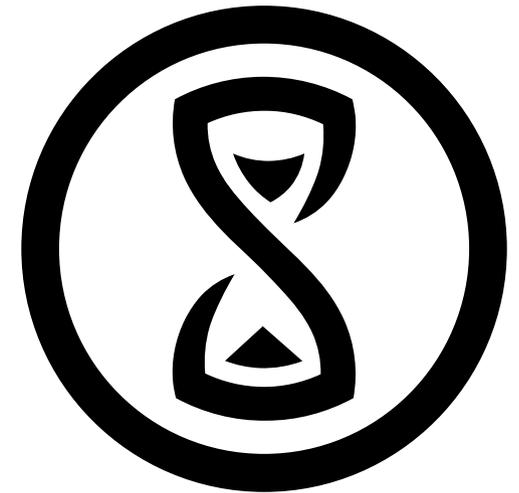


Das CRISPR/Cas9-System

Die Zukunft der Gentherapie?

Sintox

14.06.2015



Stratum 0

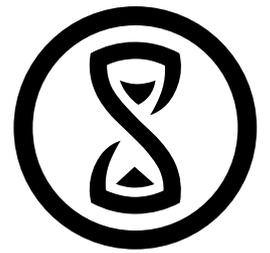
Inhalte



Stratum 0

- **Anwendungen für Gentherapie**
- **Bisherige Gentherapie-Methoden**
- **Das CRISPR/Cas9-System**
 - **Herkunft**
 - **Entwicklung**
 - **Funktionsweise**

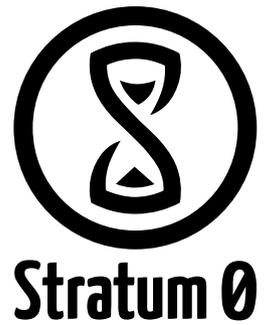
Anwendungen für Gentherapie



Stratum 0

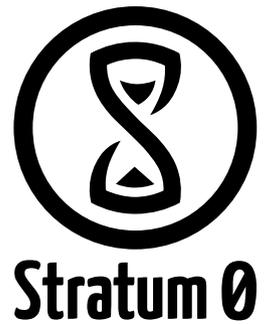
- **Vorteilhafte Veränderung des Phänotyps durch Änderung/Normalisierung von defektem genetischen Material**
 - Durch Einbringen intakter Gene mit geeigneten Verfahren
- **Beispiel: 1. Gentherapie**
 - Ashanti DeSilva
 - Schwere, kombinierter Immundefekt (SCID), Defekt des B- und T-Lymphozytensystems
 - Therapie: Entnahme der Immunzellen und deren Ausstattung mit dem intakten Gen (mehrmals jährlich wiederholt)
- **Mögliche Nachteile**
 - Immunreaktion, Positionseffekt beim Geneinbau, Unterschiedliche Effektivitäten bei verschiedenen Zelltypen, Trennung von Soma- und Keimbahnzellen, nur monogentischen Krankheiten (keine Komplex-Erkrankungen wie Krebs)

Bisherige Gentherapie-Methoden



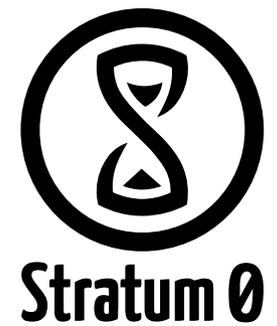
- ***In vitro* oder *in vivo***
 - Entnahme der zu verändernden Zellen und Einbringen der Gene „in der Petrischale“ (*in vitro*) → Wiedereinbringen der veränderten Zellen
 - Einbringen der Gene direkt in den menschlichen Körper mit geeigneten Methoden
- **Methoden**
 - Transduktion: Virus-vermittelter Gentransfer
 - Transfektion (chemisch): DNA wird elektrisch geladene Verbindung gehüllt, ermöglicht Aufnahme durch Zellmembran
 - Transfektion (physikalisch): Mikroinjektion oder Elektroporation

Das CRISPR/Cas9-System



- **Herkunft**
 - **CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats)**
 - Adaptiver, antiviraler Abwehrmechanismus von Bakterien
 - Virale DNA wird zerschnitten und für spätere Erkennung/Deaktivierung in CRISPR-Bereich gespeichert → „Erkennungs-Sonden“ für weitere Cas-Proteine
 - **Typen (in >40 Cas-Proteinfamilien)**
 - Typ I + II: binden und schneiden doppelsträngige DNA
 - Typ III: bindet und schneidet einzelsträngige RNA

Das CRISPR/Cas9-System



- **Entwicklung**

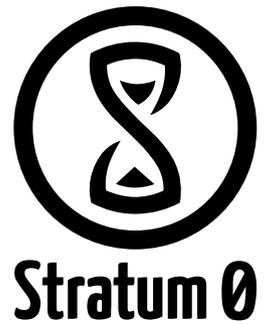
- Durch Emmanuelle Charpentier
 - **„A Programmable Dual-RNA-Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity“ (Science Magazine)**
- Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung (HZI) in Braunschweig



Quelle: www.helmholtz-hzi.de



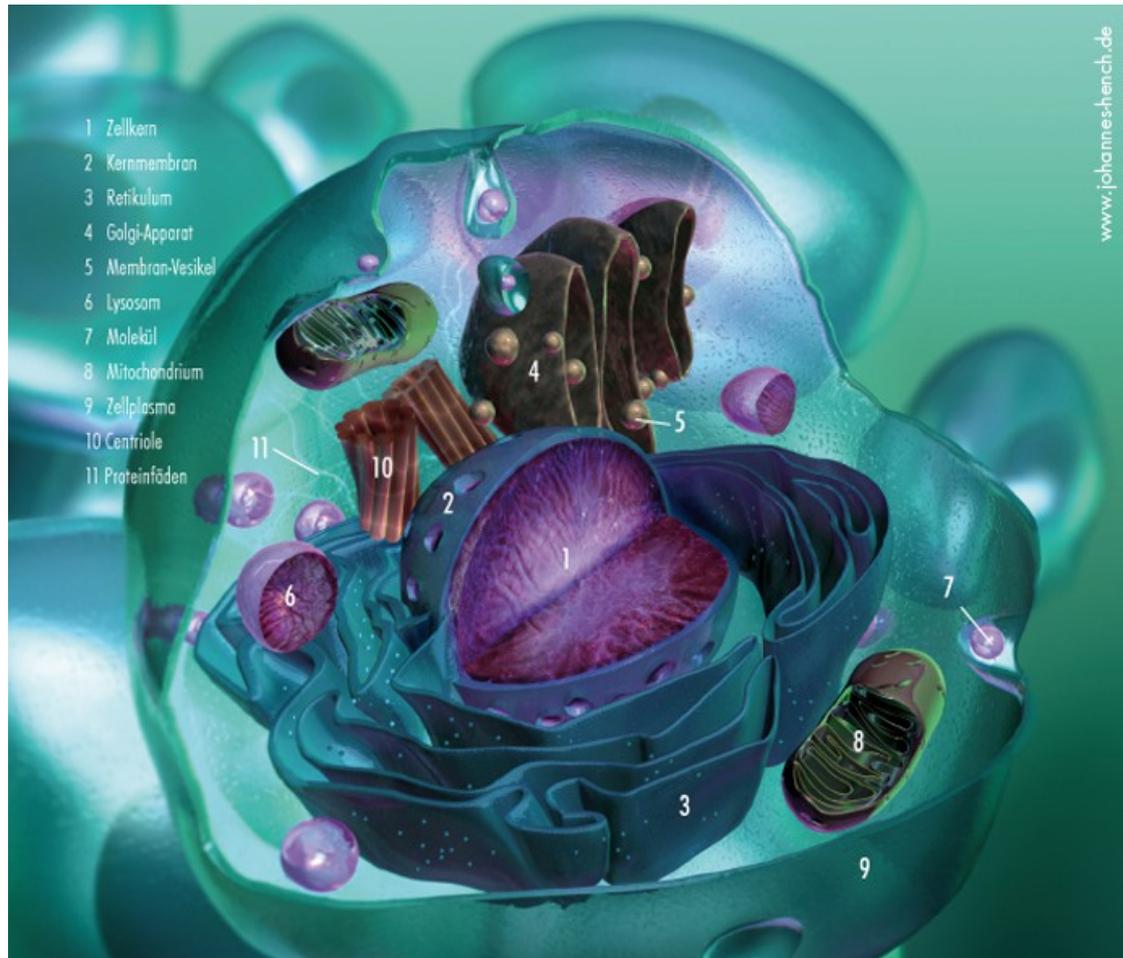
Das CRISPR/Cas9-System



- **Funktionsweise**
 - **Zielsetzung: Spezifisches Ausschalten einer genetisch bedingten Krankheit durch Austausch der Mutation im Genom durch nicht-mutierte DNA**
 - Beispiel: Chorea Huntington
 - „Polyglutamin-Erkrankung“
 - Statt 9-35 mal Glutamin hintereinander im Huntingtin-Protein haben betroffene 36-250
 - → „Ausschneiden“ der überzähligen Glutamine

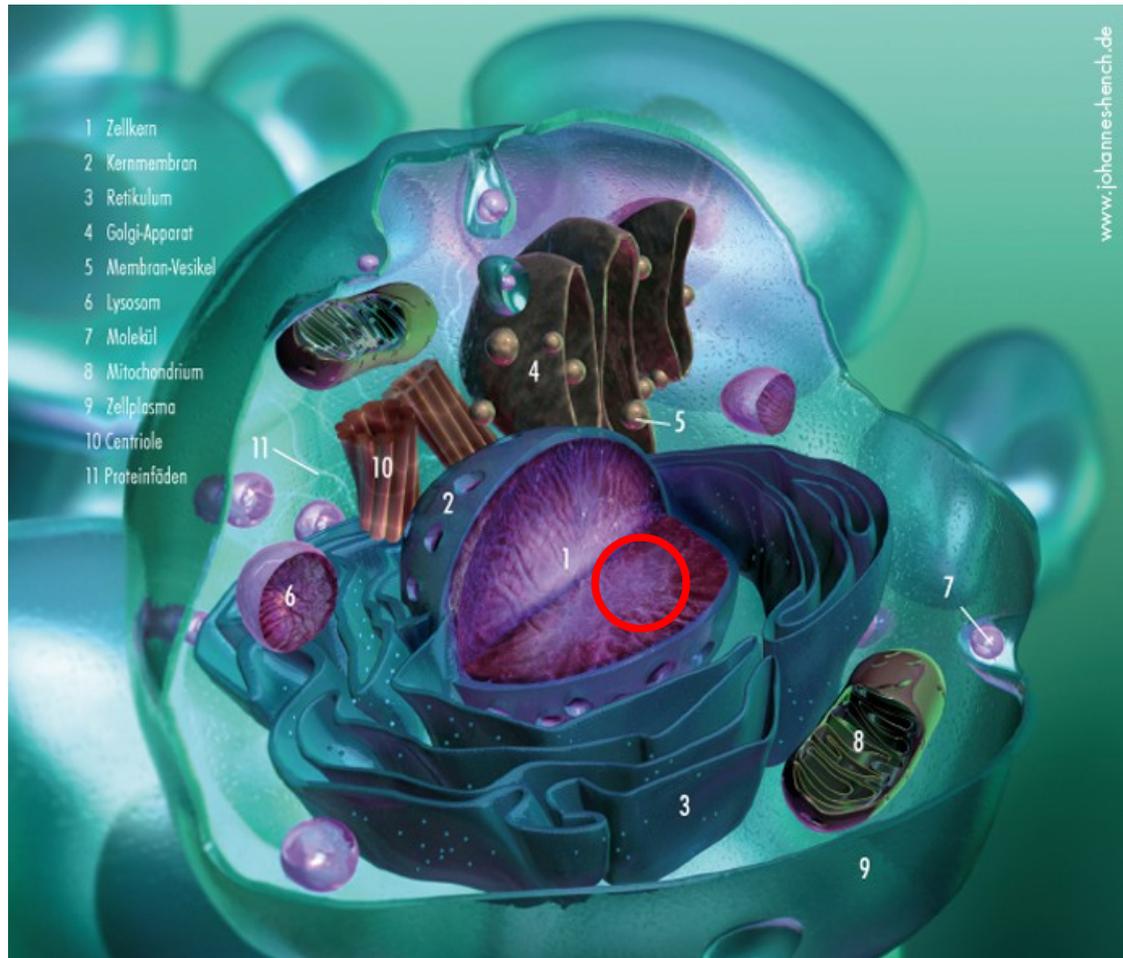
Das CRISPR/Cas9-System

- Funktionsweise



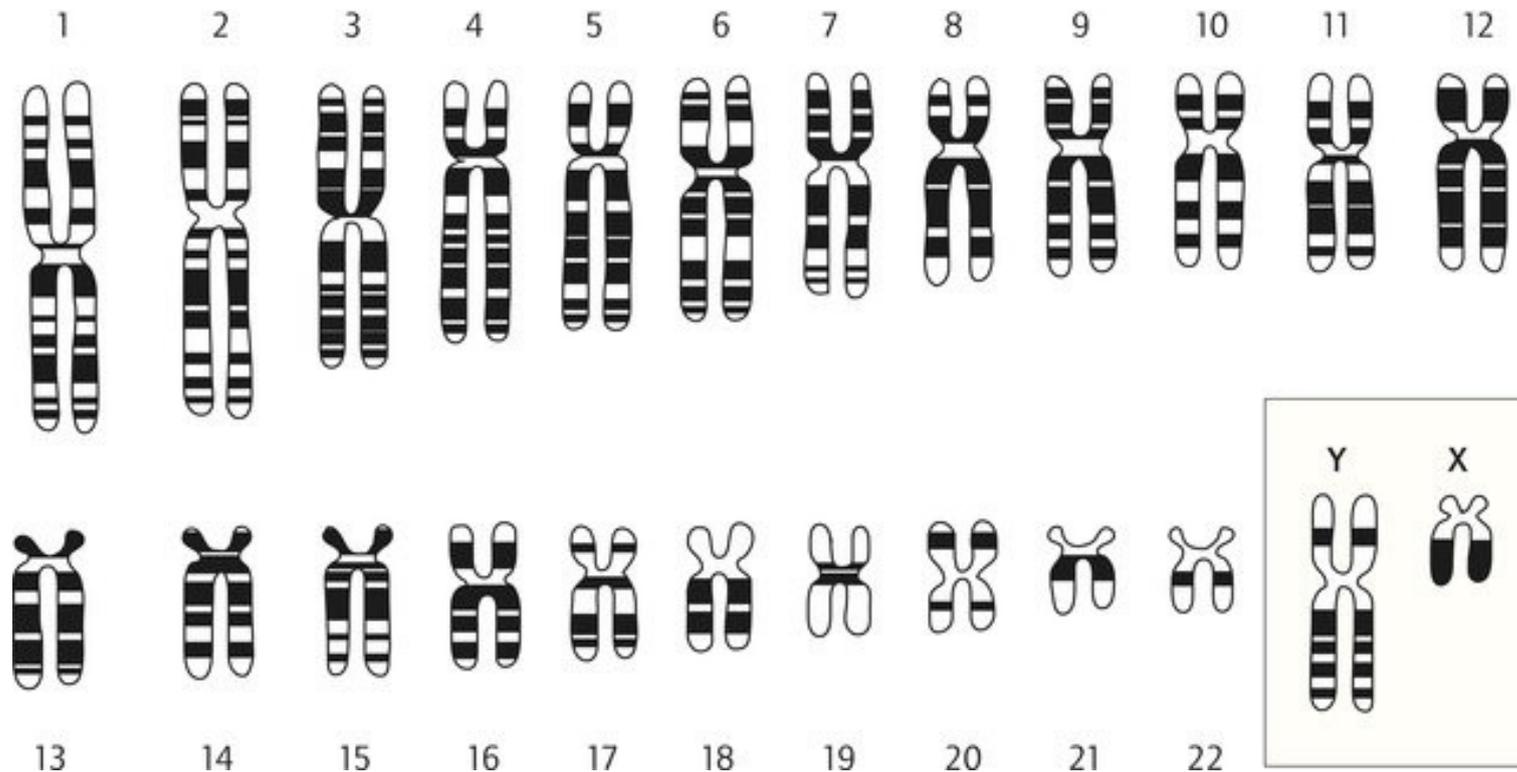
Das CRISPR/Cas9-System

- Funktionsweise



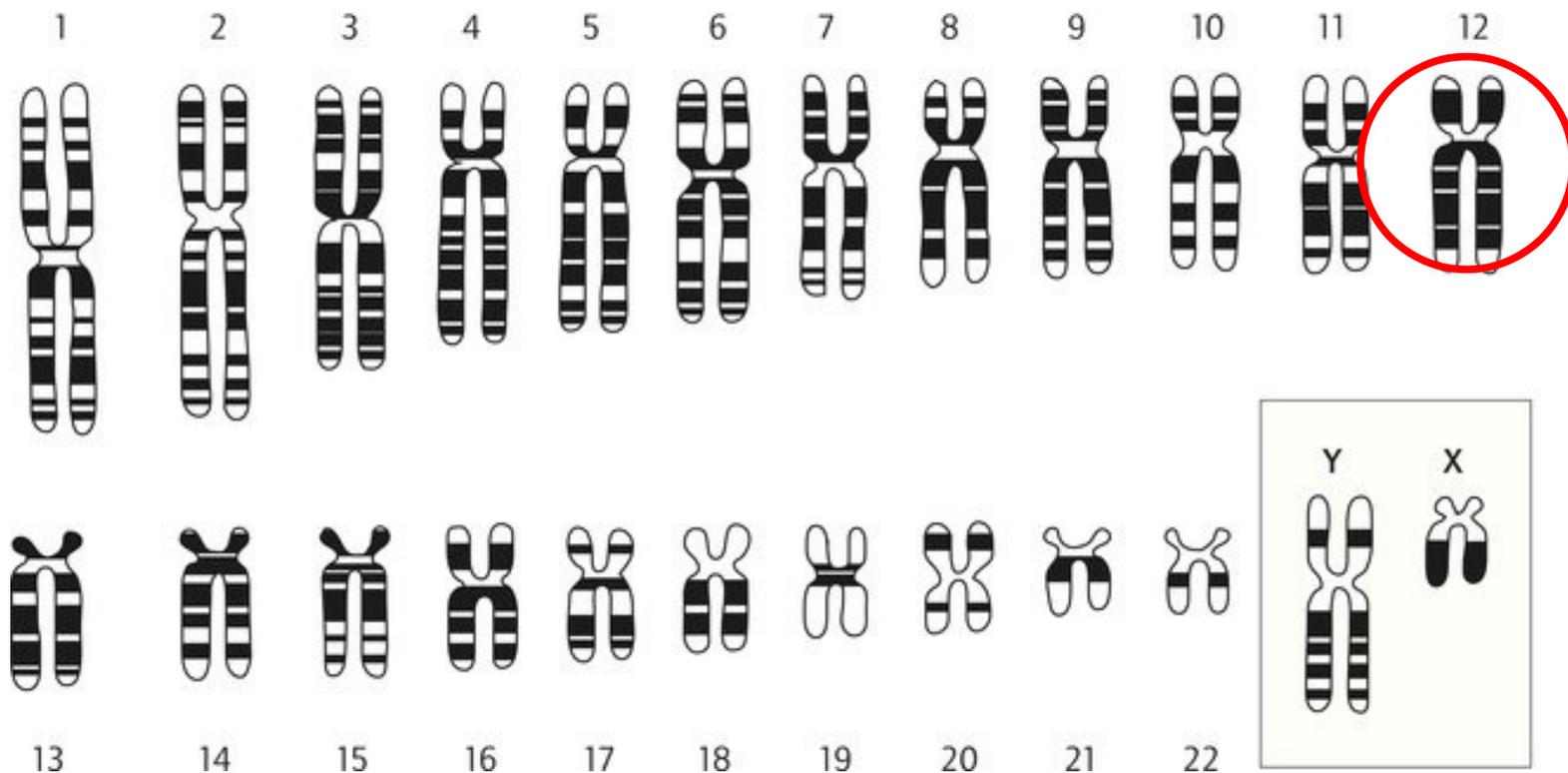
Das CRISPR/Cas9-System

- Funktionsweise



Das CRISPR/Cas9-System

- Funktionsweise



Das CRISPR/Cas9-System

- Funktionsweise



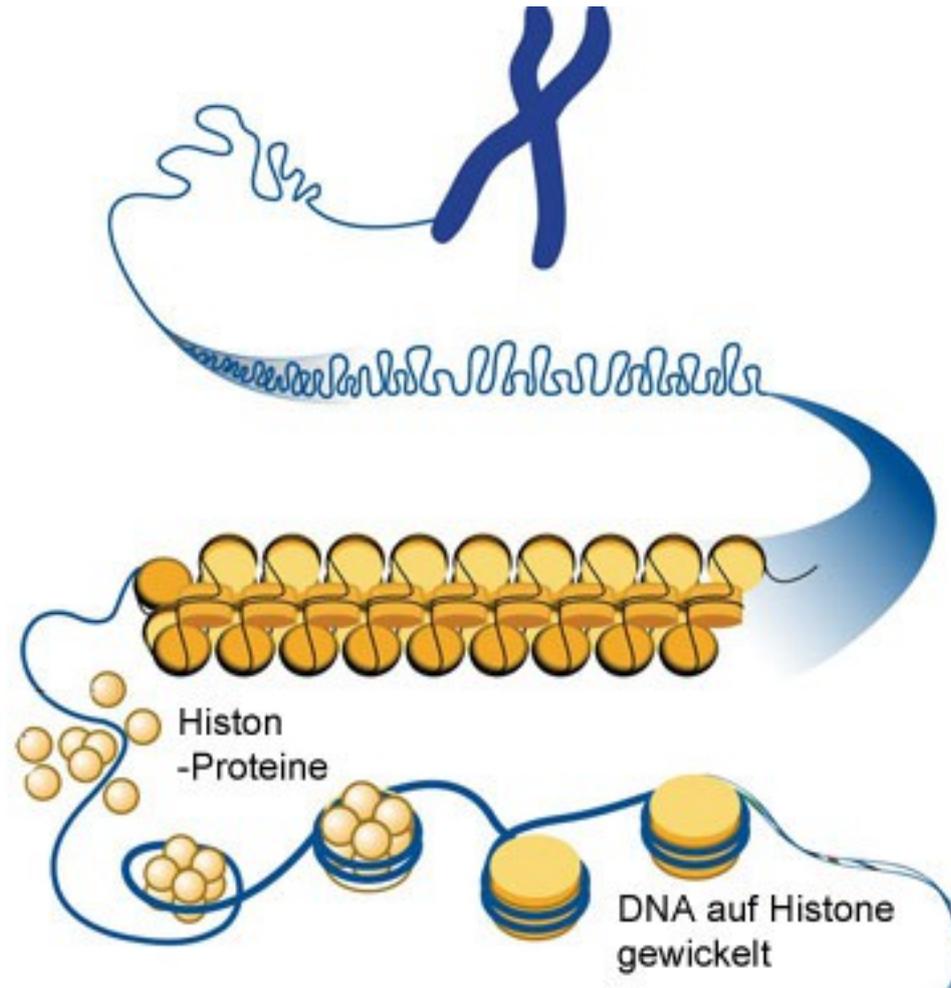
Das CRISPR/Cas9-System

- Funktionsweise



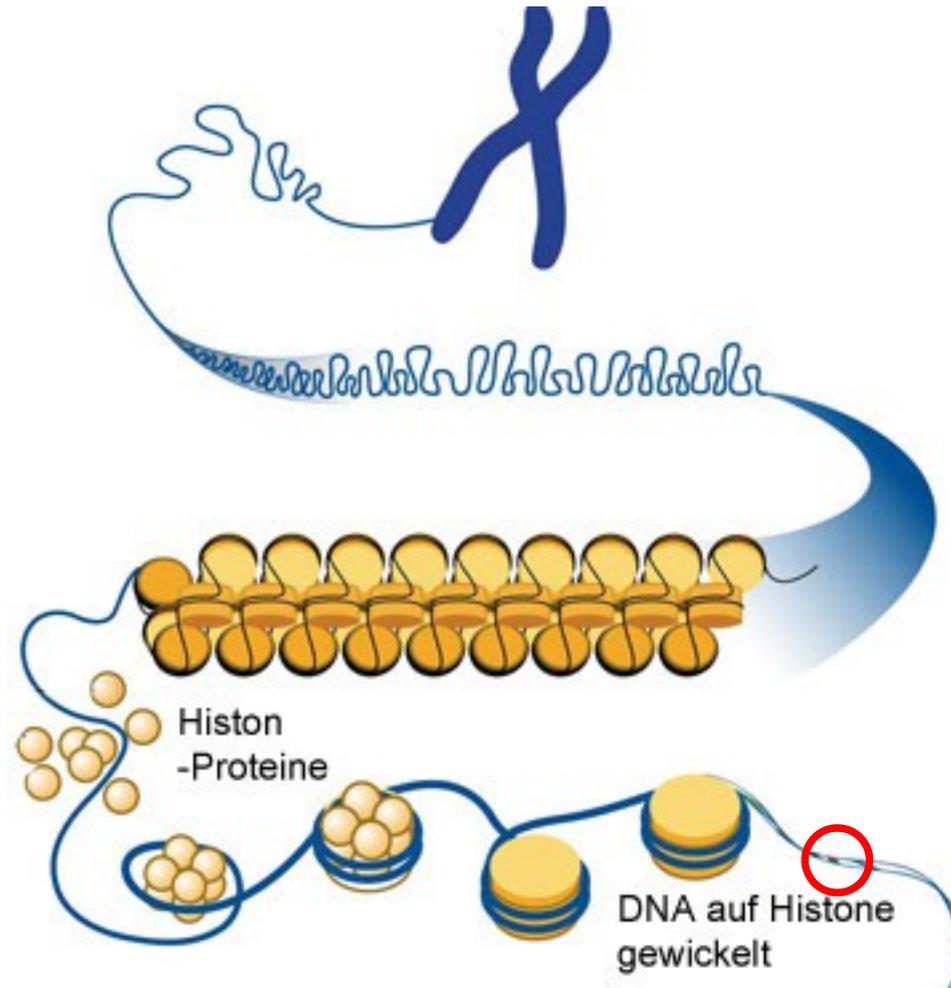
Das CRISPR/Cas9-System

- Funktionsweise



Das CRISPR/Cas9-System

- Funktionsweise



Das CRISPR/Cas9-System



- Funktionsweise



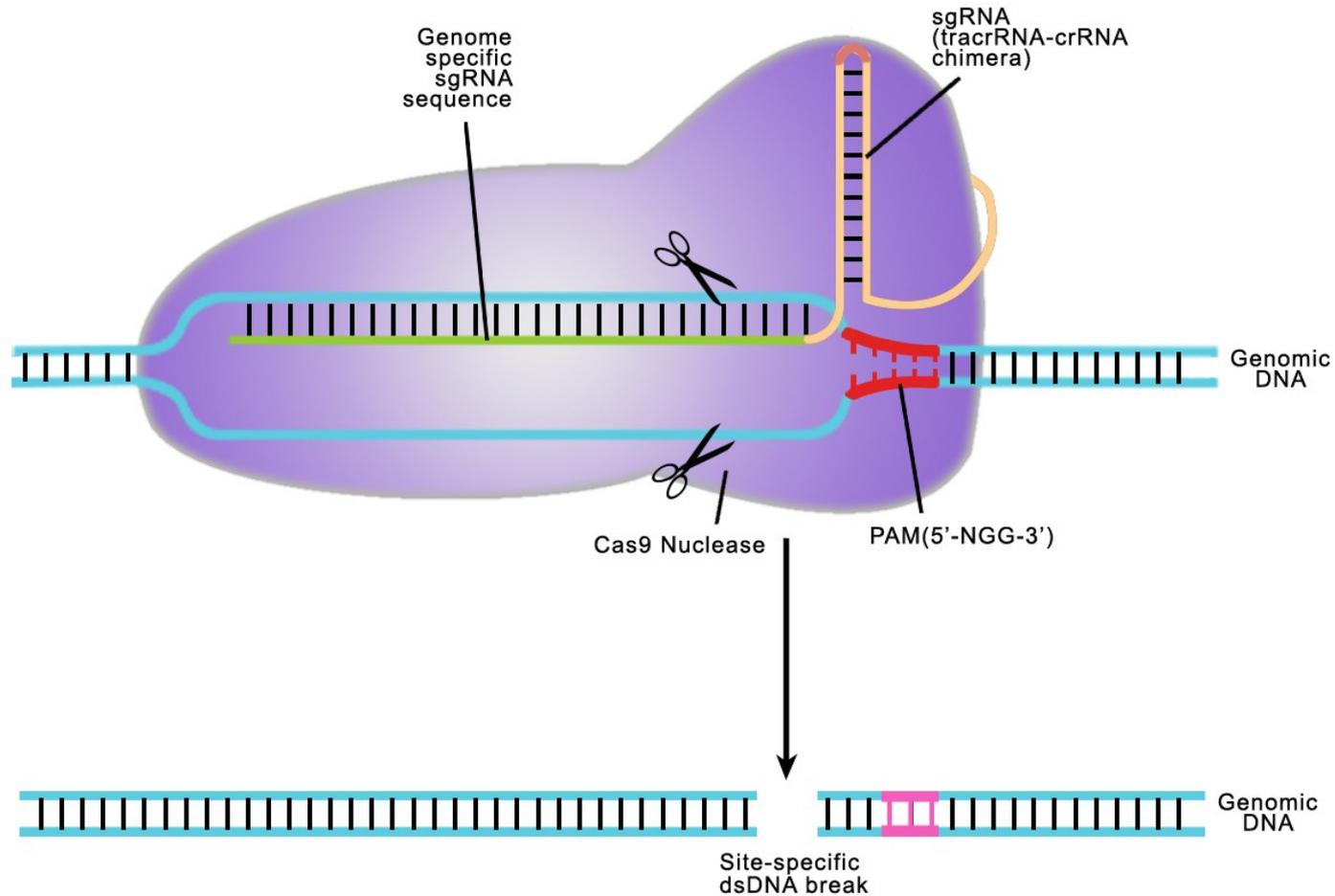
Das CRISPR/Cas9-System

- Funktionsweise



Das CRISPR/Cas9-System

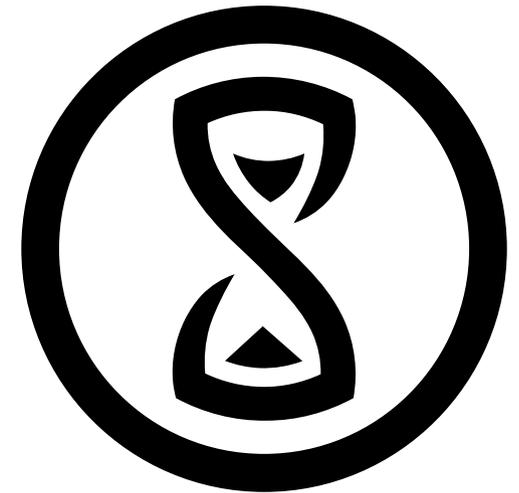
- Funktionsweise



Vielen Dank für eure Aufmerksamkeit!

Carsten „Sintox“ Ludwig
sinthox@gmail.com

Stratum 0 e.V. Braunschweig
<https://stratum0.org>



Stratum 0