

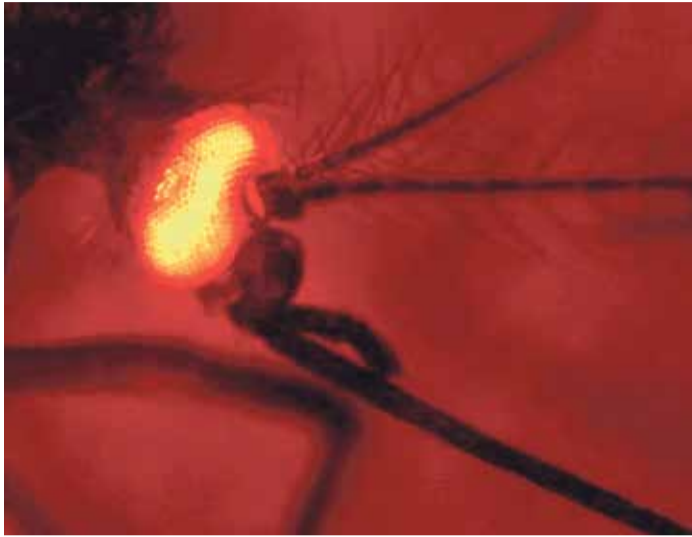
Umweltfreundlich gegen Mücken

Verbesserte Risikoabschätzung neuer genetischer Technologien für die Mosquito-Bekämpfung – Eine neue Methode erlaubt ortsspezifische genetische Modifikationen



Fotos: Irina Häcker

Die Afrikanische Tigermücke *Aedes aegypti* – einer der Hauptüberträger des Dengue-Fiebers.



Die erfolgreiche genetische Modifizierung der Afrikanischen Tigermücke wird mithilfe eines fluoreszierenden Proteins sichtbar gemacht.

cl. Moskitos übertragen verschiedene für den Menschen gefährliche Infektionskrankheiten wie Malaria, Dengue und Gelbfieber. Dazu gehört auch die Afrikanische Tigermücke *Aedes aegypti*, einer der Hauptüberträger von Dengue, die 2015 durch die Zika-Epidemie in Südamerika in den Fokus der Aufmerksamkeit gerückt war. Mit der umweltfreundlichen Bekämpfung dieser Mücke beschäftigt sich die Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Marc F. Schetelig am Institut für Insektenbiotechnologie der JLU.

Um Malaria, Dengue und Gelbfieber einzudämmen, sind alternative Strategien zur Kontrolle der Überträger dringend notwendig. Aktuell werden gegen Moskitos hauptsächlich Insektizide eingesetzt. Diese können nicht nur Nebenwirkungen

auf Mensch und Umwelt haben, sondern sind in zunehmendem Maße auch wirkungslos, da die Insekten Resistenzen gegen die Wirkstoffe entwickeln.

Eine alternative Strategie, die vielfältige Ansätze zur nachhaltigen Bekämpfung erlaubt, ist die genetische Modifikation von Moskitos. Mit Hilfe bestimmter Enzyme (Rekombinasen) lassen sich diese Modifikationen ortsspezifisch vornehmen. Dem Gießener Team ist nun die erfolgreiche ortsspezifische Modifikation des Tigermücken-Genoms mit Hilfe der sogenannten Cre-Rekombinase gelungen. Die bisher gängigsten Methoden zur Erzeugung transgener Insekten beruhen auf einer zufälligen Integration ins Genom, was oft mit Nachteilen für die Fitness der transgenen Insekten und für

die Funktion des Transgens einhergeht.

Nun steht eine weitere Methode zur spezifischen Veränderung des Genoms der Tigermücke zur Verfügung. Sie hat gegenüber den bisherigen Methoden – der phiC31-Rekombinase und der CRISPR-Methode, mit der sich DNA gezielt schneiden und verändern lässt – den Vorteil, dass die Modifikation nicht nur reversibel ist, sondern auch beliebig erweitert und neuen Anforderungen angepasst werden kann. Die neue Methode erlaubt zudem, verschiedene transgene Strategien am selben Integrationsort im Genom miteinander zu vergleichen. Nur so ist ein direkter Vergleich ohne unterschiedliche genomische Einflüsse möglich. Damit lässt sich neben der Funktion und Wirk-

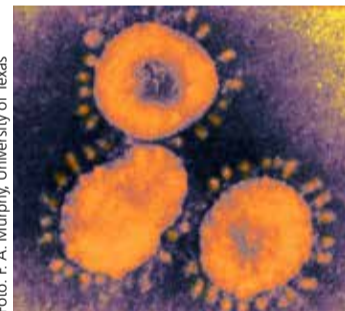
samkeit der genetischen Modifikationen auch deren Stabilität im Genom beurteilen. „Diese drei Eigenschaften sind wesentliche Kriterien für die Risikoabschätzung der transgenen Systeme, einem zentralen Aspekt bei einer eventuellen Freisetzung der Insekten zur umweltfreundlichen Schädlingsbekämpfung“, so Dr. Irina Häcker, Leiterin des Projekts.

Das Projekt wurde im Rahmen des Emmy Noether-Programms (SCHE 1833 / 1-1) der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) durchgeführt und ergänzt die Bestrebungen der Gruppe von Prof. Schetelig, umweltfreundliche und sichere Strategien für die Bekämpfung von Schad- und Vektorinsekten zu entwickeln.

Wie Coronaviren Zellen umprogrammieren

Interdisziplinäres Team der Universität Gießen identifiziert epigenetische Kontrollmechanismen der Genantwort der Wirtszelle bei Infektionen mit dem Coronavirus 229E

cl. Coronaviren sind weltweit verbreitete wichtige Verursacher von humanen und tierischen Erkrankungen, insbesondere der Atmungsorgane. Durch ihr großes Genom, das größte bekannte Genom aller RNA-Viren, können sie sich besonders vielfältig und schnell an neue Situationen anpassen. Wie bewerkstelligen die Coronaviren es, den zellulären Stoffwechsel so umzuprogrammieren, dass neue infektiöse Viruspartikel produziert werden? Und was sind die molekularen Ursachen der unterschiedlichen Krankheitsverläufe durch verschiedene Coronavirus-Infektionen? Ein interdisziplinäres Forscherteam der JLU hat nun die Genantwort der Wirtszelle und ihre epigenetischen Kontrollmechanismen entschlüsselt.



Das Coronavirus 229E: Charakteristisch sind die Spike-Proteine, die Coronaviren auf ihrer Hülle bilden.

vermehrt. In den erkrankten Organen finden sich vermehrt Botenstoffe des angeborenen Immunsystems, insbesondere sogenannte Zytokine, und entzündliche Veränderungen.

Epigenetische Fingerabdrücke

Bioinformatische Analysen zeigten, dass das virusregulierte Genspektrum vermutlich deutlich komplexere biologische Funktionen steuert, als das einer nur entzündlich aktivierten Zelle. Um besser zu verstehen, wie ein im Zytoplasma replizierendes Virus so umfassend die Genomfunktionen einer Wirtszelle beeinflussen kann, kartierten die Forscherinnen und Forscher fünf epigenetische „Fingerabdrücke“ der DNA-Hüllproteine (den Histonen). „Wir haben über tausend durch Coronaviren aktivierte DNA-Elemente, sogenannte Enhancer, gefunden, die ein eigenes Muster bilden und offenbar dafür sorgen, dass nur ganz bestimmte Gene des Zellstoffwechsels so aktiviert werden, dass sie dem Virus nützen. Gleichzeitig werden andere DNA-Bereiche im Zellkern abgeschaltet oder ihre Aktivität gedämpft – offenbar um Genpro-

dukte, die die Zellen schützen oder andere Immunzellen anlocken könnten, zu blockieren“, erklärt Marek Bartkuhn, Genetiker und Bioinformatiker an der JLU. Coronaviren führen also zu einer genomweiten Reprogrammierung von Funktionen im Zellkern.

In einem weiteren Ansatz unterbrachen die Forscherinnen und Forscher die Signalwege, die zur Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- κ B, einem zentralen genetischen Schalter von Immunvorgängen, führen, und untersuchten die Konsequenzen sowohl für die Virusreplikation als auch für die Wirtszellfunktionen. So konnten sie zeigen, dass Coronaviren die Aktivität dieses wichtigen Faktors deutlich hemmen – wodurch eine mögliche Abwehrreaktion der Wirtszelle abgeschwächt wird –, aber nicht komplett aufheben. Dadurch bleiben bestimmte Zellfunktionen noch erhalten, die das Virus offenbar braucht.

Vorteil für die Mikroben

„Diese Daten sind ein sehr interessantes Beispiel dafür, wie clever Mikroben die Balance von intrazellulären Signalwegen beeinflussen, um sich einen Vorteil zu verschaffen“, sagt Prof. Dr. Lienhard Schmitz vom Biochemischen Institut der JLU, der schon seit Jahren zusammen mit dem Leiter der Studie, dem Pharmakologen Prof. Dr. Michael Kracht vom Rudolf-Buchheim-Institut für Pharmakologie der JLU, das NF- κ B-System molekular untersucht. „Wir haben im Rahmen dieser Untersuchungen einerseits besser verstanden, wie ein Coronavirus mechanistisch funktioniert“, so Prof. Kracht.

„Zum anderen haben wir mit Hilfe von pharmakologischen Substanzen und neuen genetischen Methoden wie der RNA-Interferenz und der Genschere Crisp/Cas9 auch Wege gefunden, die Coronavirus-spezifischen Gene gezielt zu hemmen.“

Diese Ansätze sollen nun im Rahmen der neuen klinischen Forschergruppe (KFO 309 „Virus-induziertes Lungenversagen – Pathobiologie und neue Therapiestrategien“), die sich mit Virusinfektionen der Lunge beschäftigt, in krankheitsnäheren Situationen weiterentwickelt werden. Die Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler hoffen, dass man in Zukunft das Ausmaß der Zellschädigung bei einer Coronavirus-Infektion anhand der Gensignatur voraussagen und dann mit Medikamenten, die im Zellkern angreifen, die weitere Aktivierung dieser Gene verhindern kann.

Intensive Zusammenarbeit

Prof. Kracht hebt die intensive Zusammenarbeit der beteiligten Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler hervor: „Nur die von der Deutschen Forschungsgemeinschaft geförderten Forschungsverbände TRR81 ‚Chromatin changes in differentiation and malignancies‘ und SFBro21 ‚RNA viruses: RNA metabolism, host response and pathogenesis‘ bündeln die für ein derartig aufwändiges Projekt notwendige biomedizinische Expertise, stellen die Plattformen an wissenschaftlichen Methoden bereit und ermöglichen uns so eine internationale Sichtbarkeit in diesem Forschungsgebiet.“

DOI: 10.1371/journal.ppat.1006286

Spezial-Hardware beschleunigt Erbgutanalysen

Bioinformatische Software-Lösungen zur Genomuntersuchung von medizinisch und biotechnologisch relevanten Mikroorganismen und Insekten

cl. Dank einer neuen Spezial-Hardware können umfangreiche Genomsequenzanalysen an der Professur für Systembiologie der JLU massiv beschleunigt werden: Die Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Alexander Goesmann nutzt nun die neueste Version der „Field Programmable Gate Arrays (FPGAs)“ von TimeLogic, dem Marktführer in der Entwicklung von FPGA-beschleunigten Bioinformatik-Lösungen.

Diese hochentwickelte Technologie unterstützt nun die Gießener Naturwissenschaftlerinnen und -wissenschaftler bei der Untersuchung des biotechnologischen Potenzials verschiedener Mikroorganismen und Insekten. Darüber hinaus kommen die Systeme auch bei der Entwicklung schneller und kosteneffektiver Screening-Verfahren zum Einsatz, beispielsweise zum Nachweis und zur Untersuchung der Ausbreitung von bestimmten Pathogenitätsfaktoren in klinischen bakteriellen Isolaten. So können beispielsweise alle 4.500 Gene eines Darmbakteriums innerhalb weniger Sekunden mit großen öffentlich verfügbaren Datenbanken verglichen werden, in denen bereits Millionen von DNA-Sequenzen hinterlegt sind.

Durch die Verwendung solcher optimierter FPGA-Hardware kann die Geschwindigkeit der Hochdurchsatz-Genomannotation deutlich gesteigert werden. Darüber hinaus wird das System für umfangreiche Genomvergleiche und zur Analyse von Umweltproben eingesetzt, die mit metagenomischen

Ansätzen untersucht werden. Hier können mit den aktuellsten DNA-Sequenzierverfahren innerhalb einer Woche sogar Milliarden von kurzen DNA-Abschnitten generiert werden, die wiederum mit bereits bekannten Sequenzsammlungen verglichen werden müssen. Zu diesem Zweck werden die Analysefunktionen des TimeLogic-Systems in die Software-Plattformen integriert, die bereits seit einigen Jahren in der Gießener Gruppe entwickelt werden.

Eine weitere enge Zusammenarbeit mit TimeLogic bei der Entwicklung von neuen Anwendungen für aktuelle Forschungsprojekte ist geplant. Im Rahmen des vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) geförderten deutschen Netzwerks für Bioinformatik-Infrastruktur (de.NBI) soll die neue Hardware auch in eine neue Cloud-Computing-Infrastruktur integriert werden, um diese hochmoderne Methode zur Analyse von DNA-Sequenzen auch für Forscherinnen und Forscher ohne entsprechende eigene Hardware zur Verfügung zu stellen.

Im Fokus der Arbeit des Teams von Prof. Goesmann steht die Bereitstellung und Weiterentwicklung von bioinformatischen Software-Lösungen zur Analyse des Erbguts von medizinisch und biotechnologisch relevanten Mikroorganismen. Die Arbeitsgruppe entwickelt eine umfangreiche Bioinformatik-Software-Plattform zur systematischen Speicherung und automatisierten Analyse von Genom- und Postgenomdaten.

Die Evolution von Blütenpflanzen

Arbeitsgruppe an der JLU erforscht den genetischen Ursprung des Fruchtknotens

cl. Er unterscheidet die Blütenpflanzen von anderen Landpflanzengruppen und ist ihre wichtigste Innovation: der Fruchtknoten. Das komplexeste aller Pflanzenorgane entwickelt sich im Zentrum von Blüten. Nach der Befruchtung entwickeln sich daraus Früchte, Nüsse und Samen wie Getreidekörner – was ihn auch wirtschaftlich bedeutsam macht. Die Evolution der Gene, die die Entwicklung des Fruchtknotens steuern, hat nun die Arbeitsgruppe Entwicklungsbiologie der Pflanzen von Prof. Dr. Annette Becker am Institut für Botanik der JLU erforscht.

knotenentwicklung beteiligten Gene fast kontinuierlich zugenommen hat – ursprünglich war man davon ausgegangen, dass ein großer Teil dieser Entwicklungskontrollgene zeitgleich mit dem Ursprung der Blütenpflanzen entstanden ist. Die Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler fanden auch heraus, dass ein kleiner Teil von Entwicklungsregulatoren, die den Öffnungsmechanismus von Früchten steuern, erst sehr spät während der Blütenpflanzenentwicklung entstanden ist – und zwar durch Genduplikationen. Sie konnten zudem zeigen, dass

die Fruchttöpfung in verschiedenen Blütenpflanzengruppen auf ähnliche Weise funktioniert, obwohl andere Gene an der Entwicklung der zuständigen Gewebe beteiligt sind.

Über die evolutionäre Entwicklung des Fruchtknotens war bislang wenig bekannt, während die Gennetzwerke, die die Fruchtknotenentwicklung bei der Modellpflanze



Foto: Annette Becker

Modellpflanze Kalifornischer Mohn: Aus dem grünen Fruchtknoten zwischen den Staubblättern entwickelt sich später die Frucht.

In Kooperation mit dem Institut für Bioinformatik und Systembiologie der JLU haben die Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler im Rahmen eines von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) geförderten Projektes die evolutionäre Geschichte der wichtigsten Gene rekonstruiert, die an der Entwicklung des Fruchtknotens beteiligt sind. Dabei zeigte sich, dass im Laufe der Landpflanzenevolution die Anzahl der an der Frucht-

Ackerschmalwand (*Arabidopsis thaliana*) steuern, recht gut untersucht sind. Die nun in zwei Arbeiten veröffentlichten Ergebnisse stellen eine wichtige Grundlage für weitere Studien dar, die sich mit der molekularen Evolution des Fruchtknotens von häufig landwirtschaftlich bedeutsamen Blütenpflanzen beschäftigen.

DOI: 10.1093/molbev/msw297
DOI: 10.1093/molbev/msw229