

## Start

Es galt lange Zeit das Dogma: CRISPR/Cas ist für gentechnische Anwendungen viel zu komplex.<sup>1</sup> Doch 2012 schafften es die zwei Wissenschaftlerinnen Emmanuelle Charpentier und Jennifer Doudna das System erfolgreich fürs Labor anzupassen.

Seitdem hat sich die CRISPR/Cas-Methode mit rasender Geschwindigkeit in Laboren weltweit verbreitet. Im dritten Kapitel geht es jetzt darum, welche Anpassungen für die Nutzung als Gen-Schere durchgeführt wurden und wie Gen-Editierung mit CRISPR/Cas9 funktioniert.

weiter

<sup>1</sup>Czepel u. Dalheimer, „Ich hatte zwei Heureka-Momente“ (Interview mit Emmanuelle Charpentier, 2016, URL: <https://science.orf.at/v2/stories/2773282/>)



## Modifikationen am System

Im Labor wurde eine Reduktion des Systems herbeigeführt: Die crRNA und die tracrRNA wurden zur sgRNA (single guide RNA) zusammengefasst. Die sgRNA kann synthetisch hergestellt werden. Mithilfe der sgRNA kann das Cas9-Protein an beliebige DNA-Stellen dirigiert werden und dort Doppelstrangbrüche erzeugen.

Das revolutionäre Potenzial (z. B. der Einbau neuer Gene) der CRISPR/Cas9-Methode eröffnet sich jedoch erst durch die Nutzung natürlich vorkommender Reparaturmechanismen in Bakterien: Die NHEJ („Nicht-homologe Endverknüpfung“) und die HR (Homologe Rekombination). Beide Reparaturmechanismen werden im Folgenden kurz erklärt.

weiter



### Einfache DNA-Veränderungen (durch NHEJ)

Die erste Möglichkeit stellt die NHEJ („Nicht-homologe Endverknüpfung, engl. non-homologous end-joining) dar. Die Neuverknüpfung eines defekten DNA-Strangs erfolgt zufällig und damit nicht-homolog zur Ursprungsbasenfolge. NHEJ ist in den meisten Fällen mit dem Verlust oder der Insertion eines oder mehrerer Nukleotide verbunden. Das betroffene Gen kann dann nicht mehr richtig abgelesen werden. Es wird inaktiviert.

Im Labor können Gene auf diese Weise zu Forschungszwecken durch Cas9 zielgerichtet ausgeschaltet werden.

weiter



### Komplexe DNA-Veränderungen (durch HR)

Der DNA-Reparatur-Mechanismus der homologen Rekombination (HR) ermöglicht Wissenschaftler:innen, neue DNA-Fragmente gezielt an der durch Cas9 hervorgerufenen Schnittstelle einzubauen. Bei der homologen Rekombination nutzt die Zelle einen intakten DNA-Strang, der homolog („gleich“) zum beschädigten DNA-Strang ist. Der homologe DNA-Strang dient bei der Reparatur als Vorlage. Das funktioniert wie folgt: Der intakte DNA-Strang lagert sich an die beschädigte DNA-Stelle an. Die fehlenden Nukleotide des beschädigten Strangs werden nach dem Muster des intakten Strangs neu synthetisiert.

Um Gene einzufügen, wird künstliche DNA in die Zelle gegeben. Diese DNA ist einerseits homolog zur gewünschten Zielsequenz und enthält andererseits ein zusätzliches Gen. Die Zelle greift nun bei der Reparatur automatisch auf die scheinbar homologe DNA zurück. Durch diesen genetischen „Trick“ wird ein vorher nicht vorhandenes Gen in den DNA-Strang eingebaut.

weiter

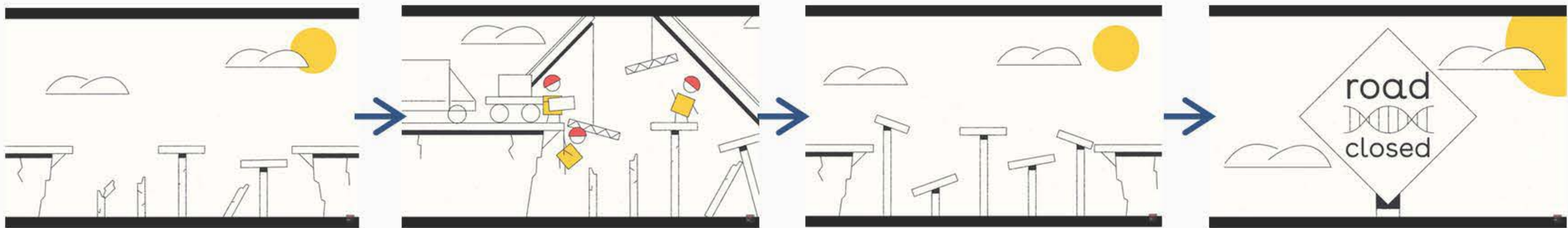


# CRISPR/Cas im Labor

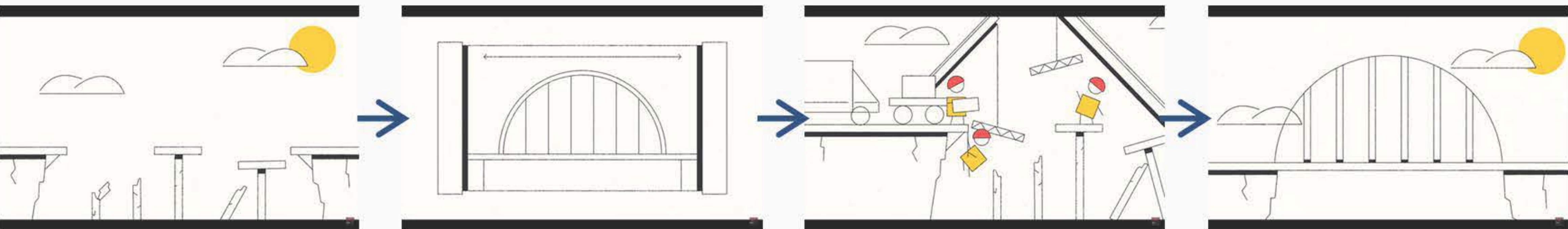
## Test

Aufgabe: Die folgenden Bilder stellen die Reparaturmechanismen der Zelle im übertragenen Sinne dar, die beim Gen-Editing mit CRISPR/Cas9 genutzt werden. Ordne den Bilderfolgen den richtigen Reparaturmechanismus zu.

a)



b)



☐ NHEJ (Nicht homologe Endverknüpfung)

☐ HR (Homologe Rekombination)

weiter

Andrea M. Henle, How CRISPR lets you edit DNA, 2019, URL: [https://youtu.be/6tw\\_JVz\\_IEc?t=198](https://youtu.be/6tw_JVz_IEc?t=198)





# DU BIST FERTIG

# KAPITEL 3

[WEITER ZU KAPITEL 4](#)

[PDF](#)