

Medizinische Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Themengebiete, Arbeitsgruppen und Projekte für den Freiwilligendienst
im Rahmen eines Freiwilligen Wissenschaftlichen Jahres (FWJ)

Themengebiet: Krebsprädisposition im Kindesalter

Projekttitle: Identifizierung, Klonierung und funktionelle Charakterisierung von Genen, die im Zusammenhang mit Krebserkrankungen bei Kindern stehen, durch gezielte Genom-Editierung mit CRISPR-Cas9-Technologie

Klinik / Institut: Klinik für Kinder-Onkologie, -Hämatologie und Klinische Immunologie

Ansprechpartner: Prof. Dr. Arndt Borkhardt, Dr. Ute Fischer, Dr. Melina Mescher

Projektbeschreibung: In der Klinik für Kinder-Onkologie, -Hämatologie und Klinische Immunologie an der Uniklinik Düsseldorf wird die genetische Prädisposition von Kindern mit Krebserkrankungen untersucht. Durch den Einsatz der CRISPR-Cas9-Technik sollen spezifische Gene in humanen Zelllinien gezielt verändert, eingefügt oder entfernt werden, um deren Funktion im Zusammenhang mit Krebserkrankungen zu untersuchen. Die CRISPR-Cas9-Technologie ist ein revolutionäres Werkzeug zur gezielten Genom-Editierung. Sie basiert auf einem bakteriellen Abwehrmechanismus, der es ermöglicht, DNA an spezifischen Stellen zu schneiden und zu modifizieren. Die Technik hat sich als äußerst präzise und vielseitig erwiesen, wodurch sie in der Genforschung und in der Medizin weit verbreitet ist.

Mögliche Tätigkeiten: Der/Die Kandidat/in wird engmaschig von Dr. Vera Jepsen betreut und in die einzelnen unten aufgeführten Schritte des Projekts von Frau Jepsen einbezogen. Er/sie soll dabei nach Einarbeitung unterstützende Tätigkeiten ausführen, wie z.B. Medien ansetzen, DNA isolieren aus Bakterien und humanen Zelllinien, Zelllinien kultivieren. Er/Sie soll auch unterstützende Tätigkeiten im Bereich der Labororganisation übernehmen (z.B. Listen und Karten von Plasmide, Restriktionsenzyme etc. erstellen).

Projekttablauf: **Zielgenidentifikation:** Auswahl eines spezifischen Gens, das für das Projekt von Interesse ist (ein Gen, das mit Krebserkrankungen assoziiert ist oder eine in diesem Zusammenhang interessante biologische Funktion hat). **Design der gRNAs:** Entwurf von Leit-RNAs (guide RNAs), die spezifisch an die Ziel-DNA binden und das Cas9-Enzym an den richtigen Ort führen. Dies erfolgt durch bioinformatische Tools zur Identifikation von geeigneten Schnittstellen im Genom. **CRISPR-Cas9-Vektor-Konstruktion:** Klonierung der gRNAs in ein CRISPR-Cas9-Plasmid, das das Cas9-Enzym enthält. Dieses Plasmid wird in die Zielzellen eingeführt. **Zelltransfektion:** Einführung des CRISPR-Cas9-Konstrukt in die Zielzellen (z. B. durch Elektroporation oder Lipofektion). **Genom-Modifikation:** Die Cas9-gRNA-Komplexe schneiden das Zielgenom an der gewünschten Stelle. Dabei werden DNA-Reparaturmechanismen genutzt, um entweder eine gezielte Mutation einzuführen oder das gewünschte Gen einzufügen (z. B. durch Homologe Rekombination). **Selektion und Verifikation:** Selektion von Zellen oder Organismen, in denen die Genmodifikation erfolgreich war. Bestätigung der genetischen Veränderung durch PCR, Sequenzierung und ggf. funktionelle Tests. **Analyse der genmodifizierten Organismen:** Untersuchung der Auswirkungen der genmodifizierten Gene auf die Eigenschaften der Zelle (z.B. Wachstumsverhalten). **Ziel:** Die erfolgreiche Veränderung des Zielgens im Modell-Organismus könnte einen wichtigen Beitrag zum Verständnis der Genfunktion leisten und könnte langfristig zur Entwicklung neuer zielgerichteter, personalisierter Therapien führen.

Anforderungen/ Vorkenntnisse:

- Abitur
- Interesse an der biomedizinischen Forschung / Krebsforschung sowie am experimentellen Arbeiten mit modernen zell- und molekularbiologischen Methoden
- Kenntnisse von MS Office sind vorteilhaft