

Auslandspraktikum an der Semmelweis University

Verfasst [REDACTED]
Zeitraum: 25.06.-25.08.2023

Im Rahmen meines Praktikums an der renommierten Semmelweis University in Ungarn (Budapest) hatte ich die wunderbare Gelegenheit, eine bereichernde Zeit zu erleben. Meine Hauptaufgaben bestanden darin, experimentelle Techniken und Analyseverfahren im Bereich der Biochemie zu erlernen und anzuwenden. Dabei habe ich an verschiedenen Projekten mitgearbeitet, die sich mit der Untersuchung von Proteinen, sowie RNA und deren Rolle in zellulären Prozessen befassten. Mein Ziel war es, mein theoretisches Wissen in der Praxis anzuwenden und meine praktischen Fähigkeiten zu verbessern. Während meines Aufenthalts konnte ich mein Wissen über biochemische Methoden erweitern und mich intensiv auf die RNA-Analyse im Hinblick auf messengerRNAs konzentrieren.

Vorbereitung

Da mir im Bachelorstudium aufgrund von Zeitmangel und anderen privaten Gründen mir die Möglichkeit für Auslandsaufenthalte nicht gegeben war, nahm ich mir vor im Masterstudium nachzuholen. Ich wollte gerne einen Einblick bekommen, wie die Laborarbeit in anderen Ländern aussieht und wie das alltägliche Leben dort ist. Da ich glücklicherweise für meine Bachelorarbeit in der Arbeitsgruppe von Prof. [REDACTED] gelandet bin, stieg in mir dieses Interesse durch Erzählungen anderer ausländischen Laborkollegen in der Arbeitsgruppe noch weiter. Schließlich fragte ich [REDACTED] nach solch einer Möglichkeit und glücklicherweise bot sie mir durch ihre Zusammenarbeit nicht nur in einem Land, sondern in zwei Ländern ein Aufenthalt an. So ergab es sich, dass ich Daten für meine Masterarbeit sowohl an der Maastricht University in den Niederlanden als auch an der Semmelweis University in Budapest (Ungarn) sammeln dürfte.

Die Suche der Unterkunft erschwerte sich dadurch, dass ich jeweils in beiden Ländern lediglich 9 Wochen verbleiben würde. Durch längere Recherchen und die Suche in Facebook-Gruppen fand ich schließlich für beide Länder Unterkünfte für die kommenden Zeiträume.

Durchführung

Im Verlauf meines Praktikums führte ich Analysen an menschlichem Herzgewebe aus drei verschiedenen Gruppen durch: Spender, Patienten mit HFpEF (*heart failure with preserved ejection fraction*) ohne Diabetes Mellitus als Komorbidität und Patienten mit HFpEF und Diabetes Mellitus als Komorbidität. Bei diesen drei Gruppen gab es ebenfalls Unterschiede untereinander. Eine Gruppe wurde mit Empaglyphosin behandelt, die andere mit GLP1 (*Glucagon-like peptide 1*) und die letzte blieb unbehandelt. Das Ziel dieser Experimente war es, den Einfluss der Krankheit Diabetes Mellitus auf Patienten mit HFpEF zu analysieren und welche Auswirkungen es auf diese Patienten bzw. ob und wie es einen Einfluss auf die Entstehung von HFpEF hat.

Für die Untersuchung der Transkriptionslevel der messengerRNAs wurde die RNA aus den drei Gewebetypen (Donor, DM, Non-DM) mit dem Direct-zol™ RNA-Microprep-Kit (Zymo Research; Katalognummer R2061) gereinigt. Der erste Schritt war dabei die Puffervorbereitung. Dazu wurden dem 160 mL Directzol™ RNA PreWash Konzentrat jeweils 40 mL Ethanol (95-100 %) zugesetzt. Danach wurden dem RNA-Waschpuffer 52 mL 95 %iges Ethanol zugesetzt. Zur Rekonstruktion der gefriergetrockneten DNase I wurden 275 µL DNase/RNase-freies Wasser zugegeben und durch vorsichtiges Umschwenken gemischt. Zur Homogenisierung der Gewebe wurden jeder Probe 800 µL TRI-Reagenz® zugesetzt. Anschließend wurden sie eine Minute lang bei 15000 x g zentrifugiert, um partikuläre Trümmer aus dem homogenisierten Gewebe zu entfernen. Anschließend wird der Überstand in neue nukleasefreie Röhrchen überführt.

Um die RNA aus den Überständen zu reinigen, wurde ein gleiches Volumen Ethanol (95-100%) zu den Proben gegeben. Nach gründlichem Mischen wurden die Proben in Zymo-Spin™ IC-Säulen in Sammelröhrchen überführt und 30 Sekunden lang bei 15000 x g zentrifugiert (von nun an mit denselben Zentrifugationseinstellungen). Danach wurden die Säulen in neue Sammelröhrchen überführt, wobei der Überstand verworfen wurde. Anschließend wurden die Proben durch Zugabe von 400 µL RNA-Waschpuffer zu den Säulen gewaschen und zentrifugiert. Dann wurden die Proben mit DNase I behandelt, indem 5 µL DNase I (6 U/µL) und 35 µL DNA-Verdauungspuffer in ein RNase-freies Röhrchen gegeben und die Mischung

vorsichtig umgedreht wird. Unmittelbar nach dem Umschwenken wurde die Mischung auf die Säulenmatrizen aufgetragen, wo die Proben 15 Minuten bei RT inkubiert wurden. Dann wurden 400 µl Direct-zol™ RNA-Prewash zu den Säulen gegeben und zentrifugiert, woraufhin der Überstand wieder verworfen wird. Dieser Schritt wurde erneut wiederholt. Anschließend wurden die Proben durch Zugabe von 700 µl RNA-Waschpuffer gewaschen und eine Minute lang zentrifugiert, um die vollständige Entfernung des Waschpuffers sicherzustellen. Die Säulen wurden dann in RNase-freie Röhrchen überführt. Im letzten Schritt wurde die RNA durch Zugabe von 15 µl DNase/RNase-freiem Wasser direkt zu den Säulenmatrizen eluiert und ein letztes Mal zentrifugiert.

Für die reverse Transkriptions-PCR (RT-PCR) wurde das miRCURY® LNA® RT Kit (Kat.-Nr.: 339340, Qiagen) verwendet. Zu diesem Zweck wurde die *Template*-RNA zunächst auf eine Konzentration von 5 ng/µL eingestellt. Dann wurde der Master-Mix für die reverse Transkription gemäß der folgenden Tabelle hergestellt.

Component	miRCURY LNA miRNome PCR Panels – human, mouse, and rat (Panel I+II)
5x miRCURY RT Reaktionspuffer	8 µL
RNase-freies Wasser	18 µL
10x miRCURY RT Enzym-Mix	4 µL
Synthetische RNA spike-ins	2 µL
<i>Template RNA</i> (5 ng/µL)	8 µL
Gesamtvolumen	40 µL

Nach dem Mischen dieser Komponenten wurde der RT-Mastermix für die reverse Transkription 60 Minuten lang bei 42 °C im PCR-Cycler inkubiert. Um das Enzym der reversen Transkriptase zu inaktivieren, wurde die Mischung fünf Minuten lang bei 95 °C inkubiert. Schließlich wurden die RT-Reaktionen auf Eis gelegt und mit der Echtzeit-PCR fortgesetzt.

Die quantitative Echtzeit-PCR wurde zur Analyse der miRNA-Expression auf einem iCycler-Echtzeit-PCR-Detektionssystem unter Verwendung des iQ SYBR-green supermix durchgeführt. Die miRNA-Expressionen wurden in Bezug auf die Referenz-miRNA normalisiert.

Während meines Praktikums fanden alle zwei Wochen Meetings mit meinen Betreuern statt, um den bisherigen Verlauf der Experimente zu besprechen sowie zukünftige Schritte zu

planen. Diese regelmäßigen Besprechungen waren äußerst hilfreich, um Feedback zu erhalten und sicherzustellen, dass meine Arbeit den richtigen Kurs einschlug. Zudem wurden die verschiedenen Ergebnisse besprochen und versucht, Zusammenhänge aus diesen miteinander zu schließen. Die Freizeit verbrachte ich gerne draußen in der Natur und an der Donau, sowohl mit als auch ohne Freunde. Ich hatte ebenfalls Gelegenheiten die umliegenden Städte besuchen zu können und das Land besser kennenzulernen.



Links das Parlamentsgebäude in Budapest zu sehen und rechts die Universität in Debrecen

Evaluation

Ich habe die Zeit an der Semmelweis Universität wirklich genossen und ich bin dankbar für die Möglichkeiten, die mir während meines Praktikums geboten wurden. Das Praktikum an der Semmelweis Universität hat mich persönlich und beruflich sehr weit gebracht und ich bin dankbar für die Möglichkeiten, die mir währenddessen geboten wurden. Ich konnte mein theoretisches Wissen erweitern und praktische Fertigkeiten erwerben, die für meine zukünftige Laufbahn von großer Bedeutung sind. Durch die Zusammenarbeit mit erfahrenen Wissenschaftlern und Forschern erhielt ich wertvolle Einblicke in die Arbeitsweise eines biochemischen Forschungsteams. Ich habe gelernt, komplexe Experimente durchzuführen, Daten zu analysieren und wissenschaftliche Berichte zu verfassen. Während meines Praktikums hatte ich die Möglichkeit, viele Kontakte zu knüpfen. Die Semmelweis Universität bietet ein inspirierendes Umfeld, in dem Forscher aus verschiedenen Disziplinen zusammenkommen. Ich konnte mit anderen Praktikanten, Doktoranden und Forschern zusammenarbeiten und von ihrem Fachwissen und ihren Erfahrungen profitieren. Diese

Kontakte werden mir in meiner zukünftigen Laufbahn sicherlich von großem Nutzen sein und ermöglichen es mir, mein berufliches Netzwerk auszubauen.

Neben meiner Arbeit hatte ich auch die Gelegenheit, die ungarische Kultur und ihre Sitten näher kennenzulernen. Ich konnte neue Freundschaften schließen und gemeinsam mit meinen Kommilitonen die Stadt erkunden. Die Semmelweis Universität liegt in einer wunderschönen Stadt mit einer reichen Geschichte und einer lebendigen Kulturszene. Ich hatte die Möglichkeit, an kulturellen Veranstaltungen teilzunehmen, lokale Speisen zu probieren und die Schönheit der Umgebung zu genießen. Diese Erfahrungen haben meinen Horizont erweitert und mein interkulturelles Verständnis gestärkt. Zusätzlich möchte ich mich bei dem Erasmus-Team der Ruhr-Universität Bochum für die Möglichkeit bedanken, dieses Auslandspraktikum durchführen zu können. Sie haben mir diese wertvolle Erfahrung ermöglicht und mich bei allen organisatorischen Belangen unterstützt. Ihr Engagement und ihre Unterstützung haben dazu beigetragen, dass ich dieses Praktikum an der Semmelweis Universität erfolgreich absolvieren konnte.