absolviert zu haben, da ich weiß Gott keine Ahnung hatte, was mich dort erwartete.

Auf dem Kongress selber wurde ich dann ziemlich überrascht, da sich die Wissenschaftswelt dort viel weniger spießig gab, als ich erwartet hatte. Hatte ich ausschließlich Anzugträger erwartet, waren diese eher die Minderheit. Alle waren sehr aufgeschlossen und freundlich und niemand glaubte mir, dass ich noch nicht studiert habe und ein FWJ mache. Dies enthielt ich den Menschen jedoch bewusst vor, als es um die Präsentation meines Projektes in einer Postersession ging. Bei solchen Sessions werden ca. 100 Poster für 1,5h nebeneinander ausgestellt und die interessierten Kongressteilnehmer können diese betrachten, Fragen stellen und Meinungen abgeben.

Ziemlich aufgeregt und noch etwas schüchtern stand ich dann also auf einer der drei Postersessions vor meinem Poster und wartete auf Interessenten. Überraschend groß, jedenfalls von meiner Sicht aus, war das Interesse an meinem Poster. Viele Fragen wurden gestellt, Visitenkarten, Mailadressen, Tipps und Tricks zur Aufreinigung und Messung von Plasma für die Massenspektrometrie ausgetauscht. Einige waren jedoch auch ziemlich kritisch und ab und zu musste ich mir dann doch mal Verstärkung holen, beim Beantworten der Fragen und vokabeltechnischen Unsicherheiten. Trotzdem, niemandem viel auf, dass ich grade mal mein Abitur gemacht hatte.

Kurzum, dieser Kongress brachte für mich einen ganzen Haufen Erfahrungswerte mit sich und diese 5 Tage füllten den Topf mit der Aufschrift „was habe ich aus dem FWJ mitgenommen“ um ein erhebliches Stück.

# Monitoring of Imatinib resistance formation in chronic myeloid leukemia on the plasma proteome level

Anne Graw, Amelie Stalke, Aleksandra Shcherbakova, Gudrun Göhring, Brigitte Schlegelberger, Tonio Oumeraci, Nils von Neuhoff

Institute of Cell and Molecular Pathology, Hannover Medical School

## Introduction

Chronic myeloid leukemia (CML) constitutes 15 % of adult leukemias and is characterized by constitutional activation of the Abl tyrosine kinase caused by the Bcr-Abl translocation. Current therapy regimens are based largely on the specific tyrosine kinase inhibitor Imatinib (Gleevec). Imatinib resistance formation, particularly during accelerated phase and blast crisis, therefore poses a major hindrance to CML treatment.

## Pilot study aim

Imatinib resistance involves a complex network of protein pathway aberrations which are still poorly understood. Detecting these proteomic changes in plasma taken during routine therapy surveillance may lead to the identification of prognostic markers or enhanced therapeutics.

## Methods

For this pilot study, 70 EDTA plasma samples from 7 Imatinib-resistant and 21 responsive CML patients (Table 1) were subjected to proteomic analysis. Common intervals between repeated CML patient presentation were 3-4 months.

Table 1: Patient demographics

| CML status          | patients | mean age (years) |
|---------------------|----------|------------------|
| Imatinib-resistant  | 7        | 49 ± 17          |
| Imatinib-responsive | 21       | 58 ± 15          |

A MALDI-TOF mass spectrometry-based method was used to generate low-molecular-weight plasma proteome profiles. Plasma was desalted and fractionated using solid phase extraction in a reversed-phase system (Figure 1). Proteome profiles were analyzed statistically for peak masses corresponding to Imatinib resistance.



Figure 1: Standardized sample preparation for MALDI-TOF analysis using solid phase extraction

## Results

Comparative bioinformatic analysis of mass profiles showed plasma protein expression alterations in Imatinib-resistant CML patients. In the mass range 1 - 13 kDa, 21 peaks were found to be significantly altered in Imatinib-resistant patients compared to responsive control cases. Exact mass matching suggests the deregulation of a variety of plasma constituents such as fibrinopeptide A, humanin-like protein 8 and gamma-brain natriuretic peptide (BNP).

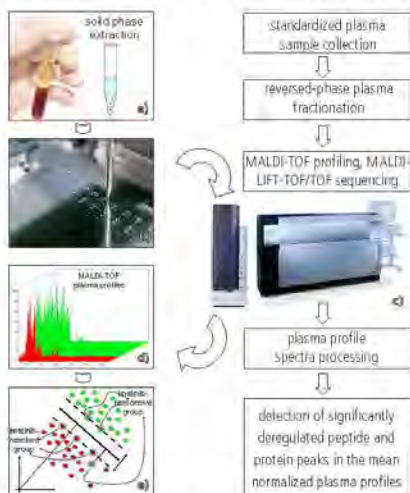
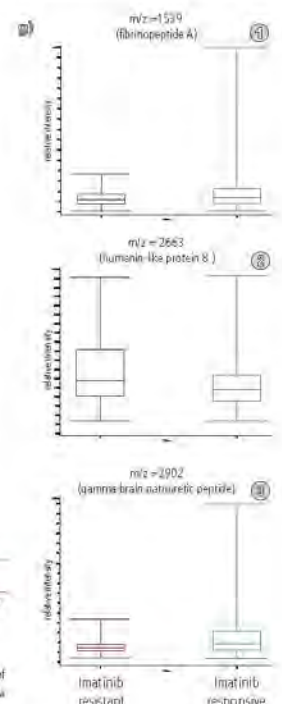
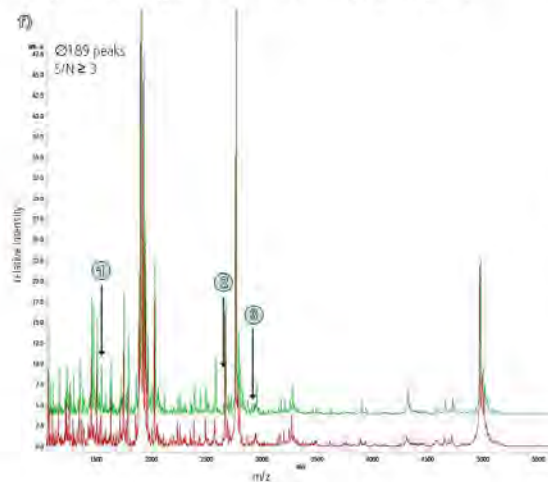


Fig. 2 a) Sample preparation using solid phase extraction; b) application of the eluted plasma peptides and proteins to an AnchorChip™ prestructured MALDI target plate (Bruker Daltonics); c) acquisition of profile spectra up to 13 kDa using a highly sensitive linear MALDI-TOF device (Bruker Microflex II) and reflectron MALDI-TOF/TOF spectra (Bruker Ultraflex II); d) stacked MALDI-TOF profile spectral view of plasma samples taken from Imatinib-resistant (red) and Imatinib-responsive (green) CML patients; e) bioinformatic classification of the plasma profile spectra; f) mean normalized and smoothed plasma profile spectra in the mass range below 6 kDa; g) box plots of the normalized intensities of three Imatinib resistance-linked peaks



## Summary

Using our standardized method to acquire MALDI-TOF plasma proteome profile spectra, we have shown the deregulation of 21 plasma proteins and peptides in a small pilot cohort of 28 CML patients. Aside from their potential of becoming clinical biomarkers for Imatinib resistance assessment and risk stratification, the analysis of longitudinal samples from repeated CML patient presentation might also provide new insights into the pathways and mechanisms involved in Imatinib resistance formation. This pilot study serves to demonstrate that it is feasible to screen a larger CML patient cohort for Imatinib-resistance-linked plasma biomarkers in a clinical setting. To detect temporal correlations, a model that includes corrections for longitudinal time shift, heterogeneity among patients and random effects will be required. Proteins within clusters exhibiting correlating temporal patterns are likely to mirror therapy-related alterations that could contribute to the understanding and early detection of Imatinib resistance on the proteome level.



Zu Beginn des FWJ's hatte ich mir das Ziel gesteckt, mehr darüber zu erfahren, wie mein Weg NACH dem Studium aussehen wird bzw. kann. Aber ich habe nicht nur das erreicht, sondern auch viel davon mitbekommen, wie mein Weg während des Studiums aussehen wird.

Da wir die Möglichkeit hatten, während unserer Arbeit auch Vorlesungen zu besuchen, hab ich dieses Angebot einfach mal wahrgenommen und einige Vorlesungen über Mikrobiologie und Biochemie besucht. Dabei habe ich festgestellt, dass es sehr unterschiedliche Arten gibt, eine Vorlesung zu halten und Wissen zu vermitteln. Natürlich ist es mit weniger Aufwand verbunden, einfach nur vor sich hin zu erzählen und an die Tafel zu schreiben. Jedoch empfand ich diese Art der Lehre als sehr eintönig. Hierbei muss man unglaublich schnell mitschreiben, kann kaum wirklich mitdenken und behalten kann man davon am wenigsten. Viel angenehmer und effektiver fand ich es, wenn es schon Skripte zu den Vorlesungen gab, wodurch man nur noch Bemerkungen ergänzen musste und viel mehr Kraft dafür verwenden konnte, mitzudenken. Ebenso werteten PowerPoint Präsentationen und in kleineren Vorlesungen auch gelegentliche Diskussionen zwischen Dozent und Studenten eine Vorlesung ungemein auf. Besonders gefielen mir die Vorlesungen von PD Dr. Heiner Wolfes, der am Ende jeder Vorlesung ein zur Vorlesung passendes Kochrezept einbrachte. Und so bekam ich nicht nur Wissen durch Praxis sondern auch durch Theorie vermittelt und weiß nun, was mich in Vorlesungen erwarten kann.

Das Studentenleben hatte für mich aber noch mehr zu bieten. Besonders nutzte ich das kostenlose Sportangebot der hannoverschen Hochschulen. So konnte ich unglaublich interessante Sportarten wie Tricking, ganz zur Belustigung meiner Kollegen, Hiphop, Slackline, Kickboxen und Tai Chi ausprobieren. Und mir die für mich geeigneten heraussuchen, um mich über das Jahr hinweg fit zu halten. Das war auch mehr als nötig, denn wenn man das erste Mal alleine wohnt, isst man auch nur das, was einem schmeckt und das ist nicht immer so vorteilhaft.

Auf Grund des regen Kontaktes zu Studenten über meine Arbeitsgruppe und meine Betreuung der Praktikanten sowie über den Hochschulsport, habe ich schon so einige Tipps für mein zukünftiges Studium erhalten und so einiges gelernt. Besonders überraschte mich, dass praktische Arbeiten, wie ich sie über das Jahr hinweg gemacht habe, erst ziemlich spät im Studium vermittelt werden und erst einmal die theoretische Ausbildung im Vordergrund steht. Somit bin ich ziemlich glücklich darüber, dass ich dieses Jahr in Angriff genommen habe, da ich es mir ziemlich schwierig vorstelle, bestimmte Techniken zu verstehen, ohne sie selber praktisch anzuwenden. Genau deshalb plane ich auch, am Ende meines FWJ's noch mal so oft wie möglich grundlegende Techniken auszuprobieren bzw. zu wiederholen. Auch diese, die ich für mein Projekt selber noch nicht verwendet habe. Mit diesen praktischen Fähigkeiten und Erfahrungen im Gepäck möchte ich mich dann, wenn mein Studium es zulässt, während meiner Studienzeit für eine Stelle als wissenschaftliche Hilfskraft bewerben, um in Übung zu bleiben und weitere praktische Erfahrungen dazuzugewinnen.

Wenn ich mein Freiwilliges Wissenschaftliches Jahr Revue passieren lasse, denke ich, dass es ein Jahr ist, bei dem es für mich erst einmal um nichts ging, keine Prüfungen, keine Noten. Und doch geht es um so viel. Ich als Freiwilliger war und bin selbst dafür verantwortlich, wie viel ich aus diesem Jahr für mich mitnehme. Ich denke, ohne Ehrgeiz, Interesse, Eigeninitiative und eine große Portion Hartnäckigkeit wäre es ein abgesessenes Jahr gewesen. Dann hätten die warnenden Stimmen Recht gehabt und ich hätte ein Jahr verschwendet. Stattdessen habe ich mich nicht damit abgefunden, wenn der Arbeitsfluss stockte und ich mal nichts zu tun hatte. Das ist einer der Gründe, warum ich so viel aus diesem Jahr mitnehme, nicht nur fachliches, sondern auch, Softskills. Trotzdem bin ich der



Meinung, dass ich ohne die Verantwortung, die mir übergeben wurde, nicht so frei hätte dieses Jahr gestalten können. Sowohl, dass ich mir meine Arbeitszeiten selber einteilen durfte, als auch die eigenverantwortliche Arbeit mit Patientenmaterial, Chemikalien und Geräten, haben mir viel Zeit geschenkt, die ich sinnvoll nutzen konnte. Eben auch, weil ich so ernst genommen wurde, viel ernster als ich es jemals erwartet hätte. Weil ich behandelt wurde wie ein vollwertiges Teammitglied, war der Ansporn umso größer, zu beweisen, dass ich dieser Verantwortung gewachsen bin. So konnte ich weitgehend eigenständig arbeiten, eigene Lösungen für Probleme finden und meine Ideen einbringen. Dies alles sind Gründe dafür, dass ich mein freiwilliges Jahr so intensiv nutzen konnte und nun für mich feststelle, dass ich schon vor diesem Jahr die richtige Entscheidung getroffen habe. Ich bin mir sicher, dass Medizinische/Molekulare Biotechnologie der Studiengang ist, den ich studieren sollte. Über dies hinaus hat dieses Jahr meine Motivation für das Studium verstärkt, denn mein Wissensdurst ist noch lange nicht gestillt. Aber nicht nur das. Ich bin mir auch sicher, dass das Berufsfeld, welches sich nach dem Studium für mich öffnet, das richtige für mich ist. Und das liegt nicht nur daran, dass es in diesem Beruf keinen Dresscode gibt und Kittel so unglaublich vorteilhaft sind. Ich kann mir kaum einen anderen Beruf vorstellen, der so gut mit meinen persönlichen Interessen und Fähigkeiten übereinstimmt.

Meine Ziele vor dem FWJ waren es mir die Fragen zu beantworten:

Was passiert, wenn ich das Studium abgeschlossen habe? Was mache ich mit einem Bachelor/Master of Science? Was passiert dann nach?

Und über dies wollte ich praktische Erfahrung im Labor sammeln, meinen zukünftigen Kommilitonen einen Schritt voraus sein. Einen einfacheren Start in mein Studium haben. Erstes fachliches Wissen erlangen. Nicht aus der Vorlesung sondern aus der Praxis heraus!

Ich denke mit diesem Jahr habe ich einen realistischen Einblick in die Welt der Forschung erlangt und habe mir somit die gestellten Fragen beantwortet.

In wie weit ich meinen zukünftigen Kommilitonen voraus bin, kann man im Moment nur abschätzen, aber ich denke der einfachere Einstieg in mein Studium, im Vergleich zu vor einem Jahr, ist mir garantiert. Über dies hinaus habe ich um einiges mehr mitgenommen als erwartet und kann für mich das FWJ als einen vollen Erfolg betrachten. Außerdem habe ich viele unglaublich tolle Menschen kennengelernt und Kontakte geknüpft, auf die ich hoffentlich während meines Studiums und darüber hinaus aufrechterhalten und nutzen kann.

Kurzum:

Es hat sich gelohnt!

Zum Abschluss möchte ich mich noch bei meiner Arbeitsgruppe für solch ein lockeres und freundliches Arbeitsklima bedanken. Besonders für den Kongress und unseren Retreat im Harz:



Bei PD Dr. Nils von Neuhoff, für seinen einzigartigen Führungsstil und dafür dass er mir die Chance gegeben hat, zu beweisen, dass das FWJ eine gute Idee ist.

Bei Amelie Stalke, dass sie sich immer Zeit für meine Problemchen genommen hat, obwohl sie selbst genug zu tun hatte.

Bei Tonio Oumeraci, für die wortgewandte Einführung in die Forschung und v.a. in die Massenspektrometrie.

Bei Aleksandra Shcherbakowa, dass sie mir alles mit so viel Geduld erklärt hat und so viel Herzlichkeit in die Arbeitsgruppe gebracht hat

Bei Nicole Wittner für die grundlegende Einführung in die Laborarbeit.

Bei Winfried Hofmann, für großartige Leistungen in der Erstellung von GePaDo-Abfragen.

Bei Frau Dunker für die unglaubliche Organisation des FWJ's und die ständige Erreichbarkeit.

Und zuletzt bei Anna Tutov, für ein tolles Jahr voller Sport und Mensa und der Hilfe beim Einleben in Hannover.