

## Material 5 – Version A

### Verwendung von CRISPR-Cas9 zur genetischen Veränderung des *doublesex*-Gens

#### Wiederholung:

In den Materialien 1 und 2 haben wir uns mit der Sexualentwicklung der Anophelesmücken beschäftigt und dabei gelernt, dass durch alternatives Spleißen der prä-mRNA des *doublesex*-Gens von *Anopheles gambiae* zwei unterschiedliche Proteine (*dsx-male* und *dsx-female*) gebildet werden, welche die Ausprägung des männlichen und weiblichen Phänotyps bedingen. Um lebensfähige, aber unfruchtbare Weibchen zu erzeugen, sollte der Spleißvorgang, der letztlich zur Bildung der mRNA des Proteins *dsx-female* führt, durch Veränderung der Basensequenz im Übergang von Intron 4 zu Exon 5 unterbunden werden. Hierfür werden Kenntnisse der Basenabfolge dieses Bereichs benötigt.

Abbildung 1 – Basensequenz im Intron-4-Exon-5-Übergang des *doublesex*-Gens

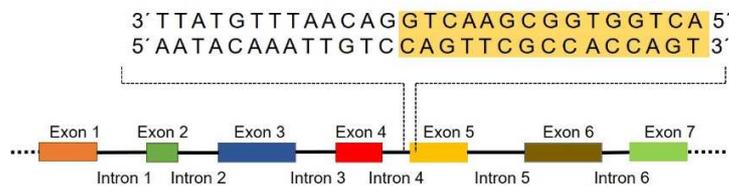


Abbildung erstellt durch Frank Harder, ZPG Biologie

Abbildung 2- Beispiel für eine guide-RNA-Bestellung bei der Firma «World of CRISPR technologies»

5'- AAGCAGUGCUAUGACAGAUAGCACUGGCAUC UGGACAAUUUGU 3'

Abbildung erstellt durch Frank Harder, ZPG Biologie

Abbildung 3 – Einsatz der bestellten guide-RNA am Gen *doublesex*

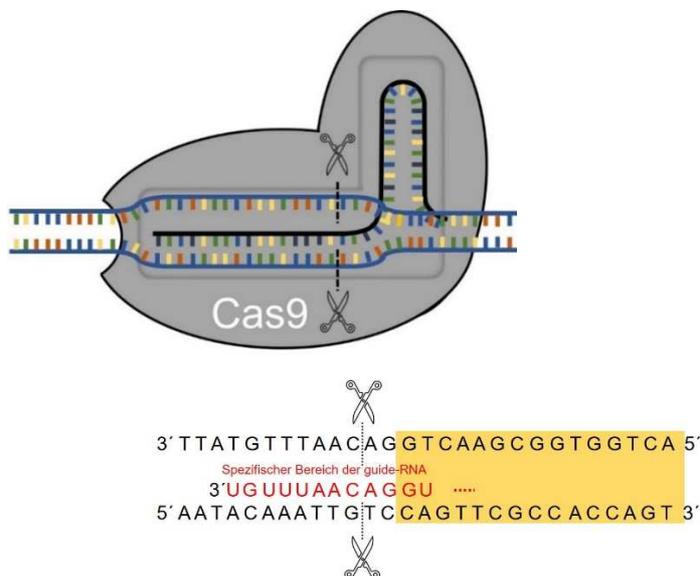


Abbildung erstellt durch Frank Harder, ZPG Biologie

### Abbildung 4 – Beispiel für eine Bestellung bei der Firma «Genetic solutions»

Mögliche DNA-Sequenz für homologe Rekombination



Abbildung erstellt durch Frank Harder, ZPG Biologie

### Abbildung 5 – Homologe Rekombination am doublesex-Gen

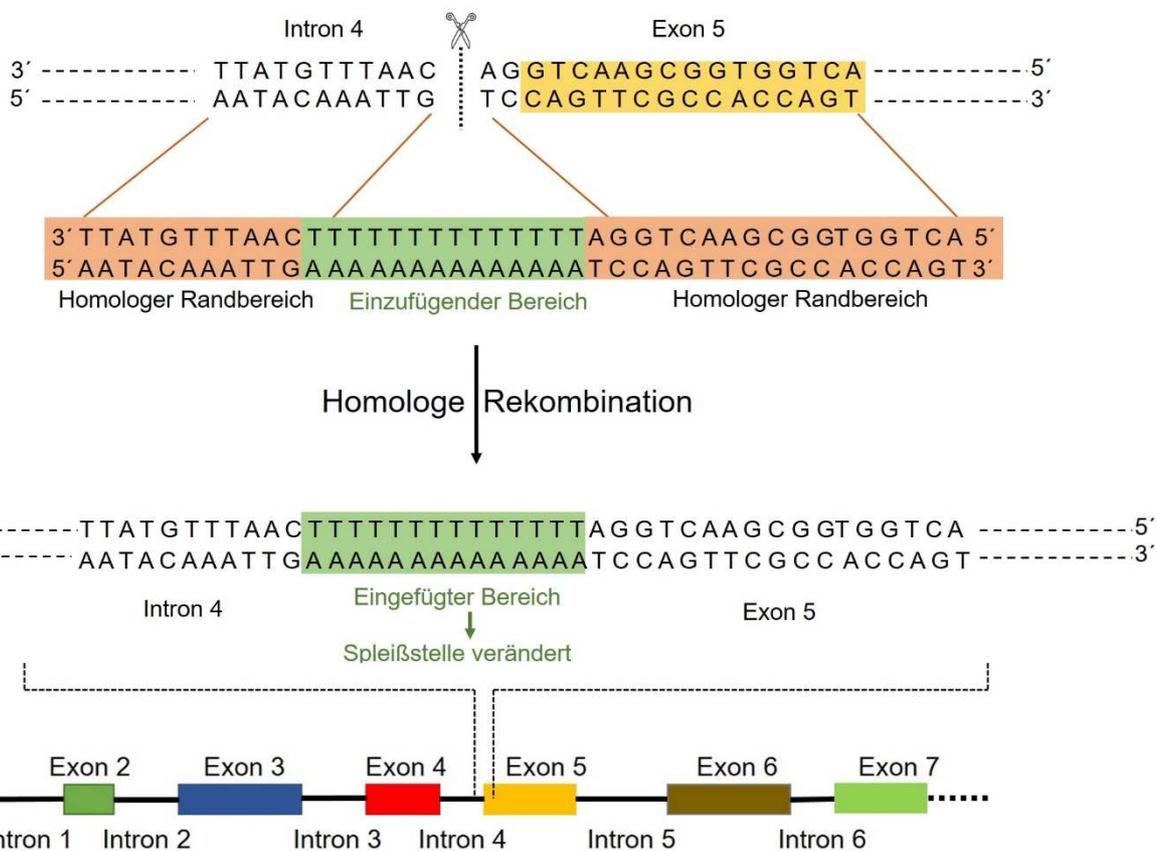


Abbildung erstellt durch Frank Harder, ZPG Biologie

#### Aufgabe:

Erläutern Sie anhand der Abbildungen 1-5 die Prozesse, die zur Veränderung der Basensequenz im Intron-4-Exon-5-Übergang führen und damit die Bildung von funktionsfähigem dsx-female unterbinden.