



Prof. Dr. M. Niedrig
ZBS 1

Robert Koch-Institut | Postfach 65 02 80 | 13302 Berlin

Dr. Katharina Achazi
Gustav-Müller-Straße 9
10829 Berlin

Datum
06.12. 2012

Ihr Zeichen

Ihre Nachricht vom

Nachweis der Sachkunde gem. §§ 15, 17 GenTSV von Dr. Katharina Achazi

Frau Katharina Achazi hat vom 15.09.2006 bis 14.07.2012 auf dem Gebiet der Gentechnik im Zentrum für biologische Sicherheit des Robert Koch-Instituts gearbeitet. In diesem Zeitraum hat sie S1-Arbeiten zu den Themen „Etablierung einer siRNA Strategie gegen das Frühsommer-Meningoenzephalitis Virus“ sowie „Etablierung einer quantitativen RT-PCR zum Nachweis des FSME/TBE Virus“ durchgeführt.

Im Detail hat Frau Dr. Achazi zur Herstellung der, gegen das Frühsommer-Meningoenzephalitis- (FSME-) Virus-Genom gerichteten, siRNAs Sequenzbereiche innerhalb des FSME Virus-Genoms identifiziert, die den optimalen Charakteristika einer wirksamen siRNA entsprechen. Diese Sequenzen wurden in Expressionsvektoren unter die Kontrolle eines U6-Promoters kloniert. Die Vermehrung der siRNA-tragenden Plasmide erfolgte in *E. coli*.

Die Vektoren wurden in eukaryotische Zelllinien transient transfiziert. Die antivirale Wirkung der siRNAs wurde durch Infektion der Zellen mit dem FSME Virus und anschließender Effizienz-Analyse der Virusreplikation untersucht. Dabei wurden sowohl die infektiösen Partikel mittels des Plaque-Tests wie auch die Anzahl der Genomäquivalente (RT-PCR) bestimmt.

Robert Koch-Institut
zentrale@rki.de
Tel. +49 (0)30 18754-0
Fax-2328
IVBB-Rufnr. 754-0
www.rki.de

Berichterstattung/
Bearbeitung von

niedrigm@rki.de
Durchwahl.....-2370/2321
Fax-2625/2390
Liegenschaft: N

Besucherschriften

Nordufer 20 (N)
13353 Berlin

Seestraße 10 (S)
13353 Berlin

G.-Pape-Str. 62-66 (G)
12101 Berlin

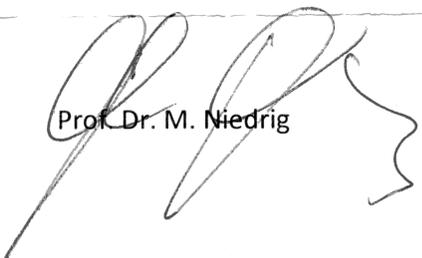
Burgstr. 37 (W)
38855 Wernigerode

Das Robert Koch-Institut
ist ein Bundesinstitut
im Geschäftsbereich des
Bundesministeriums für
Gesundheit





Zur Etablierung der quantitativen RT-PCR zum Nachweis des FSME-Virus wurden Plasmide sowie *in vitro* transkribierte RNAs (ivRNAs) als Standards erzeugt. Dafür wurde ein Fragment des E-Proteins bzw. des NS1-Proteins verschiedener FSME-Viren (K603, Aina, Sofjin, Neudörfl, Louping Ill) in einen Vektor kloniert und in *E. coli* vermehrt. Im Anschluss erfolgte zur Herstellung der ivRNAs eine *in vitro* Transkription der Plasmide.



Prof. Dr. M. Niedrig

