

## Material 6 – Funktionsweise eines CRISPR-Cas9-Genedrives

In Material 4 haben wir gelernt, dass es durch den gezielten Schnitt mit CRISPR-Cas9 und nachfolgendem Einbau einer Fremd-DNA durch homologe Rekombination gelingen kann, dass die Schnittstelle von Intron-4 zu Exon-5 nicht mehr erkannt und dadurch kein funktionsfähiges Protein dsx-female mehr produziert wird.

Die Erfolgsrate solcher gentechnischer Eingriffe in befruchteten Eizellen von Anophelesmücken ist aber - unter anderem aufgrund des Abbaus von RNA und Cas9 in der Zelle - nicht hoch genug um sicherzustellen, dass die Mutation in den diploiden Zellen der Mücken **beide Allele** betrifft. Im heterozygoten Zustand können sich aus solchen mutierten Eizellen (XX) aber immer noch fruchtbare weibliche Anophelesmücken entwickeln. **Lediglich im homozygoten Zustand entstehen unfruchtbare weibliche Intersex-Phänotypen.**

Ziel muss daher sein, dafür zu sorgen, dass die Mutation beide Allele betrifft. Dies wird über einen genetischen Trick, den **CRISPR-Cas9-Genedrive**, bewirkt. Als Genedrive bezeichnet man hierbei sowohl das zum Einbau in die DNA verwendete genetische Konstrukt (CRISPR-Cas-Genedrive-Kassette, Abbildung 1) als auch den Effekt auf das Vererbungsmuster der damit genetisch veränderten Organismen. Die benötigten DNA-Abschnitte der CRISPR-Cas-Genedrive-Kassette kann man sich – wie wir es schon in Material 5 kennengelernt haben - bei Biotechnologie-Firmen bestellen.

Die Abbildungen 2 und 3 zeigen schematisch die durch den Einbau der CRISPR-Kassette ausgelösten Prozesse in Zellen eines Organismus. Der Effekt des Genedrive auf das Vererbungsmuster wird hier noch nicht thematisiert. Dies erfolgt erst in Material 7.

**Abbildung 1 – CRISPR-Cas-Genedrive-Kassette (Genedrive-Sequenz für homologe Rekombination)**



**Anmerkung:**

Grün dargestellte Bereiche der Genedrive-Kassette stellen unspezifische DNA-Sequenzen dar, welche dazu dienen, einen Abstand zwischen den relevanten Sequenzen herstellen.

Abbildung erstellt durch Frank Harder, ZPG Biologie

**Abbildung 2 – Homologe Rekombination unter Verwendung einer CRISPR-Cas-Genedrive-Kassette**

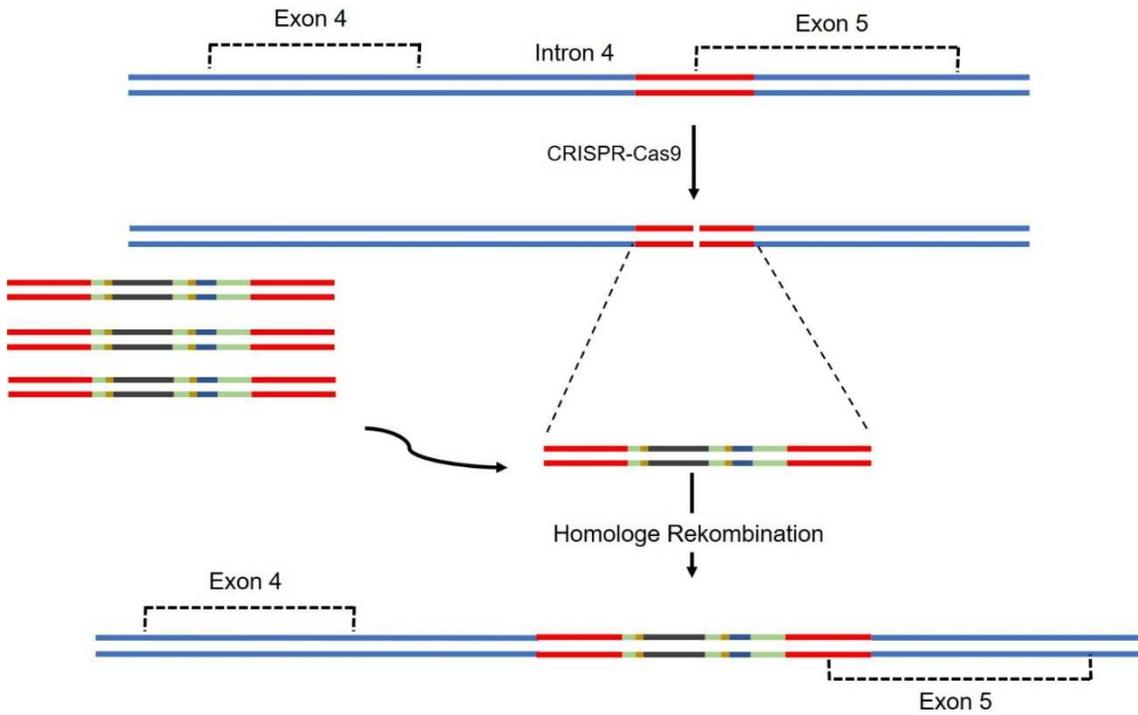


Abbildung erstellt durch Frank Harder, ZPG Biologie

**Abbildung 3 – Wirkung eines CRISPR-Cas9-Genedrives auf DNA-Ebene**

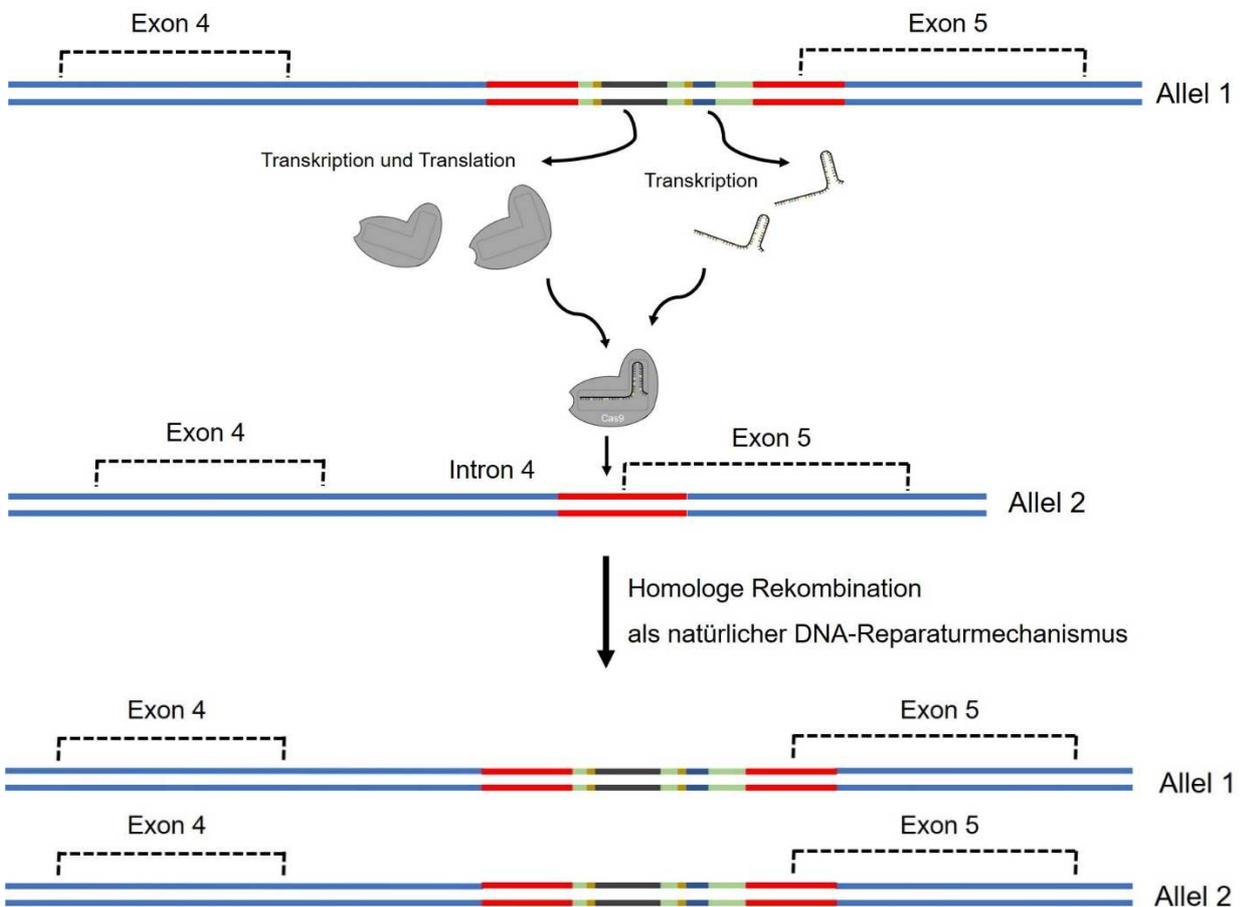


Abbildung erstellt durch Frank Harder, ZPG Biologie

**Aufgabe:**

Erläutern Sie anhand der Abbildungen 1-3 die Funktionsweise eines CRISPR-Cas9-Genedrives zur Erzeugung von Anophelesmücken, welche die Mutation im doublesex-Gen auf beiden Allelen (homozygot) tragen.

Nutzen Sie gegebenenfalls auch das Informationsmaterial zur homologen Rekombination aus Material 4.