

SONDERDRUCK

aus

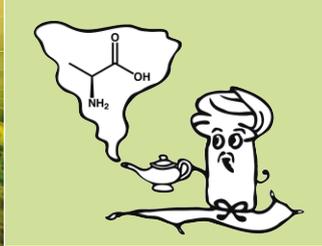
4 | 2021

VBio

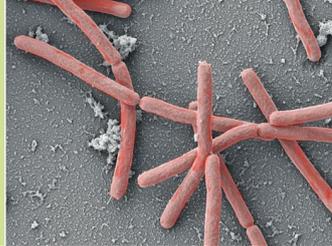
Verband | Biologie, Biowissenschaften
& Biomedizin in Deutschland



NACHHALTIGKEIT
Genomeditierte
Lebensmittel



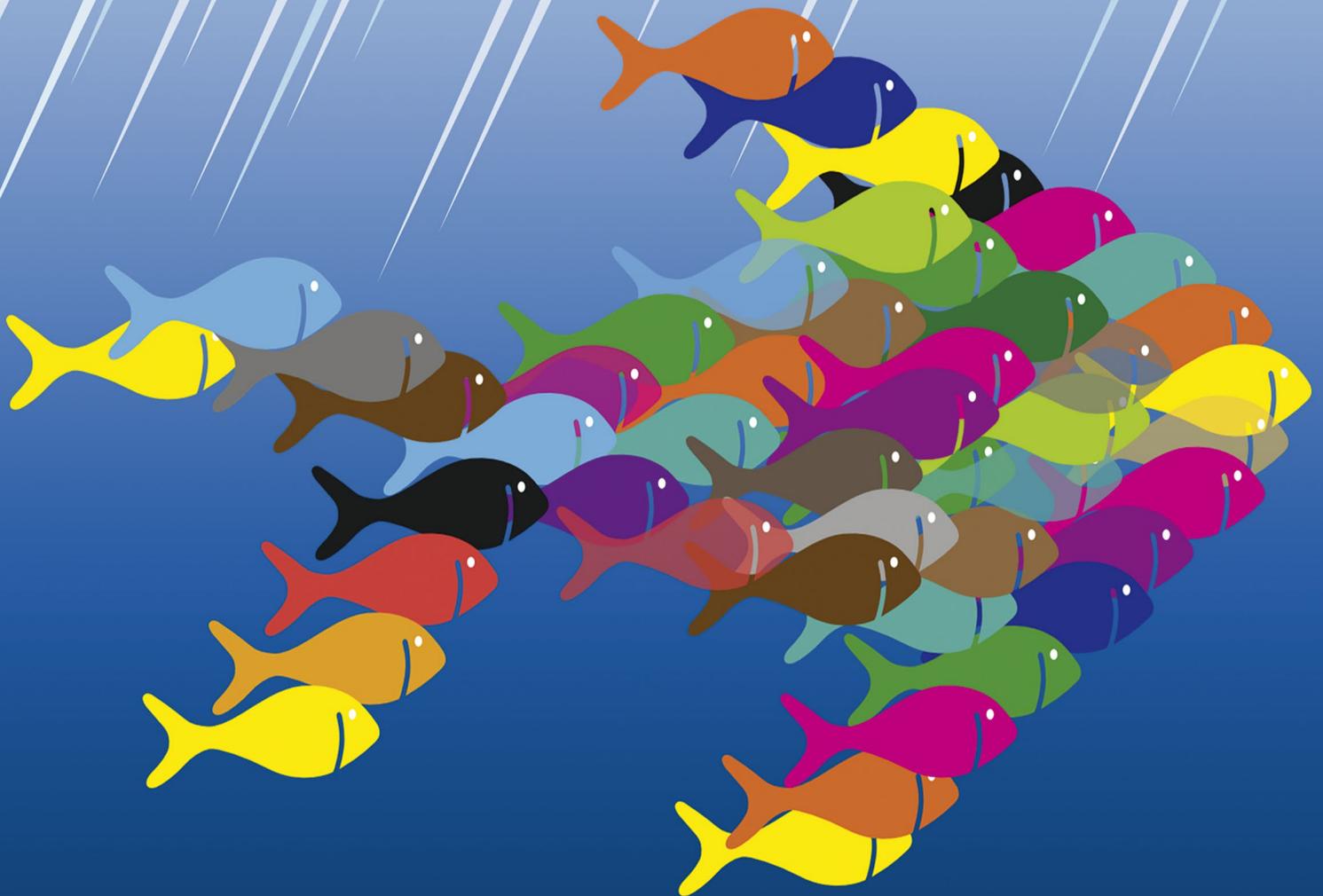
BIOTECHNOLOGIE
Nicht-kanonische
Aminosäuren



**MIKROBE DES
JAHRES**
Methanothermobacter

BIOLOGIE

IN UNSERER ZEIT



Schwarmintelligenz

Die Vielfalt genetischer Modellsysteme kommt zurück

Eine neue Ära in der funktionellen Genetik

GREGOR BUCHER



Der etwa vier Millimeter große Rotbraune Reismehlkäfer (*Tribolium castaneum*) ist ein typischer Vorratschädling, der Getreide und andere landwirtschaftliche Erzeugnisse befällt. Für die genetische Forschung ist er inzwischen jedoch von großem Nutzen – als neues Modellsystem, in dem Evolution und Funktion von Genen untersucht werden können.

Lange Zeit gab es nur wenige Tierarten, bei denen man die Funktion von Genen untersuchen konnte. Innerhalb der Insekten wurde die Taufliege *Drosophila melanogaster* das „Haustier“ der Genetiker, während andere Insekten – auch Schadinsekten – kaum untersucht wurden. Inzwischen gibt es aber neue Methoden, die es erlauben, die Funktion von Genen in einem breiten Rahmen zu untersuchen: Die Sequenzierung von Genomen ist inzwischen sehr günstig, die Genfunktion kann gezielt ausgeschaltet werden, und es gibt ▶ transgene Methoden, die in fast allen Tieren funktionieren. Seit kurzem erweitert die ▶ Genomeditoring das Spektrum der Möglichkeiten zusätzlich. In diesem Artikel wird zunächst dargelegt, welche Vor- und Nachteile der Fokus auf einige wenige genetische Modellsysteme hat. Dann wird gezeigt, welche neuen wissenschaftlichen Möglichkeiten die Etablierung neuer Modellsysteme schafft und wie dies auch zu neuen Methoden der Schädlingsbekämpfung führen kann. Weil Insekten eine erstaunliche Vielfalt aufweisen und für den Menschen sowohl als Nützlinge als auch als Schädlinge wichtig sind, fokussiert dieser Artikel auf diese Tiergruppe. Die vorgestellten Entwicklungen lassen sich aber auch in anderen Tiergruppen und Pflanzen beobachten.

Was auch immer eine Zelle tut – sich zusammenziehen wie eine Muskelzelle, Reize weiterleiten wie Neuronen oder Viren erkennen und Antikörper produzieren wie Abwehrzellen –, immer braucht sie dafür eine Auswahl an speziellen Eiweißen, die diese Aktionen ausführen wie z. B. Aktin-Myosin im Muskel, Ionenkanäle in der Nervenzelle und Erkennungsrezeptoren auf der Zelloberfläche der Abwehrzellen. Die Bauinformation für diese Proteine ist in den Genen gespeichert und auch die Information, welche Proteine in welcher Zelle translatiert (= abgelesen und zusammgebaut) werden, steht zum großen Teil in der DNA geschrieben. Um zu verstehen, wie eine Zelle funktioniert, wie sich ein Organismus entwickelt und wie er mit der Umwelt interagiert, muss man also untersuchen, welche Gene in welcher Zelle aktiviert werden, was sie dort tun und welche Auswirkungen eine Genmutation auf den Organismus hat.

Seit Mendel gehen die funktionelle Genetik und Genomik diesen Fragen nach. In den letzten Jahrzehnten konzentrierten sich die meisten Wissenschaftler dabei auf sehr wenige Arten, so genannte ▶ genetische Modellsysteme wie die Hausmaus (*Mus musculus*), den Fadenwurm *Caenorhabditis elegans* und – ganz besonders – die Taufliege *Drosophila melanogaster*. Die Grundannahme ist, dass die in den Modellsystemen gefundenen Prinzipien allgemeingültig sind. Weil die Taufliege einerseits eine komplexe Biologie aufweist, aber eine selbst für Insekten extrem kurze Generationszeit hat, wurde dieses Modellsystem zum genetisch bestuntersuchten Tier. Historisch

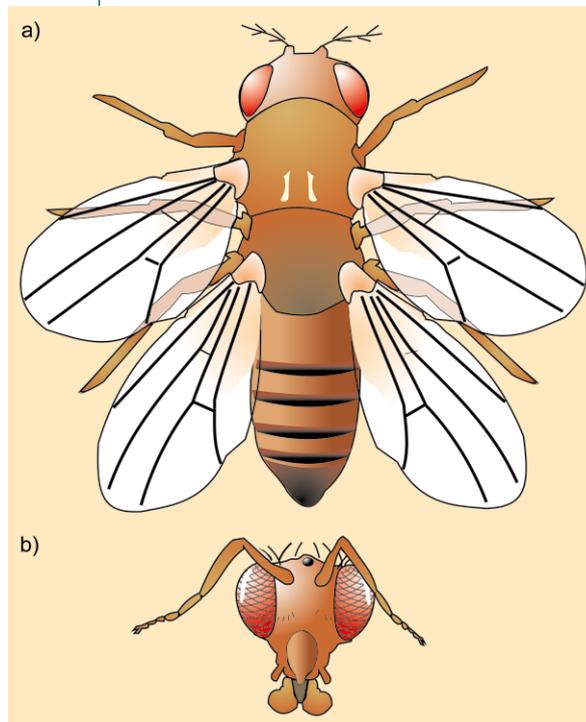
gesehen war der Fokus nicht immer so stark auf wenige Modellsysteme ausgerichtet, und seit kurzem erweitert sich die Zahl an Modellsystemen wieder.

Genetische Modellsysteme: Von der Vielfalt zur Monokultur

In den Anfängen der Genetik der Tiere hatte fast jedes Labor sein eigenes Lieblingsmodellsystem. Mitte des 19. Jahrhunderts untersuchte Johann Dzierzon Bienen und fand, dass ihr Geschlecht davon abhängt, ob sie haploid oder diploid sind. 1933 promovierte Ernst Caspari mit einer Arbeit an Mutanten der Augenfarbe bei der Motte *Ephestia kühniella*, und so genannte ▶ homeotische Mutationen (Abbildung 1) wurden zu Beginn des zwanzigsten Jahrhunderts bei der Taufliege *Drosophila melanogaster* sowie im Mehlkäfer *Tribolium castaneum* beschrieben. Wie kam es, dass aus dieser ursprünglichen Vielfalt der Modellsysteme die Taufliege zum zentralen genetischen Modellsystem wurde und nicht die anderen?

Bei der Auswahl eines genetischen Modellsystems gibt es drei wichtige Argumente, von denen das erste biologisch ist: Der zu untersuchende Prozess muss bei der Art vorhanden und wenn möglich typisch ausgeprägt sein – zur Untersuchung der Flügelentwicklung könnten im Prinzip also alle geflügelten Insekten dienen. Das zweite Argument ist mehr praktischer Natur: Um im Labor nutzbar zu sein, müssen die Tiere in großen Mengen leicht zu halten sein, sollten sie das ganze Jahr über viele Nachkommen erzeugen und kurze Generationszeiten haben. Zikaden mit einer Generationszeit von 17 Jahren, welche die meiste Zeit als flügellose Larven im Boden verbringen, wären hier also – wie auch viele andere Insekten – nicht besonders gut geeignet. Das dritte Argument ist historisch: Jede Arbeit an einer bestimmten Art generiert Wissen über deren Biologie, aber auch Erfahrung bei der Anwendung von Techniken, und sie führt zum Aufbau und damit Verfügbarkeit von spezifischen Ressourcen wie zum Beispiel Antikörpern, Mutanten oder detaillierten, grundlegenden Beschreibungen. Ein Wissenschaftler, der an dieser Art weiter arbeitet, baut auf diesem Vorwissen und der Erfahrung anderer auf. Dadurch wird er schneller neue Erkenntnisse gewinnen als jemand, der eine bisher wenig erforschte Art zum Untersuchungsobjekt wählt und diese Grundlagen in jahre- oder jahrzehntelangen Arbeiten im neuen Modellsystem erst erarbeiten muss, bevor die eigentlich neue Arbeit beginnt. Aufgrund dieses Synergieeffekts durch Arbeiten vieler Wissenschaftler an einem Modellsystem wurden die genetischen Grundlagen der Flügelentwicklung (und vieles andere) vor allem bei der Taufliege *D. melanogaster* untersucht. In der Morphologie können Techniken vergleichsweise leicht von einer Art auf andere übertragen werden – daher ist hier eine breite Auswahl an Untersuchungsobjekten leicht zu realisieren. Dagegen ist die Etablierung von Techniken und Ressourcen in der funktionellen Genetik sehr aufwändig und kann Jahre dauern, so dass das „historische“ Argument hier besonders schwer wiegt.

ABB. 1 | HOMEOTISCHE TRANSFORMATIONEN



a) Normalerweise haben Dipteren („Zweiflügler“) nur auf dem zweiten Thorakalsegment echte Flügel, während die Flügel auf dem dritten Thorakalsegment zu so genannten Haltern reduziert sind. Bei der hier gezeigten homeotischen Transformation wurde die Identität des dritten Segments umgewandelt, so dass es nun einem zweiten Thorakalsegment gleicht. Daher hat das Tier vier statt zwei voll entwickelte Flügel. b) Hier wurden die Antennen homeotisch in Laufbeine umgewandelt. Abb. mit freundlicher Genehmigung der Autoren und des Springer-Verlages.

IN KÜRZE

- Jahrzehntlang wurde die **Wirkweise von Genen nur in wenigen Tierarten untersucht**, weil die entsprechenden Methoden nur in den klassischen genetischen Modellorganismen Fliege, Maus, Fadenwurm und Zebrafisch zur Verfügung standen.
- Neue Methoden wie Genomsequenzierung, reverse Genetik zum Ausschalten der Genfunktion, Transgenese und Genomeditierung erlauben es nun, **viele weitere Arten zu untersuchen**.
- Dies eröffnet faszinierende Möglichkeiten für Wissenschaftler, die sich für biologische Prozesse interessieren, **die in den klassischen Modellorganismen nicht repräsentiert sind**, oder die die Evolution der Genfunktion verstehen wollen. Zudem können neue Methoden der artspezifischen Schädlingsbekämpfung entwickelt werden.
- Die Etablierung eines neuen genetischen Modellsystems bleibt ein aufwendiges Unterfangen, das Jahre und Jahrzehnte dauern kann und zu dem eine **breite Expertise in vielen verschiedenen Methoden nötig ist**. Der Reismehlkäfer (*Tribolium castaneum*) ist eines der am weitesten entwickelten neuen genetischen Modellsysteme.

Die mit einem grünen Pfeil markierten Begriffe werden im Glossar auf Seite 373 erklärt.

Die Taufliege *D. melanogaster* war ursprünglich also nur eines von vielen möglichen genetischen Modellsystemen. Die mit zwei Wochen sehr kurze Generationszeit und die kleine Zahl an Chromosomen erleichterte aber die Herstellung genetischer Werkzeuge. Da immer mehr Techniken und Wissen in diesem einen Modellsystem erarbeitet wurden, wählten es zunehmend mehr Wissenschaftler und trugen ihrerseits zu Wissen und Methodenvielfalt bei. Dieser selbstverstärkende Prozess führte schließlich dazu, dass *D. melanogaster* als einzige Fliegenart zum bestuntersuchten genetischen Modell der Tiere wurde. Daher lautete noch bis vor kurzem der Rat der Insektengenetiker „Wenn Du Dich für genetische Mechanismen interessierst, dann wähle *D. melanogaster* als Modellsystem – was man dort nicht untersuchen kann, wird nicht untersucht.“

Vor- und Nachteile des Fokus auf wenige Modellsysteme

Indem sich eine starke Wissenschaftlergemeinschaft auf ein Modellsystem fokussiert und Wissen, Ressourcen und Techniken ansammelt und teilt, entsteht eine kraftvolle Synergie. Daher wurden und werden grundlegende neue Erkenntnisse zur Genfunktion zuerst bei *D. melanogaster* gewonnen, und es bleibt ratsam, dieses Modell zu verwenden, wenn es für die Fragestellung möglich ist. Allerdings hat dieser starke Fokus auch mehrere Nachteile. Erstens ist die Taufliege als stark abgeleitete Diptere (Zweiflügler) in vielerlei Hinsicht nicht typisch für Insekten, und daher können die dort gefundenen Paradigmen nur zum Teil als allgemeingültig angesehen werden. Im Gegensatz zu *D. melanogaster* ist zum Beispiel der ►Wnt-Signalweg bei fast allen Tieren (inklusive Vertebraten) für die Bestimmung des posterioren Pols nötig und die Einteilung des Abdomens in Segmente erfolgt bei fast allen Insekten – außer bei *D. melanogaster* – während eines posterioren Längenwachstums. Fast alle Insekten, außer der Fliege, entwickeln während der Embryogenese Hüllen aus extraembryonalem Gewebe und Laufbeine. Während in der Metamorphose bei *D. melanogaster* die gesamte larvale Epidermis durch eine neue ersetzt wird, übernehmen und ergänzen die meisten Insekten die larvale Epidermis lediglich. Auch auf der physiologischen Ebene gibt es wichtige Unterschiede. Zum Beispiel fehlen der Taufliege zwei Schlüsselenzyme für die Prozessierung von Neuropeptiden, die in fast allen Bilateria (bilateralsymmetrischen Tieren) vorhanden sind. Viele der Anpassungen haben vermutlich mit der extrem schnellen Entwicklung und kurzen Generationszeit der Fliege zu tun: Die Fliege ist für Insekten also in etwa so typisch wie ein Formel-1-Wagen für Autos (Abbildung 2). In mancherlei Hinsicht gelten daher andere Arten als typischer für Insektenbiologie – zum Beispiel Käfer.

Der zweite Nachteil ist, dass viele interessante biologische Phänomene in der Taufliege nicht repräsentiert sind, so dass sie dort auch nicht genetisch untersucht werden können. Dies betrifft zum Beispiel die Synthese von Abwehrgiften, soziales Verhalten, Migration über weite Strecken und so weiter. Solange genetische Forschung praktisch auf *D. melanogaster* begrenzt war, konnten diese Prozesse auf der Ebene von Genfunktionen nicht untersucht werden. Ein dritter Nachteil ist, dass man in jeder Spezies evolutive Veränderungen der Genfunktion sowie Duplikationen, Verluste oder Neuentstehung von Genen erwarten kann. Daher ist es sehr wahrscheinlich, dass wichtige Genfunktionen nicht entdeckt werden, wenn man nur eine Art untersucht. Tatsächlich ergab ein groß angelegter Vergleich zwischen Genfunktionen bei *D. melanogaster* und dem Mehlkäfer *Tribolium castaneum*, dass nur etwa die Hälfte der Gene in beiden Spezies eine wichtige Funktion hatte – etwa 40 Prozent hatten diese ausschließlich beim Mehlkäfer [1]. Solange es keine anderen Modellsysteme gab, bei denen man Genfunktion gut

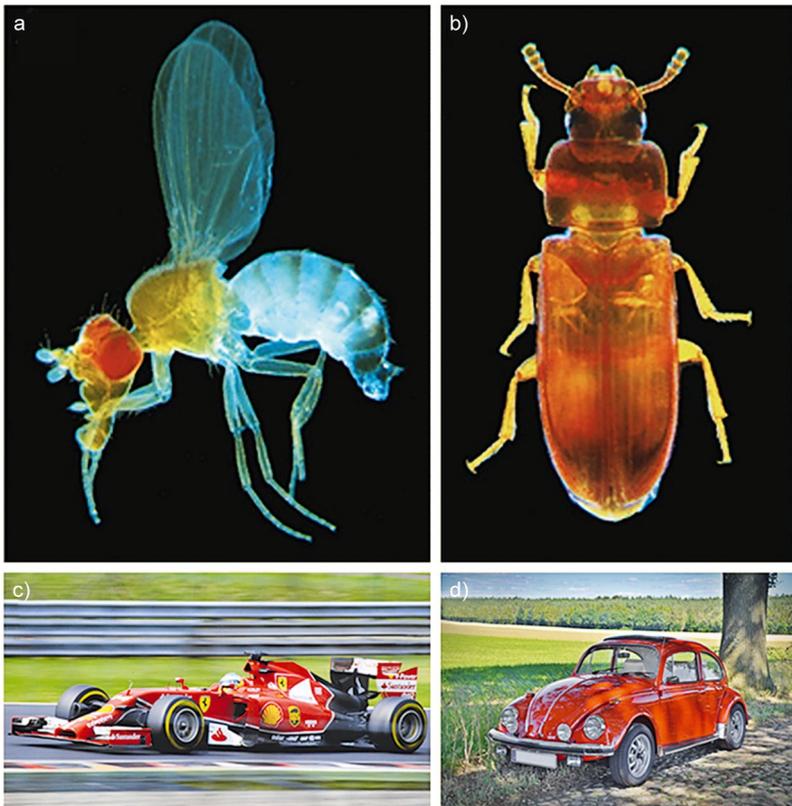


ABB. 2 a) Die Taufliege *Drosophila melanogaster* war lange Zeit das wichtigste Modellsystem der Insektengenetiker. Ein Grund dafür ist, dass sie an eine extrem rasche Fortpflanzung angepasst ist. Allerdings führt dies auch dazu, dass die Taufliege in mehreren Aspekten eine eher untypische Biologie zeigt. b) Inzwischen kann die Funktion von Genen auch in anderen Arten untersucht werden wie zum Beispiel dem Mehlkäfer *Tribolium castaneum*, der in vielen Dingen eine insektypischere Biologie zeigt. In diesem neuen Modellsystem sind Transgenese sowie Genomeditierung etabliert, und es wurde ein genomweiter RNAi-Screen durchgeführt. Dieses und andere neue Modellsysteme erweitern die Möglichkeit, wissenschaftlichen Fragestellungen nachzugehen. Die Taufliege *Drosophila melanogaster* ist als stark abgeleitetes Insekt für Autos in etwa so typisch wie ein Formel-1-Wagen (c). Käfer wie der Mehlkäfer *Tribolium castaneum* repräsentieren die Gruppe der Insekten besser, so wie ein VW-Käfer (d) für die Gruppe der Autos typischer ist als ein Formel-1-Wagen (c). Fotos: a) Ádám Urvölgyi, b) bernswaelz, beide auf www.pixabay.com.

ABB. 3 | iBEETLE-DATENBANK

The screenshot displays the iBeetle-Base website interface. At the top, it reads "iBeetle-Base A database of Tribolium RNAi phenotypes". Below the navigation bar, the "Gene information" section is expanded, showing details for gene TC007492. The "General information" section lists the Tc number (TC007492) and the gene name (giant). The "Sequence information" section provides links to "Get mRNA sequence", "Get CDS sequence", and "Get protein sequence". The "Ortholog information (from OrthoDB)" section shows the closest fly homolog as "gt - giant (CG7952)" and a link to "View orthologs at OrthoDB for: TC007492". Below this, the "Gene ontology" section is expanded to show the "iBeetle screen iB_08105". The "Phenotype after pupal injection" section lists several phenotypes: "thorax segment number increased - Penetrance (percentage of animals/eggs on slide): more than 80%", "abdomen segment number number decreased - Penetrance (percentage of animals/eggs on slide): more than 80%", "posterior terminus not present - Penetrance (percentage of animals/eggs on slide): 30% - 50%", and "affected eggs/embryos/larvae - Penetrance (percentage of animals/eggs on slide): more than 80%". An image of a Tribolium pupa is shown with asterisks marking the phenotypic changes.

Der erste genomweite RNAi-Screen in einem neuen Modellsystem wurde im Reismehlkäfer *Tribolium castaneum* durchgeführt. Nacheinander wurden die Funktion jedes Gens durch RNAi ausgeschaltet und die Veränderungen während der Entwicklung dokumentiert. In diesem Beispiel aus der iBeetle-Datenbank wurde das Gen *giant* ausgeschaltet, was unter anderem zur Ausbildung von sechs statt drei Beinpaaren führt (siehe Sternchen).

untersuchen konnte, musste die Wissenschaft mangels Alternativen mit diesen Nachteilen leben.

Neue Methoden ermöglichen Untersuchungen der Genfunktion in vielen Modellsystemen

Diese Einschränkung hat sich in den letzten Jahren glücklicherweise stark relativiert. Durch neue Techniken können nun auch viele andere Insektenarten als Modellsysteme für die Untersuchung von Genfunktion dienen. Erstens erlauben es die neuen Sequenzieretechniken, Genome mit vergleichsweise geringem Aufwand zu analysieren und damit das Genrepertoire zu bestimmen [2]. Zu-

dem kann man mit ihrer Hilfe untersuchen, welche Gene in welchen Geweben oder Zellen aktiv sind. Zweitens ermöglicht eine revers-genetische Methode, die so genannte ▶ RNA-Interferenz (RNAi), die Genfunktion auszuschalten, ohne dass komplexe genetische Werkzeuge oder die aufwendige Generierung von genetischen Mutanten nötig wären [3]. In Göttingen und Erlangen wurde sogar ein genomweiter RNAi-Screen durchgeführt, bei dem die Gene des Mehlkäfers eines nach dem anderen ausgeschaltet wurden. Darauf basierend wurde eine Datenbank mit Informationen zu den meisten Genen aufgebaut (*iBeetle*-Projekt, Abbildung 3) [4, 5]. Damit ist der Mehlkäfer sicher

eines der am weitesten entwickelten neuen genetischen Modellsysteme. Drittens wurden Genfäden entwickelt, die in fast allen Arten funktionieren, so dass auch transgene Ansätze inzwischen weiter verbreitet sind [6]. Viertens erlauben die kürzlich entdeckten Methoden zur Genomeditierung revolutionäre neue Ansätze in vielen Arten [7, 8]. Mit dieser Methode ist es nun möglich, in vielen Tieren Mutationen gezielt einzuführen, bestimmte Zelltypen fluoreszent zu markieren, genomische Inversionen herzustellen und vieles mehr.

Da all diese Methoden unabhängig von der Spezies (auch außerhalb der Insekten) funktionieren, steht theoretisch der funktionell-genetischen Untersuchung anderer Modellsysteme nichts im Wege. Leider bleiben bedeutende praktische Hürden bestehen, die dies verhindern: Kann die Spezies im Labor gehalten werden? Kann man frisch gelegte Eier oder frühe Embryonen im Ein- bis Zwei-Zellstadium effektiv sammeln? Dass es für viele Methoden nötig ist, Substanzen in die Zelle injizieren zu können, ist eine der größten Hürden: Ist es möglich, Substanzen in die Zellen früher Embryonen zu injizieren und überleben die Embryonen dies? Trotz vieler praktischer Hürden gibt es eine wachsende Wissenschaftlergemeinschaft, die in allen möglichen Modellsystemen unterschiedliche biologische Phänomene untersucht. Der Rat an junge Wissenschaftler hat sich also geändert. Er lautet nun: „Wenn Du einen biologischen Prozess bei Insekten genetisch untersuchen willst, dann wähle *D. melanogaster* als Modellsystem. Wenn du das dort nicht untersuchen kannst, dann suche und etabliere Dir ein passendes neues Modellsystem.“

Neue Fragen für die Wissenschaft

Diese methodische Weiterentwicklung erweitert die Vielfalt an wissenschaftlichen Fragen, die man auf Ebene der Genfunktion klären kann. Und so sind viele dieser Untersuchungen evolutionär motiviert: Man kennt die Funktion von Genen in der Taufliege – aber was hat sich an der Funktion dieser Gene in anderen Tieren verändert, dass sich zum Beispiel Gehirne oder andere Organe unterschiedlich entwickeln? Wie stark unterscheiden sich homologe Zellen auf genetischer und morphologischer Ebene? Eine besonders relevante Forschungsrichtung bezieht sich auf arttypische Prozesse, deren genetische Basis vorher nicht untersucht werden konnte – wie zum Beispiel die erstaunliche Trockenheitsresistenz und die harte Kutikula von Mehlkäfern, das soziale Verhalten von Hymenopteren, die Navigation von Monarchfaltern oder Mistkäfern, die Entwicklung und Funktion der extraembryonalen Membranen, die Physiologie von Abwehrdrüsen oder die insektypische Metamorphose und vieles mehr. Schließlich werden nun auch Gene untersucht, die bei den meisten Insekten und oft sogar bei Vertebraten konserviert sind, die *D. melanogaster* aber verloren hat. So wurde auf diese Art zum Beispiel ein Rezeptor für Erythropoietin-ähnliche Signalmoleküle gefunden [9], und die Funktion

von hochkonservierten Enzymen der Prozessierung von Neuropeptiden wird derzeit untersucht [10].

Neue Methoden zur artspezifischen Schädlingsbekämpfung

Die neuen Methoden eröffnen auch neue Möglichkeiten der artspezifischen Schädlingsbekämpfung. Ein Beispiel ist die Sterile-Insekten-Technik (SIT). Hier werden sterilisierte Männchen in großen Mengen freigelassen, so dass viele Weibchen des Schädlings zwar begattet werden, aber keine Nachkommen haben [11]. Da die Männchen nur Weibchen der eigenen Art begatten, ist diese Methode artspezifisch. Bei der Mittelmeerfruchtfliege (*Ceratitis capitata*, Abbildung 4) funktioniert dieses System seit Jahren sehr gut, jedoch hat es auch Nachteile: Die mit Radioaktivität sterilisierten Männchen können sich im Feld gegenüber den Wildtypmännchen nicht gut durchsetzen, und die Hälfte der gezüchteten Tiere (die Weibchen) müssen vor der Ausbringung aussortiert werden. ▶ Transgene Methoden können dazu genutzt werden, diese Aspekte effizienter zu gestalten [12]. Zudem zeigte sich, dass die Übertragung der Methode auf andere Insekten extrem schwierig blieb, solange man auf klassische Methoden wie Zufallsmutationen angewiesen war. Mittels Genomeditierung und transgenen Methoden kann SIT nun auch auf andere Insektenarten übertragen werden. Natürlich braucht es für die Anwendung dieser Methode die gesellschaftliche Akzeptanz für die Freisetzung von transgenen Tieren. Eine interessante Alternative ist es, die entsprechenden Genveränderungen, die bei *Ceratitis capitata* durch klassische Züchtung entstanden sind, durch Genomeditierung gezielt in anderen Tieren nachzubauen. Bei dieser Vorgehensweise tragen die freigesetzten Tiere kein Transgen, und die Änderungen hätten auch natürlich passieren können.



ABB. 4 Die Mittelmeerfruchtfliege (*Ceratitis capitata*) gehört zu den Bohrflieden und ist ein gefürchteter Schädling im Obst- und Gemüseanbau. Ihre Population wird unter anderem durch die Sterile-Insekten-Technik kontrolliert. Foto: Scott Bauer (US Department for Agriculture).

GLOSSAR

Gene Drive: Bei der normalen Vererbung eines diploiden Organismus nach Mendel hat jeder DNA-Abschnitt eine 50%ige Wahrscheinlichkeit, in die nächste Generation zu gelangen. Bei Gene-Drive-Systemen ist diese Wahrscheinlichkeit für ein genetisches Element erhöht und kann 100% erreichen, d. h. alle Nachkommen erben dieses Element. Dadurch setzt es sich im Laufe der Generationen durch und wird schließlich in allen Tieren einer Population homozygot zu finden sein. Neben den schon länger bekannten natürlichen Gene-Drive-Systemen werden auch künstliche Systeme für die Schädlingsbekämpfung oder Vektorkontrolle entwickelt. So könnte z. B. die Anopheles-Mücke mit Hilfe von Gene Drive so verändert werden, dass sie kein Malaria mehr übertragen kann.

Genetische Modellsysteme: Genetische Methoden sind sehr aufwändig in der Entwicklung und profitieren von kurzen Generationszeiten der Versuchstiere. Um den Aufwand der Methodenentwicklung klein zu halten, arbeiten viele Forscher daher mit den gleichen Arten und nutzen sie als genetische Modellsysteme.

Genomeditierung: Manche Bakterien besitzen einen Abwehrmechanismus gegen Viren, bei dem die virale DNA an einer bestimmten Stelle geschnitten und dadurch zerstört wird. Dieses so genannte CRISPR/Cas9-System kann experimentell auch in Tierzellen eingebracht werden, wo es die DNA im Zellkern schneiden kann. Dabei erfolgt der Schnitt an einer Stelle, die man selbst bestimmen kann, indem man eine sogenannte Leit-RNA mit der entsprechenden Sequenz erstellt. Die Leit-RNA führt dann die Nuklease spezifisch zum Zielort.

Homeotische Mutation: Sogenannte homeotische Selektorgene sind Gene, die in verschiedenen Abschnitten entlang der Längsachse eines Tiers aktiv sind und den entsprechenden Geweben eine Identität geben. Zum Beispiel gibt es homeotische Selektorgene, die für die Identität des zweiten Thoraxsegments zuständig sind, während andere das dritte Thoraxsegment spezifizieren. Für diese Aufgabe aktivieren diese Gene

hunderte von unterschiedlichen Zielgenen. Wenn nun eines dieser homeotischen Selektorgene mutiert ist, dann nehmen die entsprechenden Zellen eine andere Identität an. Wenn zum Beispiel in der Fruchtfliege das abdominale Selektorgen Ultrathorax mutiert ist, dann nimmt das dritte thorakale Segment die Identität des zweiten Segments an. Statt der Halteren im dritten Thoraxsegment hat die Diptere dann vier voll ausgebildete Flügel (Abbildung 1).

RNA-Interferenz (RNAi): RNAi ist ein sehr alter zellulärer Abwehrprozess gegen Viren und andere mobile genetische Elemente wie Transposons. Wenn die Zelle virale doppelsträngige RNA (dsRNA) erkennt, wird diese klein geschnitten und dazu verwendet, virale RNAs zu finden und zu zerstören. Wenn man experimentell dsRNA mit der Sequenz eines Insektengens in die entsprechenden Insekten einbringt, wird in deren Zellen die mRNA dieses Gens zerstört. Die Funktion eines Gens kann so ausgeschaltet werden, ohne dass es nötig ist, eine Mutation einzuführen.

Transgene Methoden: Methoden, die es erlauben, fremde DNA in das Erbgut einzuschleusen. Oft werden dazu Viren oder Transposons verwendet. Seit kurzem kommt auch die Genomeditierung zum Einsatz.

Untersuchung der Genfunktion: Wenn man ein Gen ausschaltet (z. B. durch Mutation), dann läuft der betroffene biologische Prozess nicht richtig ab. An dem, was dem Tier dann äußerlich oder physiologisch fehlt, kann man erkennen, welche Funktion das Gen hatte.

Wnt-Signalweg: Bei diesem Signalweg setzen manche Zellen Signalmoleküle frei, die so genannten Wnt-Proteine. Nach der aktiven Sekretion diffundieren diese außerhalb der Zelle und binden an Rezeptoren auf der Oberfläche anderer Zellen. Durch diese Bindung setzen sie in der Zielzelle eine Signalkaskade in Gang, die letztlich zu veränderter Genexpression in der Zielzelle führt. Der Wnt-Signalweg ist an vielen entwicklungsbiologischen Prozessen beteiligt.

In einem anderen Ansatz wird das natürliche Phänomen des Gene Drive kopiert, um Schädlinge zu bekämpfen [13]. Eine solche genetische Veränderung setzt sich in einer Population durch und kann zum Beispiel dazu genutzt werden, Schädlinge auszurotten oder genetisch so zu verändern, dass sie keinen Schaden mehr anrichten. Zum Beispiel wird diskutiert, die *Anopheles*-Mücke so zu verändern, dass sie den Malariaerreger nicht mehr übertragen kann [14]. Da bei Gene Drive die genetischen Veränderungen dauerhaft in die Populationen eingehen, müssen vor der Anwendung zusätzliche Fragen zur biologischen Sicherheit beantwortet werden. Potenziell könnte diese Methode aber helfen, verheerende Krankheiten auszurotten.

Eine alternative Möglichkeit der artspezifischen Schädlingsbekämpfung ist die RNAi-Methode. Mit RNAi kann man die Funktion von Genen ausschalten, indem man doppelsträngige RNA (dsRNA) in den Organismus einbringt. In der Schädlingsbekämpfung sprüht man dsRNA mit der Sequenz eines fürs Überleben wichtigen Gens eines Schädlings auf die Felder. Sobald der Schädling die Blätter mit

der dsRNA frisst, schaltet diese das überlebenswichtige Gen ab und der Schädling stirbt [15]. Da dsRNA ein rein biologisches Molekül ist, und die Sequenz so gewählt werden kann, dass nur ein Gen eines Schädlings getroffen wird, ist dies eine biologisch sichere und artspezifische Methode der Schädlingsbekämpfung. Allerdings ist die rasche natürliche Zersetzung der Substanz gleichzeitig ein Nachteil, weil dadurch öfter gesprüht werden muss. Eine Alternative sind transgene Pflanzen, die dsRNA selbst produzieren. Noch ist die Herstellung der dsRNA relativ teuer, und der tödliche Effekt tritt langsamer ein als bei klassischen Insektiziden. Umso wichtiger ist es, für den jeweiligen Schädling die besten Zielgene zu identifizieren, wozu wiederum die neuen Methoden zur Untersuchung der Genfunktion zum Einsatz kommen müssen [16, 17].

Auch wenn noch unklar ist, ob und welche Methoden im großen Stil eingesetzt werden – vor zwei Jahrzehnten gab es diese Optionen noch gar nicht und zunehmende Resistenzen gegen chemische Insektizide erhöhen den Druck, neue Wirkmechanismen zu entwickeln.

WIE SICH DER RAT AN INSEKTENGENETIKER GEÄNDERT HAT



Früher: „Für genetische Fragen wähle *D. melanogaster* als Modellsystem – was man dort nicht untersuchen kann, wird nicht genetisch untersucht.“



Jetzt: „Wähle *D. melanogaster*, wenn das möglich ist. Wenn nicht, dann etabliere ein passendes neues Modellsystem.“

Ausblick

Die neuen Methoden zur Untersuchung von Genfunktionen erweitern das Spektrum von Modellsystemen, die untersucht und damit auch die Fragen, die gestellt werden können. Allerdings sind die praktischen Hürden weiterhin hoch, so dass die Etablierung eines neuen Modellsystems ein aufwendiges Unterfangen ist, das nicht leichtfertig angegangen werden sollte. Zudem bleibt die Zahl an Wissenschaftlern, die an einem bestimmten neuen Modellsystem arbeiten, klein im Vergleich zu der riesigen Gemeinschaft von *D. melanogaster*-Forschern. Daher gibt es weniger Arbeitsteilung und Synergie und die Wissenschaftler müssen daher methodisch besonders interdisziplinär ausgebildet werden. Wegen der langen Geschichte, dem riesigen Wissensschatz und den großen Ressourcen, die sich über die Zeit angesammelt haben, wird die Taufliege das Hauptmodellsystem der Genfunktionsforschung bleiben. Komplementär dazu machen aber die zusätzlichen Modellsysteme weitere interessante biologische Phänomene untersuchbar, und die Methoden, die dazu entwickelt werden, inspirieren moderne Methoden der Schädlingsbekämpfung.

Zusammenfassung

*Historisch gesehen wurden viele verschiedene Tiere als genetische Modellsysteme verwendet. Später jedoch konzentrierten sich die Bemühungen auf einige wenige Tierarten, wie z. B. die Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* innerhalb der Insekten. Ein Grund dafür sind praktische Erwägungen wie das Vorhandensein von kurzen Generationszeiten, ganzjähriger Nachkommenschaft und einfacher Haltung. Außerdem führt die gemeinsame Nutzung von Wissen, Techniken und Ressourcen, die in einer Spezies gewonnen wurden, zu starken Synergien. Dies gilt insbesondere für Techniken zur Untersuchung von Genfunktionen, die meist schwer zu etablieren sind. Neue Technologien ermöglichen es nun, die Genfunktion auch bei anderen Arten zu untersuchen, was neue Möglichkeiten in der Wissenschaft und der ökologischen Schädlingsbekämpfung eröffnet. Evolutionäre Fragen zur Genfunktion können gestellt werden, biologische Prozesse, die in der Fruchtfliege nicht*

*vertreten sind, können erforscht werden, und Gene, die in den meisten Tieren vorkommen, die *D. melanogaster* aber verloren hat, können untersucht werden. Auf diesem Weg eröffnen die neuen Techniken auch den Weg für neue Methoden der artspezifischen Schädlingsbekämpfung wie die Sterile-Insekten-Technik, Gene Drive und RNAi.*

Summary

A new era in the study of gene functions

*Historically, many different animals were used as genetic model systems, but later, efforts focused on very few animal taxa, such as the fruit fly *Drosophila melanogaster* among insects. This is due to practical considerations such as the existence of a short generation time, the availability of offspring all year round, and the easy, uncomplicated keeping. Furthermore, the joint sharing of knowledge, techniques, and resources gained in one species lead to strong synergies. This is especially true of techniques for gene function studies, which are usually difficult to establish. Now, new technologies allow studying gene function in other species, too, opening up new opportunities in science and ecological pest control. Evolutionary questions on gene function can be asked, biological processes not found in the fruit fly can be studied, and genes present in most animals, but lost in *D. melanogaster* can be examined. Thus, the new techniques open the way to new methods of species-specific pest control like the sterile insect technique, gene drive and RNAi.*

Schlagworte:

Genetische Modellsysteme, Genomeditierung, RNA-Interferenz, Schädlingsbekämpfung.

Literatur

- [1] M. S. Hakeemi et al. (2021). Large portion of essential genes is missed by screening either fly or beetle indicating unexpected diversity of insect gene function, <https://doi.org/10.1101/2021.02.03.429118>
- [2] E. L. van Dijk et al. (2018). The Third Revolution in Sequencing Technology. *Trends Genet TIG* 34, 666–681.
- [3] A. Fire et al. (1998). Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 391, 806–811.
- [4] C. Schmitt-Engel et al. (2015). The iBeetle large-scale RNAi screen reveals gene functions for insect development and physiology. *Nat Commun* 6, <https://doi.org/10.1038/ncomms8822>
- [5] J. Dönitz et al. (2015). Beetle-Base: a database for RNAi phenotypes in the red flour beetle *Tribolium castaneum*. *Nucleic Acids Res* 43, D720–725.
- [6] A. J. Berghammer et al. (1999). A universal marker for transgenic insects. *Nature* 402, 370–371.
- [7] A. F. Gilles et al. (2014). Functional genetics for all: engineered nucleases, CRISPR and the gene editing revolution. *EvoDevo* 5, 43.
- [8] M. Jinek et al. (2012). Programmable Dual-RNA-Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity. *Science* 337, 816–821.
- [9] N. Hahn et al. (2017). The Insect Ortholog of the Human Orphan Cytokine Receptor CRLF3 Is a Neuroprotective Erythropoietin Receptor. *Front Mol Neurosci* 10, <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00223>

- [10] S. Fritzsche, V. S. Hunnekuhl (2021). Cell-specific expression and individual function of prohormone convertase PC1/3 in *Tribolium* larval growth highlights major evolutionary changes between beetle and fly neuroendocrine systems. *Evodevo*. 12, 9.
- [11] E. F. Knipling (1955). Possibilities of Insect Control or Eradication Through the Use of Sexually Sterile Males. *J Econ Entomol* 48, 459–462.
- [12] M. F. Schetelig et al. (2009). Conditional embryonic lethality to improve the sterile insect technique in *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *BMC Biol* 7, 4.
- [13] B. A. Hay et al. (2021) Engineering the Composition and Fate of Wild Populations with Gene Drive. *Annu Rev Entomol* 66, 407–434.
- [14] S. James et al. (2018) Pathway to Deployment of Gene Drive Mosquitoes as a Potential Biocontrol Tool for Elimination of Malaria in Sub-Saharan Africa: Recommendations of a Scientific Working Group. *Am J Trop Med Hyg* 98, 6_Suppl, 1–49.
- [15] J. A. Baum et al. (2007) Control of coleopteran insect pests through RNA interference. *Nat Biotechnol* 25, 1322–1326.
- [16] S. Mehlhorn et al. (2021) The mustard leaf beetle, *Phaedon cochleariae*, as a screening model for exogenous RNAi-based control of coleopteran pests. *Pestic Biochem Physiol*, 104870.
- [17] J. Ulrich et al. (2015). Large scale RNAi screen in *Tribolium* reveals novel target genes for pest control and the proteasome as prime target. *BMC Genomics*, 16, <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1880-y>

Verfasst von:



Gregor Bucher studierte Zoologie und Entwicklungs-genetik an der Ludwig-Maximilians-Universität München (1997). In seiner Promotion (LMU, München) untersuchte er die Funktion von Musterbildungsgenen im Reismehlkäfer *Tribolium castaneum* und entdeckte die parentale RNAi (1998–2002). Nach zwei Jahren Kinderbetreuung und Tätigkeit als wissenschaftlicher Autor setzte er seine Karriere in Göttingen fort (2004), wo er seine unabhängige Gruppe aufbaute. 2013 wurde er mit einer DFG-Heisenberg-Professur ausgezeichnet und ist seit 2017 Professor an der Georg-August-Universität Göttingen. Er beschäftigt sich mit den genetischen Grundlagen der Entwicklung und Evolution von Kopf und Gehirn von Insekten. Außerdem hat seine Gruppe eine Reihe von transgenen Werkzeugen für *Tribolium* entwickelt. Er initiierte und leitete den ersten genomweiten RNAi-Screen bei einem Insekt außerhalb von *Drosophila* (DFG-Forschergruppe FOR1234 „iBeetle“) mit dem Ziel, den bis dahin dominierenden Kandidatengen-Ansatz zu überwinden. Er ist Gutachter für Fachzeitschriften in den Bereichen Genetik, Evolution, Entwicklungsbiologie und Entomologie sowie für eine Reihe von nationalen und internationalen Förderorganisationen. Derzeit ist er Vorstandsmitglied der Deutschen Zoologischen Gesellschaft und Fachkollegiat der DFG im Bereich Zoologie.

Korrespondenz:

Prof. Dr. Gregor Bucher
Georg-August-Universität Göttingen
Johann-Friedrich-Blumenbach Institut für Zoologie
und Anthropologie
Justus-von-Liebig-Weg 11
37077 Göttingen
Email: Gbucher1@uni-goettingen.de

BIOÖKONOMIE FÜR MINT-INTERESSIERTE JUGENDLICHE



#MINTmagie, die Kommunikationsoffensive des BMBF richtet sich an 10- bis 16-jährige und will Lust machen auf MINT-Inhalte. Unter dem Hashtag #MINTmagie ist die Kommunikationsoffensive in den sozialen Medien präsent, etwa auf YouTube. Der Animations-Clip „Klimaschutz zum Anziehen“ zeigt, an welchen innovativen Lösungen Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler weltweit arbeiten, um biologische Ressourcen wie Pflanzen oder Mikroorganismen für die Herstellung von Produkten zu nutzen. Dazu gehören nicht nur Textilien aus Spinnenseide, biologisch abbaubare Sneaker, ein T-Shirt aus Holz und eine Handtasche aus veganem Apfelleder, sondern auch Möbel aus Popcorn, Eis aus Lupinen oder Burgerpattys aus Insekten. Ein Einstieg in die Bioökonomie in unter zwei Minuten – reinschauen lohnt sich!

Das Video findet sich hier: www.youtube.com/watch?v=Bs2dRG7QiwM



Verband | Biologie, Biowissenschaften
& Biomedizin in Deutschland

**GEMEINSAM
FÜR DIE**

BIEWISSENSCHAFTEN

Gute Gründe, dem VBIO beizutreten:

- Werden Sie Teil des größten Netzwerks von Biowissenschaftlern in Deutschland
- Unterstützen Sie uns, die Interessen der Biowissenschaften zu vertreten
- Nutzen Sie Vorteile im Beruf
- Bleiben Sie auf dem Laufenden – mit dem VBIO-Newsletter und dem Verbandsjournal „Biologie in unserer Zeit“
- Treten Sie ein für die Zukunft der Biologie



www.vbio.de

Jetzt beitreten!

