

# **ERASMUS+**

## **Forschungspraktikum Bericht**

### **Gasteinrichtung**

Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas

Molekulare Mikrobiologie und Infektionsbiologie

## 1. Praktikumseinrichtung

Mein Forschungspraktikum habe ich über einen Zeitraum von fünf Monaten am CIB – Centro de Investigaciones Biológicas (CSIC) in Madrid, Spanien absolviert. Das Institut gehört zum spanischen Forschungsrat (CSIC) und beschäftigt sich mit verschiedenen Themen aus den Bereichen Molekularbiologie, Zellbiologie und Immunologie.

Während meines Praktikums arbeitete ich in einer Forschungsgruppe, die sich mit Signalprozessen in dendritischen Zellen beschäftigt. Diese Zellen spielen eine wichtige Rolle im Immunsystem, da sie Antigene aufnehmen und anschließend Immunantworten auslösen können. Ein Schwerpunkt des Projekts war der Chemokinrezeptor CCR7 und seine Liganden CCL19 und CCL21, die eine wichtige Rolle bei der gerichteten Migration dieser Zellen spielen.

Betreut wurde ich während meines Praktikums von J.F.. Zu Beginn meines Praktikums erklärte er mir zunächst den wissenschaftlichen Hintergrund des Projekts sowie die wichtigsten Methoden, die im Labor verwendet werden. Außerdem nahm ich regelmäßig an Labormeetings teil. Dort wurden neue Ergebnisse vorgestellt und gemeinsam diskutiert, welche Experimente als nächstes sinnvoll wären. Für mich war das besonders interessant, weil ich dadurch sehen konnte, wie wissenschaftliche Arbeit in einer Forschungsgruppe organisiert ist.

## 2. Tätigkeiten im Praktikum

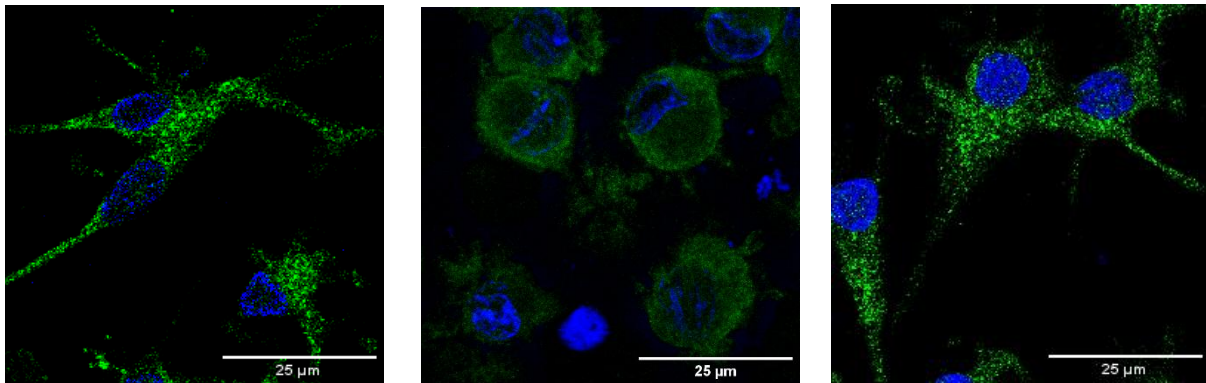


Abbildung 1: Repräsentative Immunfluoreszenzaufnahmen (IF) von dendritischen Zellen. Die Zielproteine sind in grün dargestellt, Zellkerne in blau. Die Bilder zeigen unterschiedliche zelluläre Verteilungen der Signale innerhalb der Zellen. Maßstabsbalken: 25 µm.

Ein großer Teil meiner Arbeit bestand aus praktischer Laborarbeit. Dabei arbeitete ich mit monocytenabgeleiteten dendritischen Zellen (moDCs), die aus humanem Blut gewonnen werden.

Zunächst wurden aus Blutproben Monozyten isoliert. Diese wurden anschließend über mehrere Tage in Zellkultur gehalten und mithilfe bestimmter Zytokine zu dendritischen Zellen differenziert. Dieser Differenzierungsprozess dauerte mehrere Tage und musste regelmäßig kontrolliert werden. Zu meinen Aufgaben gehörten unter anderem:

- Isolation von Monozyten aus Blutproben
- Kultivierung und Differenzierung dendritischer Zellen
- Vorbereitung von Zellproben für Mikroskopieexperimente
- Durchführung von Immunfluoreszenzfärbungen
- Durchführung von Proximity Ligation Assays (PLA) zur Untersuchung von Proteininteraktionen
- Durchführung von Western-Blot-Experimenten
- Durchführung von Nucleofectionen zur Transfektion von Zellen
- Auswertung von Mikroskopiebildern

Die Proximity Ligation Assay war eine der zentralen Methoden im Projekt. Mit dieser Technik lassen sich Proteininteraktionen direkt in Zellen sichtbar machen. Wenn sich zwei Proteine in sehr engem Abstand befinden, entsteht ein fluoreszierendes Signal, das unter dem Mikroskop als Punkt sichtbar wird.

Neben der eigentlichen Laborarbeit spielte auch die Auswertung der Daten eine wichtige Rolle. Die aufgenommenen Bilder wurden zunächst mit ImageJ betrachtet und anschließend mit CellProfiler quantitativ ausgewertet. Dieser Teil war für mich besonders interessant, da man im Studium häufig mehr über die experimentellen Methoden lernt, aber weniger über die anschließende Datenanalyse.

### 3. Ablauf und Arbeitsalltag

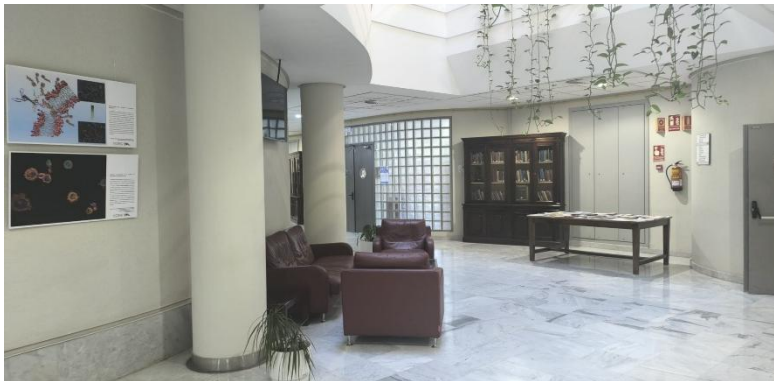


Abbildung 2: Innenbereich des CIB – Centro de Investigaciones Biológicas (CSIC) in Madrid (links). Einer der Arbeitsplätze im Labor während der Durchführung experimenteller Arbeiten (rechts).

Die Arbeitszeiten im Labor waren relativ flexibel. Dadurch konnte man seine Arbeit gut an die jeweiligen Experimente anpassen. Viele Experimente hatten feste Zeitpunkte, weshalb sich im Laufe des Praktikums ein relativ typischer Wochenablauf entwickelt hat.

Montags wurden häufig neue Experimente vorbereitet. Dazu gehörte zum Beispiel das Zählen der Zellen sowie das Aussäen der Zellen auf Coverslips, die zuvor mit Poly-L-Ornithin beschichtet wurden. Teilweise wurden an diesem Tag auch Western-Blots vorbereitet oder Nucleofektionen durchgeführt.

Dienstags wurden ebenfalls häufig Zellen ausgesät oder Transfektionen durchgeführt. Die PLA-Experimente fanden meist mittwochs und donnerstags statt, da dafür mehrere vorbereitende Schritte notwendig waren.

Freitags arbeitete ich häufig an der Konfokalmikroskopie oder an der Flow Cytometrie, um die zuvor durchgeführten Experimente auszuwerten. Auch die Vorbereitung neuer dendritischer Zellen begann häufig am Freitag, da der Differenzierungsprozess mehrere Tage dauert.

Zu Beginn meines Praktikums arbeitete ich teilweise zusammen mit einer spanischen Studentin, die gut Englisch sprechen konnte. Dadurch fiel mir der Einstieg deutlich leichter, da man sich gut austauschen konnte. Gegen Ende meines Praktikums verließ sie jedoch das Labor und eine neue Studentin kam hinzu, die kaum Englisch sprach. Da mein Spanisch nicht für längere Gespräche ausreichte, war die Kommunikation manchmal etwas schwierig. In dieser Situation war ich letztendlich ganz froh, dass ich viele Experimente bereits selbstständig durchführen konnte.

## 4. Ergebnisse des Projekts

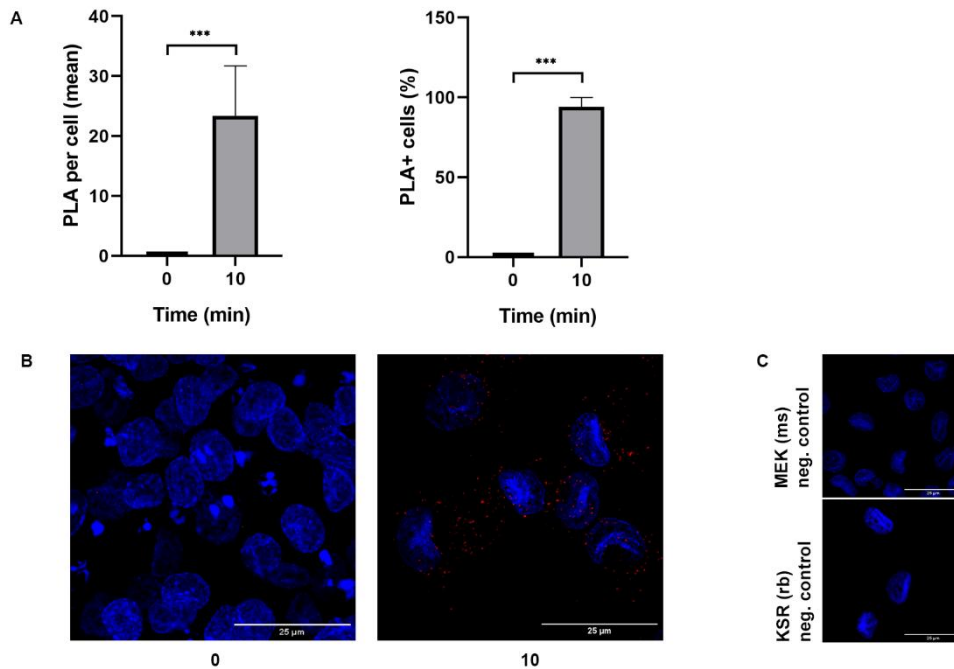


Abbildung 3: CCL21-Stimulation führt nach 10 Minuten zu einer deutlichen Zunahme der KSR–MEK-Interaktion, erkennbar durch erhöhte PLA-Signale pro Zelle und einen höheren Anteil PLA-positiver Zellen. Die Beispielbilder bestätigen diesen Anstieg, während die Negativkontrollen keine Signale zeigen.

Im Rahmen des Projekts wurden Interaktionen zwischen verschiedenen Proteinen des sogenannten MAPK-Signalwegs untersucht, insbesondere zwischen den Proteinen KSR1, CRAF, MEK und ERK.

Die Experimente zeigten, dass nach Stimulation der Zellen mit dem Chemokin CCL21 bestimmte Proteininteraktionen deutlich häufiger auftreten. Besonders stark war dieser Effekt bei Interaktionen zwischen KSR1 und CRAF sowie zwischen MEK und ERK.

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass sich nach Aktivierung des CCR7-Rezeptors bestimmte Signalkomplexe in der Zelle organisieren, die wahrscheinlich eine Rolle bei der gerichteten Zellmigration spielen.

Ein weiterer Teil des Projekts war ein geplanter KSR1-Knockdown mit siRNA, um die Funktion dieses Proteins genauer zu untersuchen. Trotz mehrerer Versuche mit verschiedenen siRNAs konnte jedoch keine deutliche Reduktion des Proteins erreicht werden. Dadurch konnten einige der geplanten Experimente nicht wie ursprünglich vorgesehen ausgewertet werden. Diese Erfahrung hat mir gezeigt, dass wissenschaftliche Forschung häufig nicht geradlinig verläuft und Experimente manchmal mehrfach angepasst werden müssen.

## 5. Persönliche Erfahrungen

Der Einstieg in die Laborarbeit war für mich zunächst eine Umstellung, da viele Methoden neu waren und ich erst verstehen musste, wie die einzelnen Experimente zusammenhängen. Mit der Zeit wurde jedoch vieles klarer und ich konnte immer selbstständiger arbeiten.

Eine weitere Herausforderung war die Sprachbarriere. Während im Institut die Kommunikation meist auf Englisch möglich war, war es außerhalb des Instituts deutlich schwieriger. Viele Menschen in Spanien sprechen wenig oder gar kein Englisch, und mein eigenes Spanisch reichte nicht immer für längere Gespräche aus.

Trotzdem war der Aufenthalt im Ausland eine sehr interessante Erfahrung für mich. Spanien hat viele eigene Traditionen und Feste, die sich von denen in Deutschland unterscheiden. Besonders gefallen hat mir der Austausch mit Menschen aus verschiedenen Ländern. Während meines Aufenthalts habe ich mich mit Personen aus Spanien, Peru und Mexiko angefreundet.

## **6. Wohnsituation in Madrid**

Eine zusätzliche Herausforderung während meines Aufenthalts war die Wohnungssuche in Madrid. Die Mietpreise sind relativ hoch und erinnern teilweise an die Situation in Berlin, während die Qualität vieler Wohnungen deutlich schlechter ist.

Auch meine eigene Erfahrung mit der Vermietungsagentur war teilweise schwierig. Einige Angaben zur Wohnung stimmten nicht vollständig mit der tatsächlichen Situation überein. So war beispielsweise angegeben, dass sieben Personen in der Wohnung leben würden, tatsächlich waren es jedoch acht.

Zusätzlich gab es Probleme mit einem Mitbewohner, der sich nicht an die Hausordnung hielt. Obwohl mehrere Bewohner sich bei der Agentur beschwerten, wurde zunächst wenig unternommen. Generell hatte ich den Eindruck, dass Probleme in der Wohnung nur sehr langsam oder gar nicht gelöst wurden.

## **7. Fazit**

Insgesamt war das Praktikum für mich eine sehr wertvolle Erfahrung. Ich konnte viele praktische Fähigkeiten im Labor erlernen und gleichzeitig einen realistischen Einblick in wissenschaftliche Forschung bekommen.

Besonders interessant war es für mich, Methoden aus der Universität endlich praktisch anzuwenden und zu sehen, wie ein echtes Forschungsprojekt durchgeführt wird.

Auch persönlich war der Aufenthalt in Spanien eine sehr bereichernde Erfahrung. Neben der wissenschaftlichen Arbeit habe ich viel über eine andere Kultur gelernt und Menschen aus verschiedenen Ländern kennengelernt.

Rückblickend kann ich sagen, dass mir dieses Praktikum sowohl fachlich als auch persönlich sehr viel gebracht hat.