

## Besuch des Max-Delbrück-Centrums am 16. Juli 2014

Am 15. Juli bin ich mit dem Auto nach Berlin gefahren, um mir am nächsten Tag im Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin Berlin-Buch eine Methode anzueignen, die für einen Teilversuch meiner Doktorarbeit als Grundlage dient.

Das Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin (MDC) betreibt biomedizinische Grundlagenforschung. Es beschäftigt sich vor allem mit den Ursachen von Krankheiten auf molekularer Ebene, um diese besser erkennen und behandeln zu können und um ihnen besser vorzubeugen. Das gesetzte Ziel des MDCs ist, die gewonnenen Erkenntnisse möglichst rasch in die Anwendung zu überführen.

Ich war zu Besuch in der Arbeitsgruppe von Dr. Uta Hoepken, welche sich mit dem Fachgebiet der molekularen Tumorgenetik und Immunogenetik beschäftigt. Speziell wird hier die mukosale Immunität und vor allem die Rolle des CCR7-Rezeptors im Kolon untersucht.

Am 16. Juli wurde ich um 7.30 Uhr im Haus C84 des MDCs von der wissenschaftlichen Mitarbeiterin Katharina Wichner abgeholt, die mir am diesen Tag eine Methode zur Aufarbeitung der Darmmukosa bei Mäusen näher bringen wollte. Frau Wichner zeigte mir die Entnahme des Dickdarms, die Aufarbeitung der intraepithelialen Lymphozyten und schließlich die Aufarbeitung der Lamina propria-Lymphozyten mittels Kollagenase-Verdau. Darauf übte sie mit mir die Percoll-Aufreinigung und führte mit mir die Messungen der aufgearbeiteten Zellsuspensionen aus dem Kolon am FACS durch. Zusätzlich zur Erlernung der Methode sprachen wir noch über weitergehende Versuche, mit denen sie schon Erfahrung gesammelt hatte und gab mir zwei weitere Protokolle zur Foxp3+- und intrazelluläre Zytokine-Färbung im Kolon mit, die ich auch mit den Immunzellen aus dem Kolon im Rahmen meiner Promotion durchführen werde.

Ich habe mir diese Methode im MDC näher bringen lassen, weil die Aufarbeitung der Kolonmukosa mittels Kollagenase-Verdau sehr kritisch ist. In mehreren Vorversuchen hatte ich bereits nach einem Protokoll von Benno Weigmann (Nature Protocols 2, - 2307 - 2311 (2007); B. Weigmann et al.; *Isolation and subsequent analysis of murine lamina propria mononuclear cells from colonic tissue*) die Aufarbeitung des Kolons durchgeführt, jedoch konnte ich nach diesem Protokoll kaum CD4+ T-Zellen und B-Zellen in der Darmmukosa detektieren, obwohl diese dort jeweils etwa 10% der Immunzellen ausmachen. Es stellte sich heraus, dass die Kollagenase zu hoch konzentriert auch die Oberflächenmarker der Zellen angreift und die Zellen ihre Oberflächenmarker in der Folge endozytieren. Da ich jedoch gerade diese Zellen in meinen Versuchen genauer untersuchen möchte, war dieses Protokoll für die Aufarbeitung der Mukosa ungeeignet.

Auf Anfrage bei der Arbeitsgruppe von Frau Dr. Hoepken erfuhren wir, dass Frau Wichner die Aufarbeitung dort für ihre Versuche erfolgreich durchführte, nachdem auch sie die Methode bei einem anderen Institut erlernt hatte.

Zurück in meinem Labor habe ich die Methode eine Woche später ausprobiert und viel versprechende Ergebnisse erhalten. Darauf führte ich auch die intrazellulären Färbungen mit Hilfe der Protokolle, die mir Frau Wichner mitgegeben hatte, durch und auch dieser Versuch gelang. Damit konnte ich durch meinen Besuch im MDC die entsprechenden Etablierungsversuche für die Färbung der Darmmukosa und die Analyse der Immunzellen des Kolons im FACS fertigstellen. Nun kann die Untersuchung zur Veränderung der Immunität der Kolonmukosa nach einer Kolostoma-Anlage im FACS in den nächsten Monaten mittels der erlernten Methode durchgeführt werden und damit ein sehr wichtiger Teil meiner Promotionsarbeit verwirklicht werden.

Ich bedanke mich herzlichst bei Ihnen, dass sie mir durch die Finanzierung der Fahrt diesen Besuch möglich gemacht haben.

Mit freundlichen Grüßen

Annabel Kleinwort