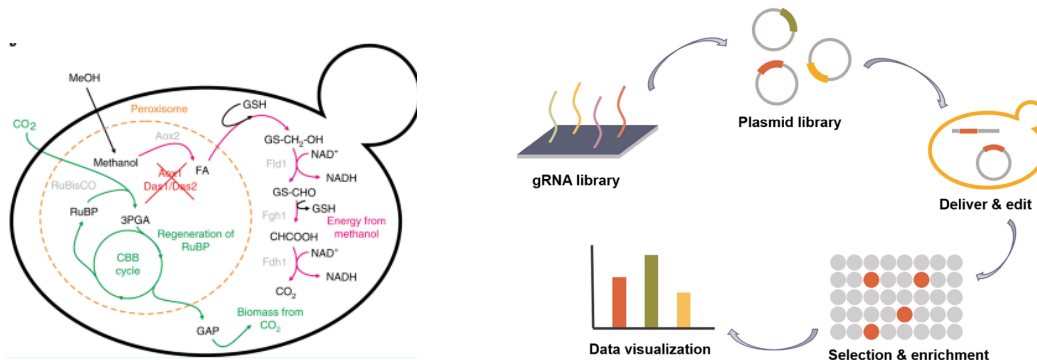


CRISPR-Screen in *Pichia pastoris* zur Identifikation von Genen zur Steigerung der Proteinexpression



Die Nutzung von *Pichia pastoris* als Expressionssystem für die pharmazeutische und biotechnologische Industrie hat in den letzten Jahren erhebliche Aufmerksamkeit erlangt. Vielfältige Strategien zur Steigerung der Expression von Proteinen wurden entwickelt, was unter anderem Knock-Outs von endogenen Sequenzen (z.B. Proteasen) und Überexpression von homologen oder heterologen Helfer-Faktoren (z.B. Chaperones, Sorting-Proteine) einschließt. Um ein besseres Verständnis über die Limitationen bei der Expression von heterologen Proteinen zu erlangen, sollen mithilfe eines CRISPR-Screens Gene identifiziert werden, die zur Titer Steigerung beitragen können. Die identifizierten Kandidaten sollen anschließend im Kontext von Hochleistungs-Stämmen mit Modellproteinen in Mikroplatte, Schüttelkolben und Bioreaktor identifiziert werden.

Eine Option auf eine Anstellung als Werkstudent (bis zu 20 h / Woche) besteht.

Betreuer	Beteiligte Institute und Firmen
<ul style="list-style-type: none"> Tbd 	Das Projekt wird in Kooperation mit der Picea Biosolutions GmbH durchgeführt.
Ziele des Projekts	Diese Werkzeuge/Qualifikationen werden erlernt
<ul style="list-style-type: none"> Entwicklung eines CRISPR-Screens zur Aktivierung (CRISPRa) und Inaktivierung (CRISPRi) von Genen in <i>P. pastoris</i> Etablierung einer FACS- (Fluorescence Activated Cell Sorting) basierten High-Throughput-Screeningstrategie Charakterisierung der identifizierten Screening-Hits mit Modellproteinen 	<ul style="list-style-type: none"> <i>In-silico</i> Plasmiddesign und Planung von Expressionstrategien Erstellung von CRISPR-Libraries Bedienung eines FACS-Gerätes Analyse von CRISPR-Screens mittels Next Generation Sequencing und Datenauswertung Durchführung von Testexpressionen im Mikrotierplattenmaßstab und Schüttelkolbenmaßstab Bioreaktorkultivierung von <i>Pichia pastoris</i> Kommunikation und Diskussion von Ergebnissen (auch mit Industriepartnern)
Literaturempfehlungen und Quellen	
<ul style="list-style-type: none"> Pan et al., (2022) Front. Microbiol.; https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1059777 Smith et al., (2016) Genome Biology; https://doi.org/10.1186/s13059-016-0900-9 	