

## **Praktikumsbericht: Weizmann Institut Israel, Kathrin Öhlenschläger**

Der Förderverein der BiologieOlympiade e. V. schlug mich aufgrund meiner Leistungen bei der 3. Runde der IBO 2014 für ein Praktikum am Dr. Bessie Lawrence 46th International Summer Science Institute (ISSI) vor. Dieses vierwöchige Programm findet seit 1969 jährlich am Weizmann Institut in Rehovot, Israel, statt und umfasst sowohl sehr intensive und interessante Laborarbeit, als auch ein großartiges Kulturprogramm. Ca. 80 Teilnehmer aus 16 Ländern bekamen die Möglichkeit sich in Kleingruppen von zwei oder drei Personen an aktuellen Forschungsprojekten zu beteiligen. Betreut wurden wir dabei von Wissenschaftlern des Instituts, den Mentoren, die uns vieles gezeigt und beigebracht haben und uns an ihrem Laboralltag teilhaben ließen. Zum Abschluss der wissenschaftlichen Arbeit verfassten alle Gruppen schriftliche Abschlussberichte und gaben eine mündliche Präsentationen vor den anderen Gruppen und den Mentoren. Den Abschluss dieses einzigartigen Monats, der einzig durch die angespannte Situation in Israel überschattet wurde, bildete die einwöchige Wüstenexkursion.

### Persönliche Erfahrungen

Ich habe während der Zeit in Israel die Gelegenheit bekommen viele Erfahrungen zu sammeln, sowohl während der Arbeit im Labor als auch im Kontakt mit den anderen Teilnehmern während der Ausflüge. Für mich war es eine neue Erfahrung über mehrere Wochen im Labor zu arbeiten und zu forschen. Ich habe es sehr genossen und hatte große Freude an der Arbeit im Labor. Ich habe mich sehr gut mit meinen Laborpartnern verstanden, glücklicherweise auch im Bezug auf die Kommunikation die, da es ein internationales Programm ist, ausschließlich in Englisch stattfand. Wir hatten eine hervorragende Mentorin, die uns alles erklärte und mit großer Geduld alle unsere Fragen beantwortete. Sie erlaubte uns, ihr Material zu nutzen und übertrug uns damit die Verantwortung sorgfältig zu arbeiten, sodass sie unsere Resultate gut verwenden kann. Neben der Laborarbeit hörten wir nachmittags Vorträge zu allen Naturwissenschaften, so dass jeder neben seinem Projekt auch die Möglichkeit hatte etwas über andere Fachbereiche zu lernen.

Während der Ausflüge konnte ich nicht nur etwas von Israel sehen, sondern auch die anderen Teilnehmer noch besser kennen lernen und Kontakte knüpfen. Gemeinsam besuchten wir während des ersten Wochenendes die Golanhöhen und den See Genezareth im Norden des Landes. Es war großartig mit so vielen Menschen aus unterschiedlichen Ländern zusammen zu kommen, ich habe dabei viele Erfahrungen gesammelt und viel gelernt.

Unser nächstes Wochenende konnten wir aufgrund des beginnenden Konflikts und der Luftangriffe leider nicht wie geplant in Jerusalem verbringen, da jedes Risiko vermieden werden sollte. Natürlich hat der militärische Konflikt unseren Alltag beeinflusst, allerdings hatte ich durch die gute Betreuung zu keinem Zeitpunkt das Gefühl gefährdet zu sein.

Eine Woche später konnten wir dann doch Jerusalem besuchen. Fasziniert hat mich die Vielgestaltigkeit Jerusalems, die einerseits eine moderne Stadt ist, andererseits aber auch geprägt



wird von ihrer historischen Altstadt und ihrer Geschichte. Wir besuchten unter anderem die Grabeskirche und die Klagemauer, der man nicht den Rücken zuwenden darf, und haben auch den Felsendom gesehen.

Die letzte Woche verbrachten wir in der Wüste, wir machten viele Wanderungen, erfuhren viel über die Wüste und das Leben dort, und suchten nachts Fledermäuse und Skorpione. Neben den drei Litern Wasser, die für jede Wanderung obligatorisch waren, waren Sonnencreme, Sonnenbrille und Hut die wichtigsten Dinge die man benötigte.

### Beschreibung des Forschungsprojekts

Ich habe das Forschungspraktikum gemeinsam mit meinen zwei Laborpartnern im Institut für Biochemie verbracht. Gemeinsam arbeiteten wir an dem Projekt „The physiological role of store operated calcium entry regulatory factor“. Dabei beschäftigten wir uns mit der Rolle eines Proteins, dass als „store operated calcium entry regulatory factor“ (SARAF) bezeichnet wird und den Prozess „store operated calcium entry“ (SOCE), der einen kontrollierten Kalzium Einstrom ins Zytoplasma ermöglicht, reguliert.

Kalzium in Zellen wird hauptsächlich im endoplasmatischen Retikulum (ER) gelagert. Im Ruhezustand ist die Kalziumkonzentration im Zytoplasma (50-100 nM) geringer als im ER (500  $\mu$ M) und diese ist noch einmal geringer als die Konzentration im extrazellulären Bereich (1 mM). Aufrechterhalten werden diese unterschiedlichen Konzentrationen durch ATP betriebene Pumpen. Dies ermöglicht Kalziumsignale, die ein Hauptbestandteil der Funktion aller Zellen sind und in zahlreichen Prozessen, wie zum Beispiel Genregulation, Zellproliferation und enzymatischer und elektrischer Aktivität, eine wichtige Rolle spielen. Wenn die Zelle dazu angeregt wird, Kalzium aus dem ER frei zu setzen, sinkt die Kalziumkonzentration im Inneren des ERs. Dies führt zu einem Prozess genannt store operated calcium entry (SOCE). Während SOCE gelangt Kalzium aus dem extrazellulären Bereich in das Zytoplasma, dieses Kalzium wird später genutzt um das ER wieder aufzufüllen und so die Kalziumkonzentrationen wieder herzustellen.

Zwei Fragen wurden im Rahmen des Projekt gestellt, einerseits, ob SARAF die Zellproliferation beeinflusst, andererseits, ob SARAF Auswirkungen auf die Aktivität von Mäusen hat. Es wurden Mäuse und embryonale Mausfibroblasten verwendet.

Sowohl die Mäuse als auch die Zellen besitzen ein von loxP Abschnitten umgebenes Exon 3 des für SARAF codierenden Gens. An diesen loxP Abschnitten kann das Schnitzenzym Cre-Rekombinase ansetzen und so das Exon 3 ausschneiden. Ohne dieses Exon 3 kann SARAF nicht mehr gebildet werden und ein Knockout ist erzeugt.

Zur Beantwortung der ersten Frage wurden zwei Zellkulturen angelegt, eine diente als Kontrolle, die andere wurde mehrfach mit einem Adenovirus, der ein für Cre-Rekombinase codierendes Gen enthält, infiziert und so ein Knockout von SARAF erzeugt.

Beide Zellkulturen wurden gleichermaßen behandelt und abschließend mit Dapi, einem Zellkern spezifischen Färbemittel, und KI67, einem Antikörper der proliferierende Zellkerne färbt, markiert. Leider konnten wir aufgrund technischer Schwierigkeiten und Problemen mit dem Zellwachstum, das deutlich langsamer war als erwartet, keine Aussage darüber treffen ob und wie SARAF die Zellproliferation beeinflusst.

Der SARAF Knockout in den Mäusen befindet sich ausschließlich in den für Bewegungskontrolle und Koordination verantwortlichen Purkinje-Neuronen. Dies wurde erreicht, indem Mäuse die sowohl für Cre-Rekombinase als auch für ein von loxP Abschnitten flankiertes Exon 3 des SARAF Gens heterozygot sind, gekreuzt wurden. Die Nachkommen die homozygot für ein Exon 3 mit loxP Abschnitten und mindestens heterozygot für cre-Rekombinase sind wurden verwendet. Das Gen für Cre-Rekombinase wird von einem für Purkinje-Neuronen spezifischen Promotor kontrolliert und wird dadurch nur in den Purkinje-Neuronen exprimiert. Dadurch kann das Exon 3 nur dort herausgeschnitten werden und der SARAF Knockout befindet sich nur in den Purkinje-Neuronen.

Um nun der Frage nachzugehen wie sich der Knockout von SARAF auswirkt, um so auf die Bedeutung von SARAF schließen zu können wurde ein home-cage locomotion Experiment durchgeführt. Dafür wurden sowohl Mäuse mit SARAF Knockout als auch Mäuse ohne Knockout verwendet. Dabei befinden sich die Mäuse in gewohnten Käfigen mit UV-Lichtschranken. Ihre jeweilige Aktivität wurde ermittelt, indem mit Hilfe eines Computerprogramms die Unterbrechungen der Lichtschranke aufgezeichnet wurden. Die Ergebnisse zeigten, dass die Knockout Mäuse eine signifikant höhere Aktivität aufweisen, als die anderen Mäuse. Dies weist auf eine bedeutende Rolle von SARAF hin, da es nur bei gravierenden Veränderungen zu einer messbaren Änderung des Verhaltens kommt.



Während der Zeit am Weizmann Institut habe ich sehr viele Erfahrungen gesammelt, Freundschaften geschlossen und das Land Israel kennen gelernt. Durch die Erfahrung selbst Forschung zu betreiben, kann ich mir nun besser vorstellen wie es ist später selbst in der Forschung zu arbeiten. Ich habe eine wundervolle Zeit in Israel verbracht und möchte mich beim Förderverein der BiologieOlympiade e.V. dafür bedanken, dass sie mich für das ISSI vorgeschlagen haben und der Deutschen Gesellschaft der Freunde des Weizmann Instituts e.V für diese Möglichkeit bedanken.