

Neue CRISPR-Methode enthüllt Genregulation einzelner Zellen

Zwei revolutionäre Werkzeuge der biomedizinischen Forschung bilden die Grundlage für eine neue Technologie zur Analyse der Genregulation: WissenschaftlerInnen des CeMM Forschungszentrum für Molekulare Medizin der Österreichischen Akademie der Wissenschaften kombinieren CRISPR-„Genschere“ mit der RNA-Sequenzierung einzelner Zellen. Die in *Nature Methods* publizierte Methode ermöglicht Einblicke in die genetische Steuerung von menschlichen Zellen in bisher unerreichtem Ausmaß und Detail.

(Wien, 19. Januar 2017) Das als „Genschere“ bekannt gewordenen CRISPR/Cas9-Verfahren, dessen Entdeckung als nobelpreisverdächtig gilt, ist ein wichtiges Werkzeug der biomedizinischen Forschung. WissenschaftlerInnen suchen damit nach neuen biologischen Mechanismen, indem sie viele Zellen mit CRISPR genetisch verändern. Anschließend wird gezählt, welche Gene die Überlebensfähigkeit der Zellen in bestimmten Experimenten erhöhen.

Diese Methode eignet sich besonders für technisch einfachere Fragestellungen, die das Wachstum und das Überleben von Zellen betreffen – zum Beispiel für die Suche nach Genen, die Krebszellen vor einer Chemotherapie schützen oder die eine Virusinfektion abwehren. Um jedoch die komplexen Abläufe der Genregulation einer Zelle zu verstehen, reicht der Ansatz nicht aus. Stattdessen mussten die Zellen bisher separat genetisch verändert, separat kultiviert und auch separat auf die Aktivität ihrer Gene untersucht werden – ein zeitaufwendiger und teurer Prozess.

Hier schafft das Team von Christoph Bock, Forschungsgruppenleiter am CeMM, mit einer neu entwickelten Methode Abhilfe: Diese kombiniert CRISPR mit einer Spezialtechnologie zur Einzelzell-Sequenzierung, bei der die Genaktivitäten jeder einzelnen Zelle ohne vorherige Separierung bestimmt werden können. Damit gelang es dem Team, die komplexen Auswirkungen der CRISPR-induzierten Genveränderungen auf die Genaktivität in Tausenden von Einzelzellen parallel zu analysieren. So konnten sie das Zusammenspiel von Genen und Genregulation in hoher Auflösung und für sehr viele Gene gleichzeitig aufklären. Die Studie wurde in der Fachzeitschrift *Nature Methods* veröffentlicht (DOI: 10.1038/nmeth.4177)

Das „CROP-seq“ (Kurzform für „CRISPR droplet sequencing“) getaufte Verfahren verbindet zwei moderne Technologien auf elegante Weise: Eine von Erstautor Paul Datlinger eigens für diese Studie entworfene Genfähe macht die CRISPR guide-RNA, mit der die Genschere zu ihrer Schnittstelle im Genom geführt werden, für die RNA-Sequenzierung sichtbar. Anschließend wird mit neuesten Methoden zur Einzelzell-Sequenzierung („droplet RNA sequencing“) die Aktivität

der Gene ausgelesen – mit ausreichendem Durchsatz, um den Effekt von Genomveränderungen in tausenden einzelner Zellen charakterisieren zu können.

Mit CROP-seq ist es erstmals gelungen, Genregulation genomweit mit hohem Durchsatz und mit Einzelzell-Genauigkeit zu untersuchen. Dank der sinkenden Preise für die RNA-Sequenzierung einzelner Zellen könnten mit dieser Methode in den nächsten Jahren die ersten vollständigen Karten der regulativen Effekte aller 23.000 Gene des menschlichen Genoms erstellt werden.

„Am CeMM werden wir CROP-seq besonders dazu verwenden, das Zusammenspiel von genetischen und epigenetischen Faktoren bei der Entstehung von Leukämie zu untersuchen“, erklärt Christoph Bock, dessen Labor vor kurzen ein vom Europäischen Wissenschaftsrat (ERC) finanziertes Projekt zur Epigenom-Programmierung in Krebszellen gestartet hat. „Wenn wir verstehen, wie im Reagenzglas aus einer gesunden Zelle eine Krebszelle wird, dann können wir diesen Prozess gezielt stören und vielleicht auch umkehren.“

Die CROP-seq Methode wurde als „Open Source“ entwickelt. Alle Daten, Protokolle, Reagenzien und die Software werden vom CeMM frei und offen zur Verfügung gestellt, so dass andere WissenschaftlerInnen die neue Methode schnell und einfach für ihre eigenen Forschungen nutzen können. So soll die effektive Weiterführung der gewonnen Erkenntnisse sichergestellt werden – ein Bestreben, das für die Forschung am CeMM einen hohen Stellenwert einnimmt.

Bilder im Anhang: 1.: Mikro-Tropfen mit einzelnen, CRISPR-editierten Zellen (© Paul Datlinger/CeMM) 2.: Hochdurchsatz-Mikrofluidanlage um einzelne, CRISPR-editierte Zellen in Mikro-Tropfen einzufangen (© Paul Datlinger/CeMM) 3.: Christoph Bock, Forschungsgruppenleiter am CeMM (© Wolfgang Däuble/CeMM), 4.: Eine Wissenschaftlerin in Christoph Bocks Labor analysiert die Genregulation (© Wolfgang Däuble/CeMM)

Die Studie “Pooled CRISPR screening with single-cell transcriptome readout” erschien am 18. Januar 2017 in der Zeitschrift Nature Methods. DOI: 10.1038/nmeth.4177

Autoren: Paul Datlinger, André F Rendeiro, Christian Schmidl, Thomas Krausgruber, Peter Traxler, Johanna Klughammer, Linda C Schuster, Amelie Kuchler, Donat Alpar, Christoph Bock

Förderung: Die Studie wurde durch einen New Frontiers Grant der Österreichischen Akademie der Wissenschaften und einen ERC Starting Grant des Europäischen Wissenschaftsrates gefördert.

Christoph Bock ist Genom-Wissenschaftler und Forschungsgruppenleiter am CeMM. Seine Ausbildung in den Bereichen Bioinformatik und Epigenetik hat er mit einem Dokortitel am Max-

Planck-Institut für Informatik abgeschlossen, und er hat als Postdoc am Broad Institute und der Harvard-Universität in den USA gearbeitet. Er erforscht die Rolle der Epigenetik bei der Entstehung von Krankheiten. Außerdem koordiniert er die Biomedical Sequencing Facility (BSF) des CeMM und der Medizinischen Universität Wien und leitet das gemeinsame Personal Genome Projekt „Genom Austria“ am CeMM.

<http://www.cemm.oeaw.ac.at/research/groups/christoph-bock-group/>

Das **CeMM Forschungszentrum für Molekulare Medizin der Österreichischen Akademie der Wissenschaften** ist eine internationale, unabhängige und interdisziplinäre Forschungseinrichtung für molekulare Medizin unter wissenschaftlicher Leitung von Giulio Superti-Furga. Das CeMM orientiert sich an den medizinischen Erfordernissen und integriert Grundlagenforschung sowie klinische Expertise um innovative diagnostische und therapeutische Ansätze für eine Präzisionsmedizin zu entwickeln. Die Forschungsschwerpunkte sind Krebs, Entzündungen, Stoffwechsel- und Immunstörungen, sowie seltene Erkrankungen. Das Forschungsgebäude des Institutes befindet sich am Campus der Medizinischen Universität und des Allgemeinen Krankenhauses Wien.

www.cemm.at

Für **Rückfragen** wenden Sie sich bitte an:

Mag. Wolfgang Däuble

Media Relations Manager

CeMM

Research Center for Molecular Medicine
of the Austrian Academy of Sciences

Lazarettgasse 14, AKH BT 25.3

1090 Vienna, Austria

Phone +43-1/40160-70 057

Fax +43-1/40160-970 000

wdaeuble@cemm.oeaw.ac.at

www.cemm.at