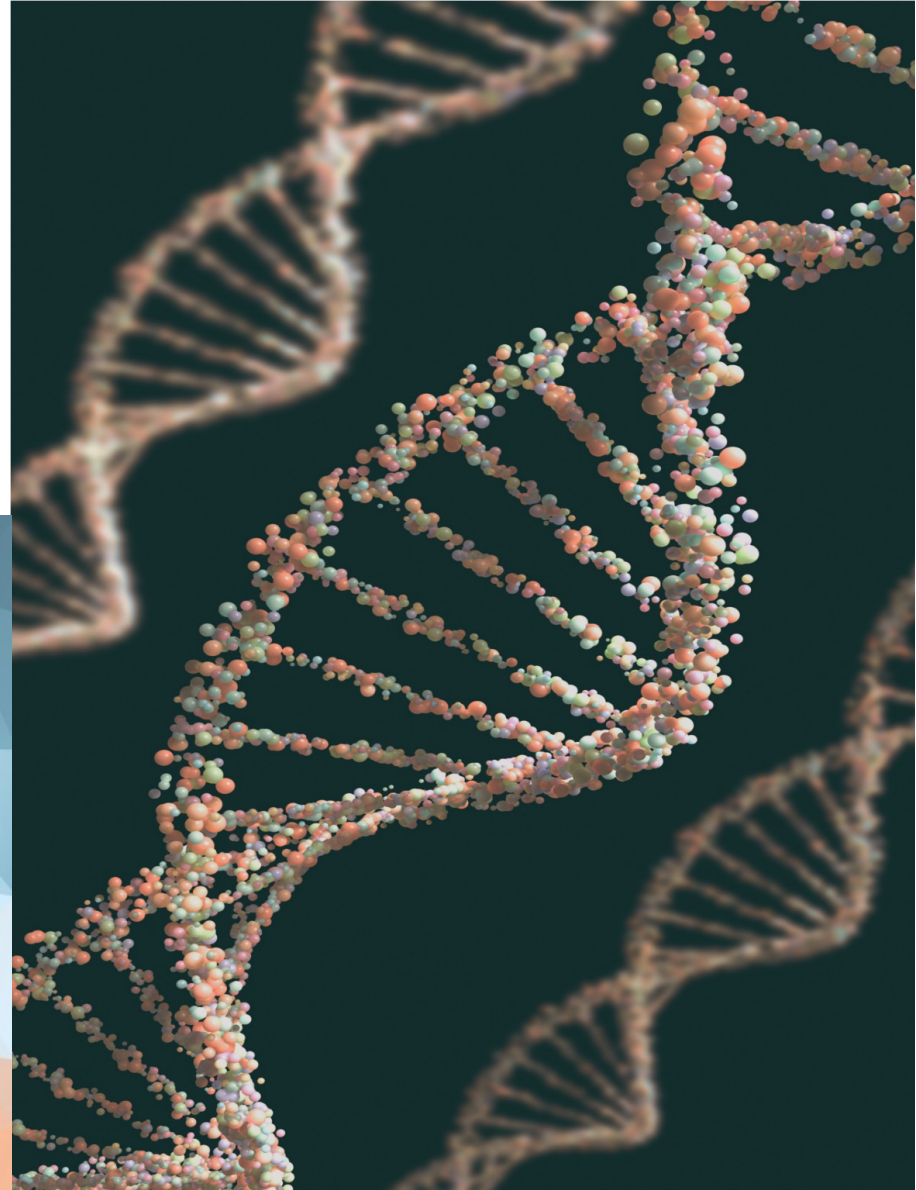


Biologische Grundlagen von Gene Drives & medizinische Anwendungen

nikolai.windbichler@imperial.ac.uk

Imperial College
London



Ein globales Problem: Übertragung von infektiösen Erkrankungen durch Vektoren



17% aller Infektionskrankheiten

1 Milliarde Krankheitsfälle jährlich

2.5 Milliarden Menschen in über 100 Ländern leben in der Dengue Fieber Risikozone

Geschätzte Anzahl von Todesfällen, 2015 (Übertragung durch Mosquitos):

DISEASE	DEATHS	SYMPTOMS
Malaria	429,000	Uncontrollable shivering, fever, sweating, headache, fatigue, and pain.
Encephalitis (All forms)	89,372	Headache, confusion, fever, drowsiness, fatigue, seizures, convulsions, tremors, hallucinations, and stroke.
Dengue	34,514	Fatigue, fever, headache, body aches, joint pains, vomiting, diarrhea, rash, seizures, gastrointestinal bleeding, and hypotension.
Yellow fever	11,815	Fever, chills, loss of appetite, nausea, muscle pains, headache, and liver damage leading to yellow skin.
Chikungunya	191	Fever, severe joint pain, headache, nausea, fatigue, and rash.
West Nile virus	146	Fatigue, fever, headache, body aches, joint pains, vomiting, diarrhea, and rash.
Rift Valley fever	26	Sudden onset of flu-like fever, muscle pains, joint pains, headache, loss of appetite, vomiting, retinal lesions, and hemorrhagic fever.
Lymphatic filariasis	20	Severe kidney damage, and extreme swelling of physical features, often resulting in enlarged legs and arms.
Zika	-20	Mild fever, skin rash, conjunctivitis, and congenital cases including microcephaly.

Source: WHO, CDC, OIE; Zika deaths estimated from reports to the WHO and the media. All calculations have wide error margins.

Malaria: Erzielter Fortschritt in Gefahr



Zwischen 2010 und 2015 weltweit:

- Neuerkrankungen um 21 Prozent reduziert
- Sterblichkeitsrate um 29 Prozent zurückgegangen

durch den Einsatz von:

- schnellen Diagnosekits
- mit Insektiziden imprägnierten Moskitonetzen
- Artemisinin Kombinationstherapie



Insektizidresistenz gegen alle
4 Insektizidklassen breitet sich aus

Artemisinin-resistente Parasiten in
Südostasien und zuletzt auch Afrika

Neue Werkzeuge im Kampf gegen Malaria werden dringend gebraucht!

Optimale Eigenschaften Neuer Werkzeuge

Nachhaltig

- Sicher
- Kompatibel mit anderen Interventionen
- Keine Querresistenz mit anderen Interventionen

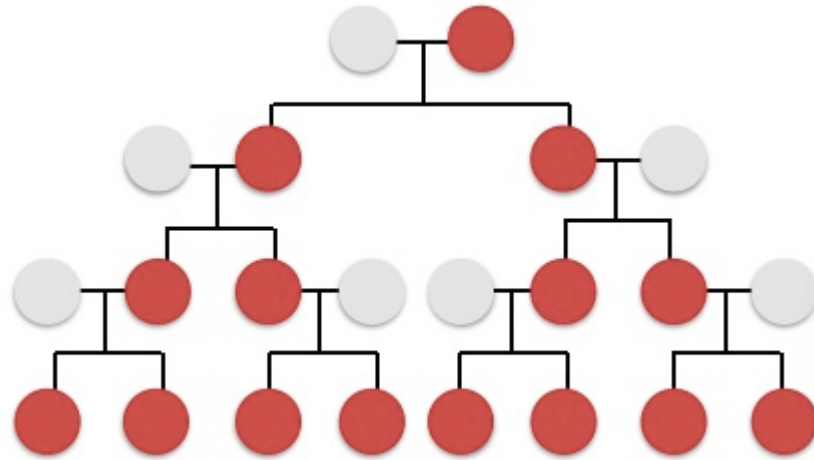
Breite Anwendbarkeit

- Reduziert Krankheitsübertragung in vielen Szenarien:
- hypo- & holoendemisch
 - urban oder ländlich
 - schwaches Gesundheitssystem
 - instabile Staaten

Effektivität

- Kostengünstig
- Einfach anzuwenden
- Keine Änderung des Verhaltens der Betroffenen notwendig

Wie funktioniert "Gene Drive"?

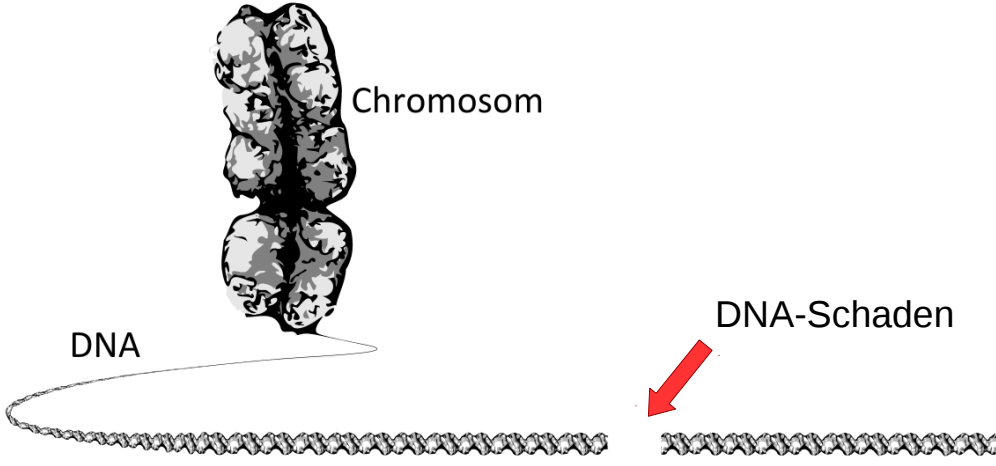




Chromosom

DNA

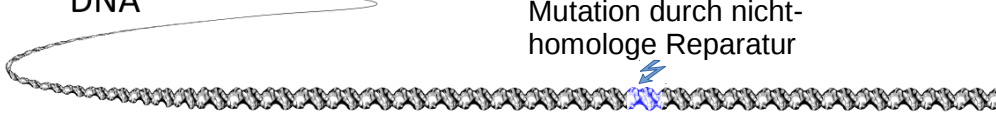






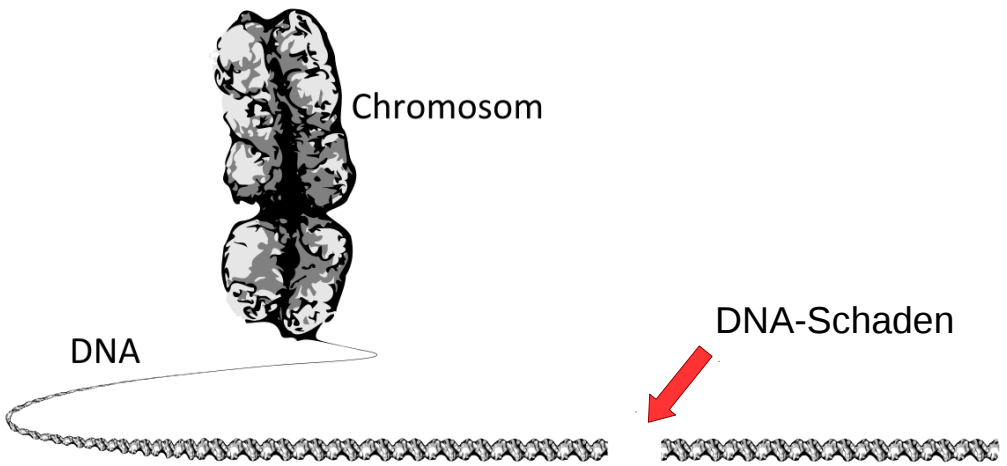
Chromosom

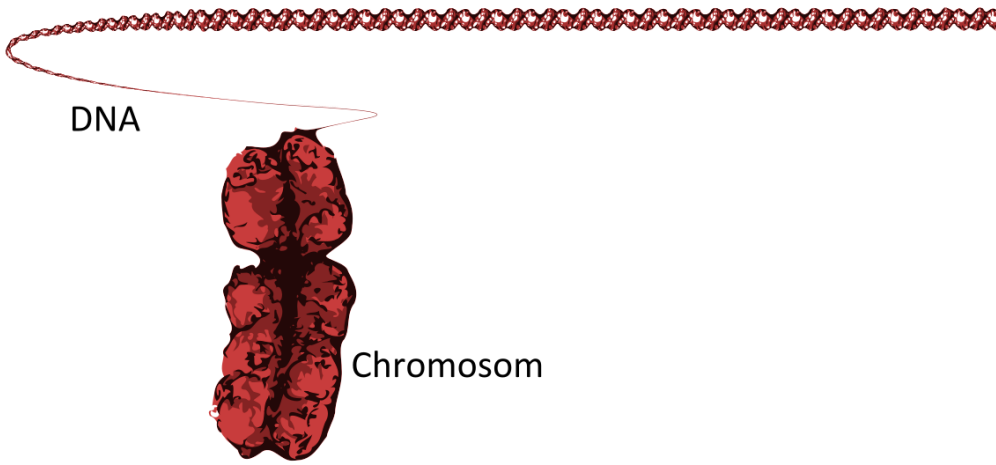
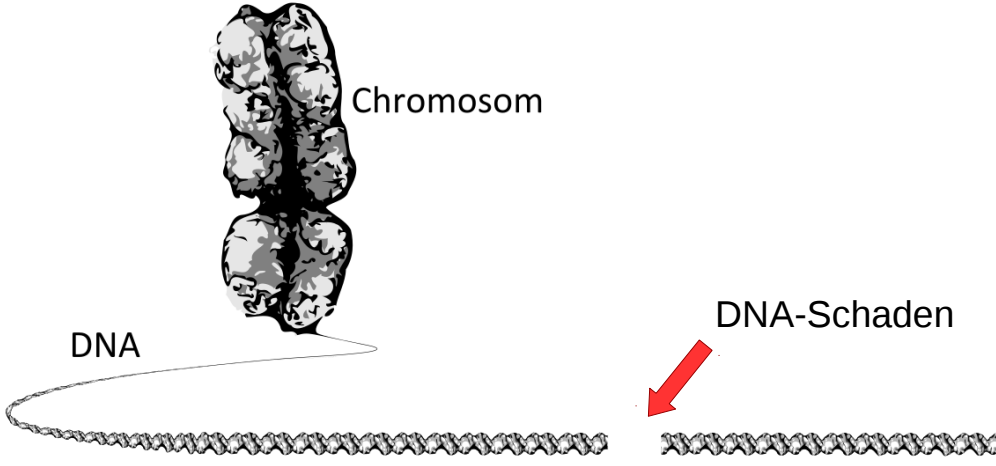
DNA

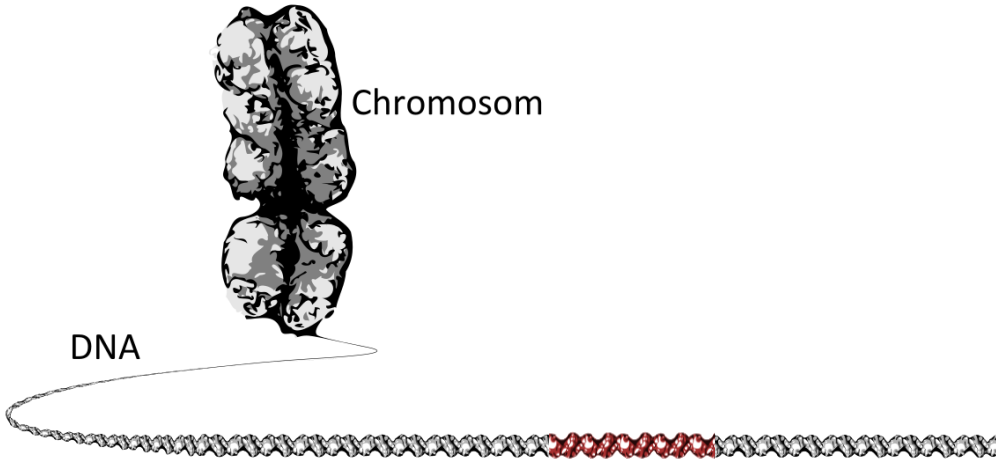


Mutation durch nicht-homologe Reparatur

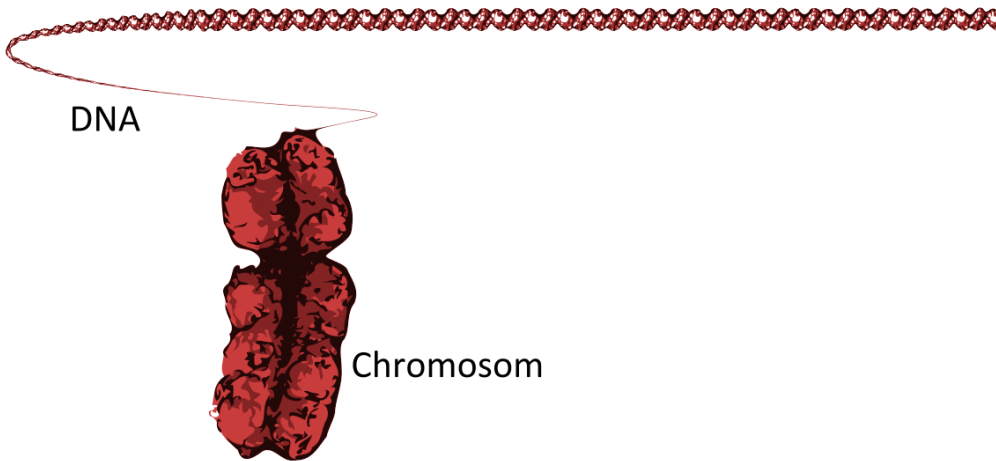




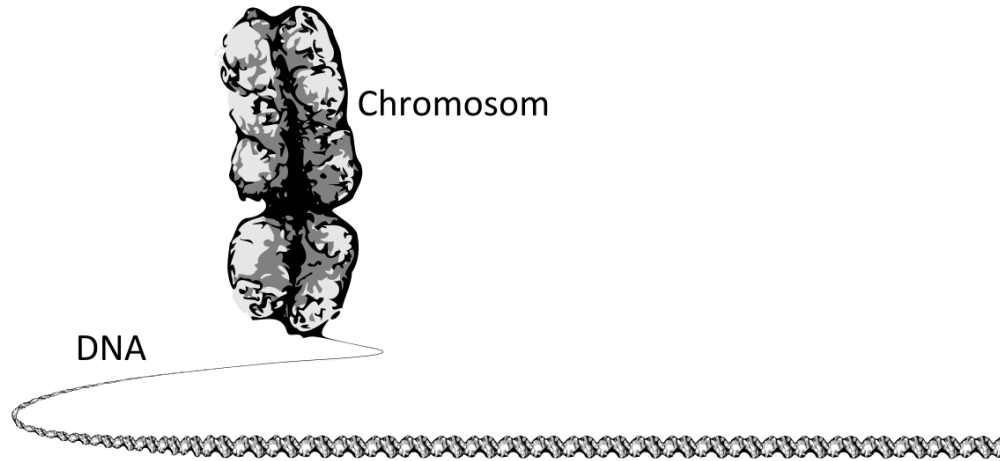




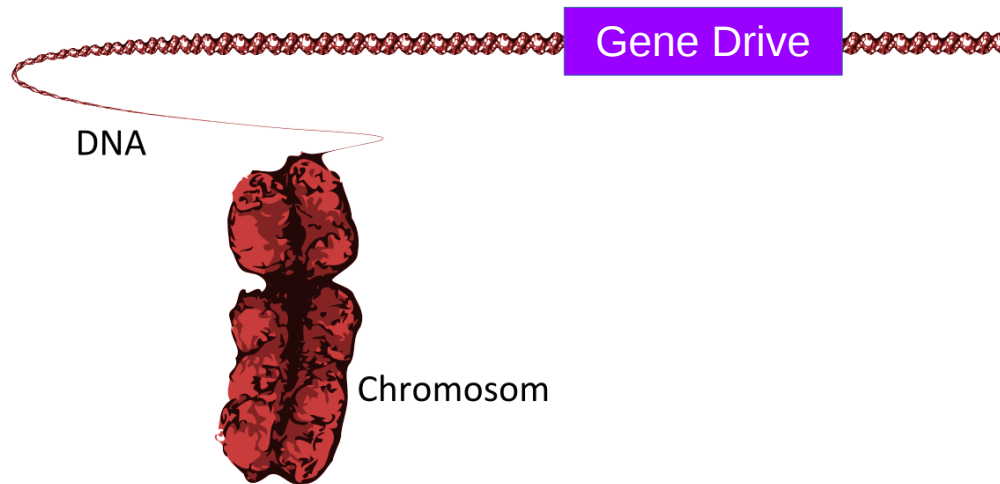
Homologe Reparatur mit zweitem Chromosom als Vorlage

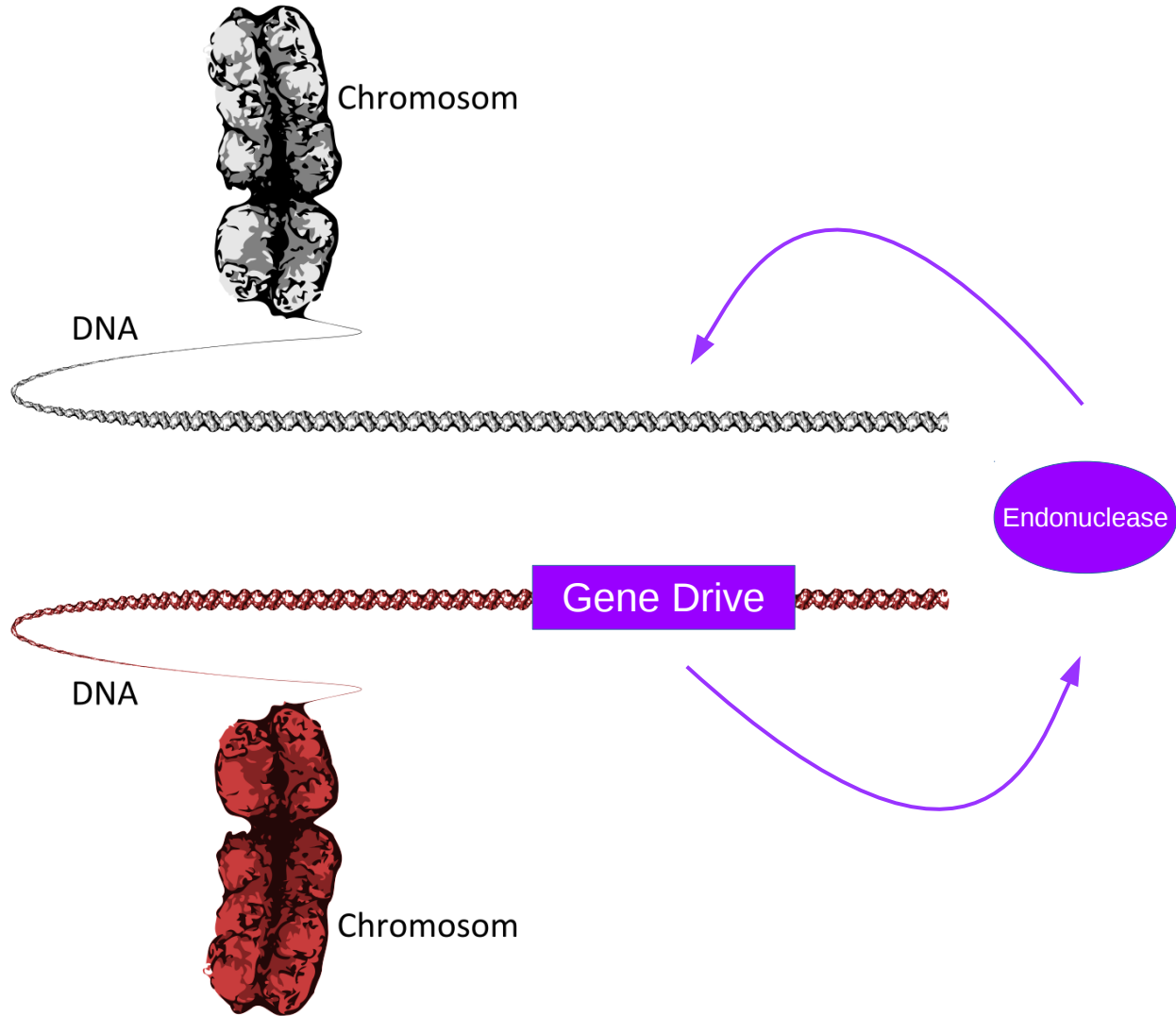


kein Verlust genetischer Information

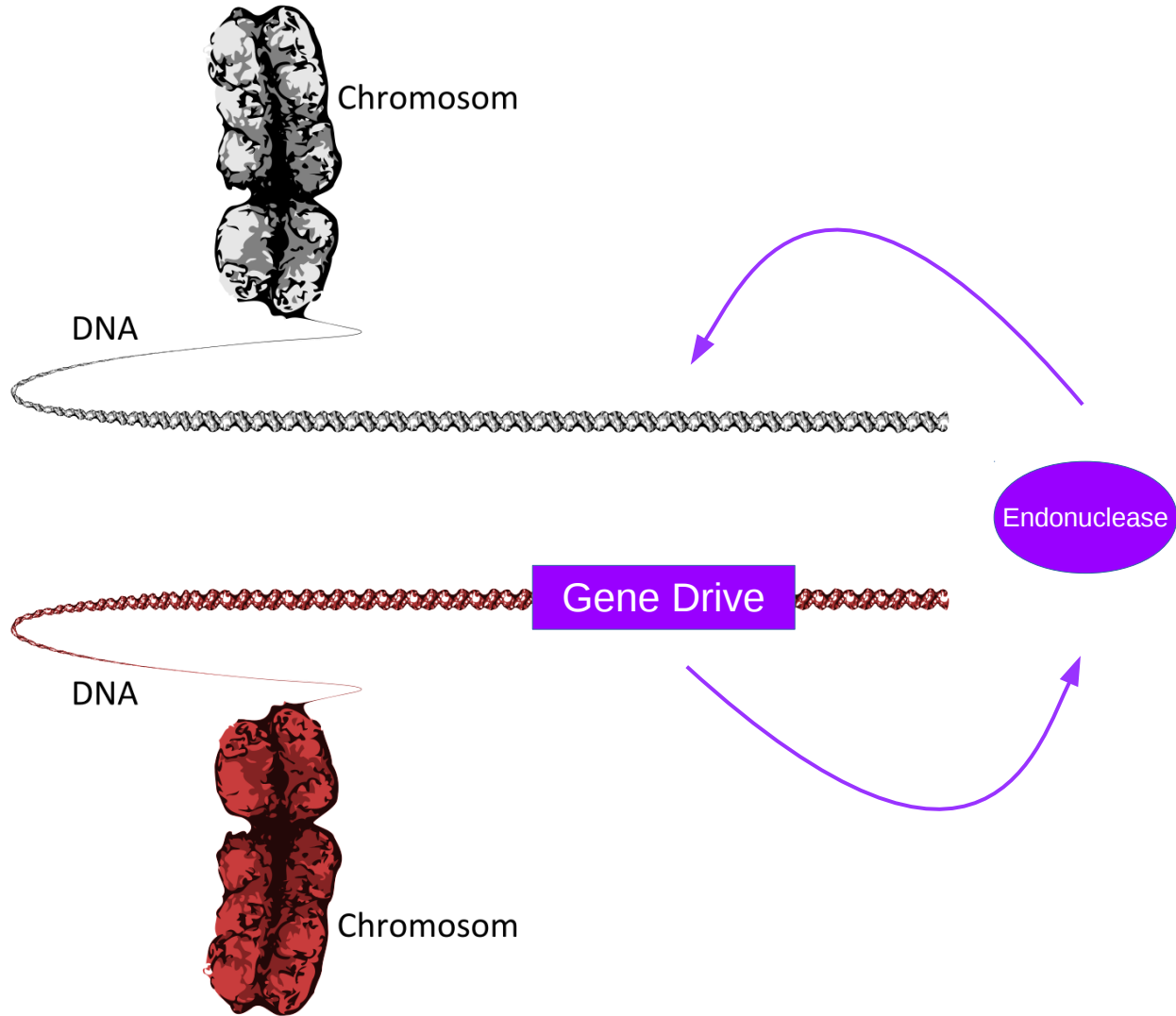


Egoistische Gene nutzen diesen Reparaturmechanismus aus um sich selbst zu verbreiten.

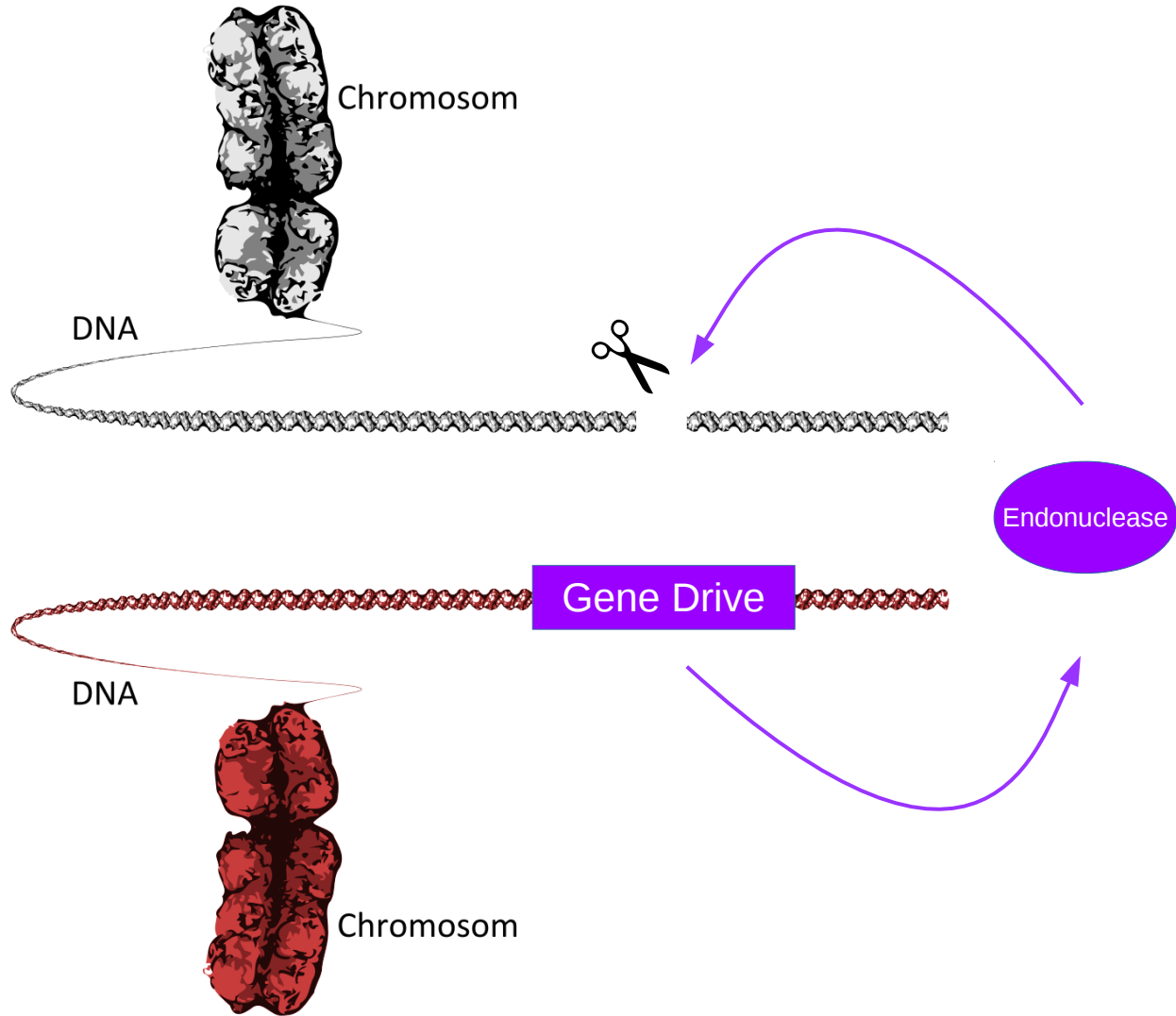




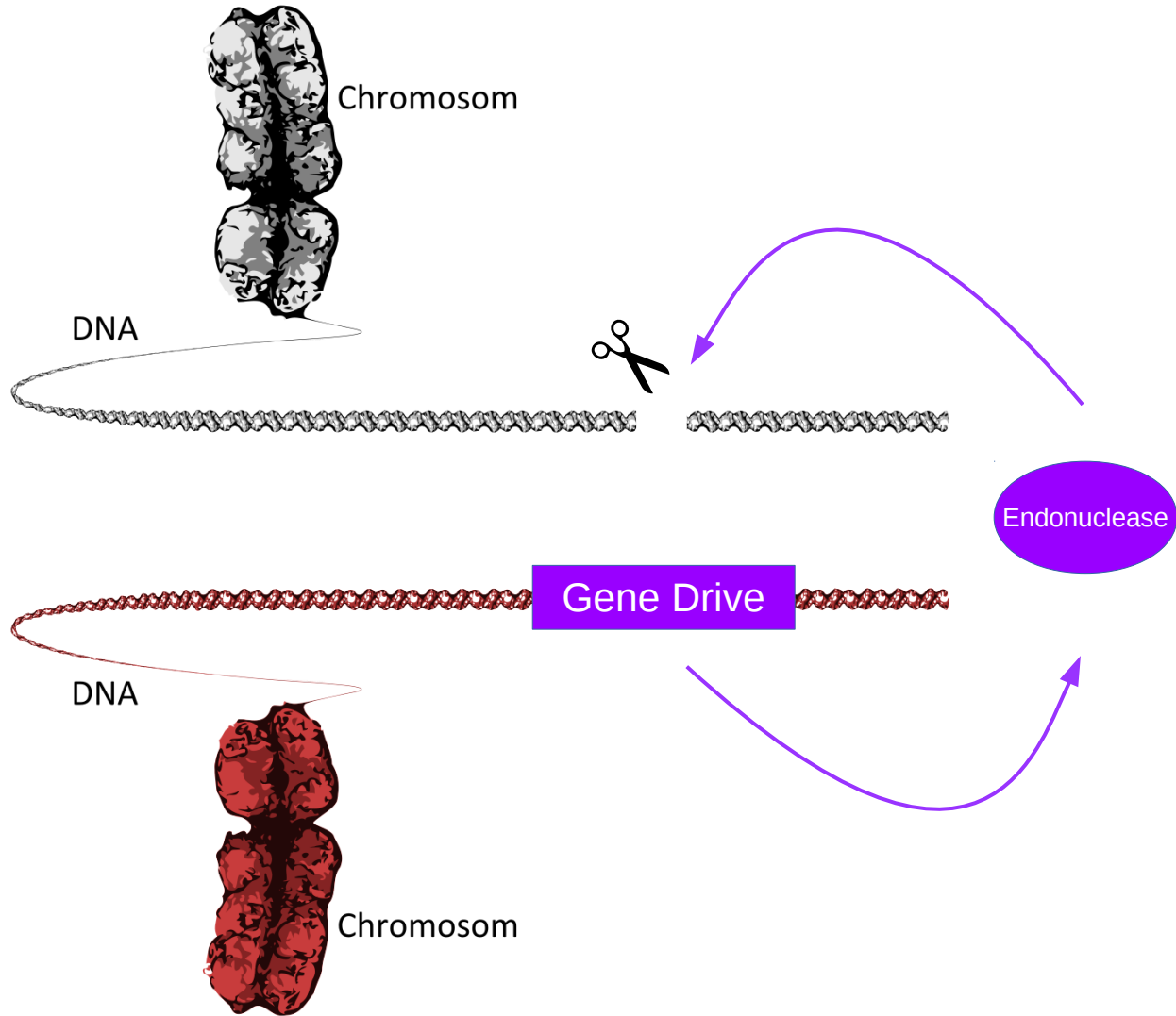
Egoistische Gene nutzen diesen Reparaturmechanismus aus um sich selbst zu verbreiten.



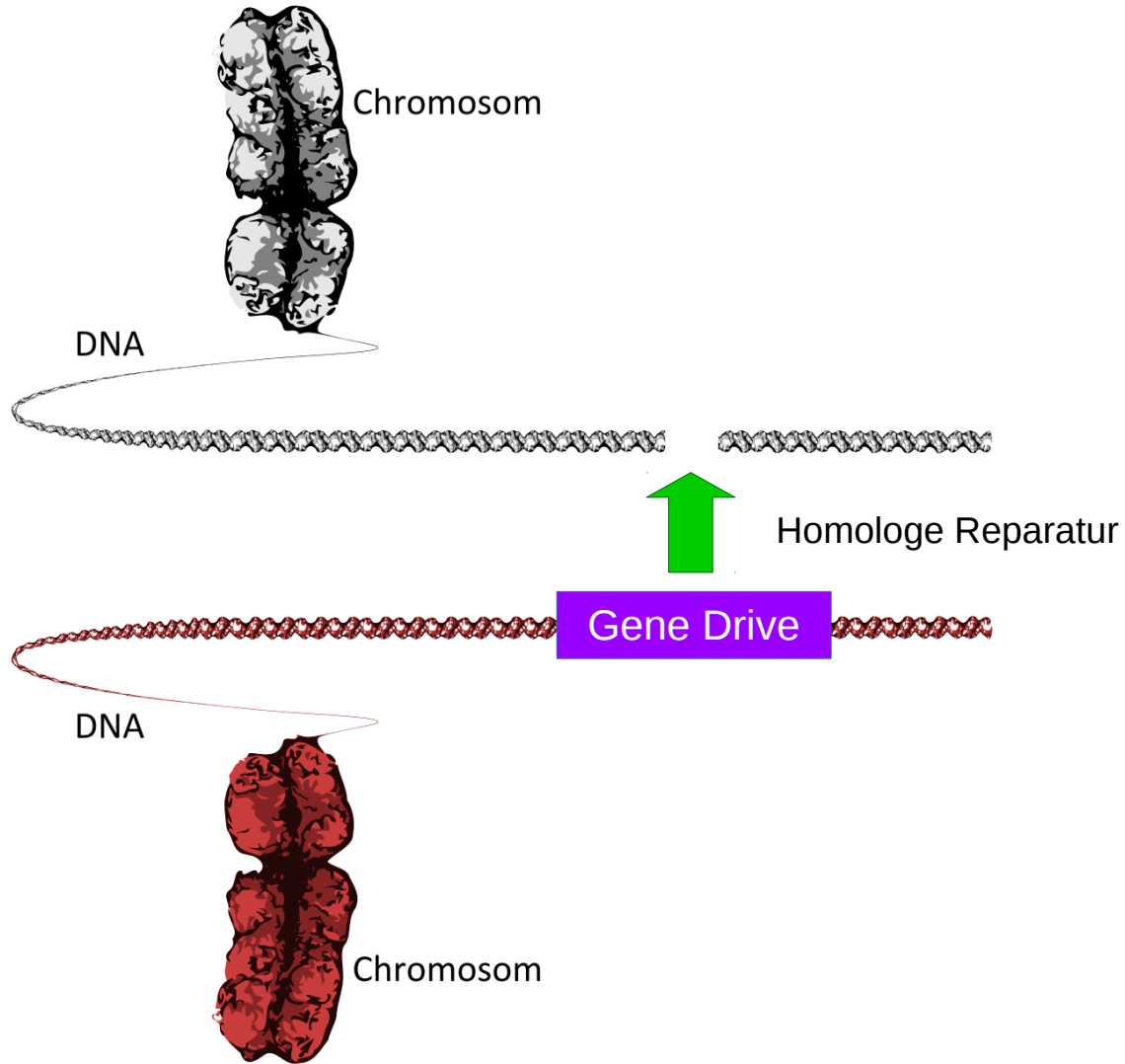
Egoistische Gene nutzen diesen Reparaturmechanismus aus um sich selbst zu verbreiten.



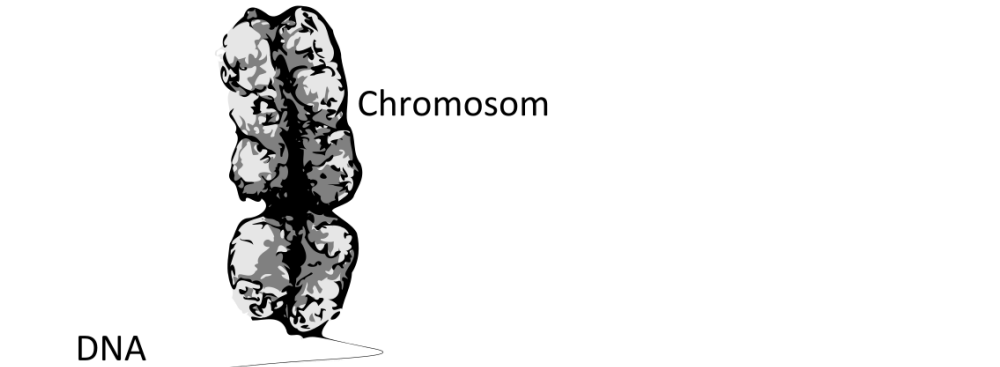
Egoistische Gene nutzen diesen Reparaturmechanismus aus um sich selbst zu verbreiten.



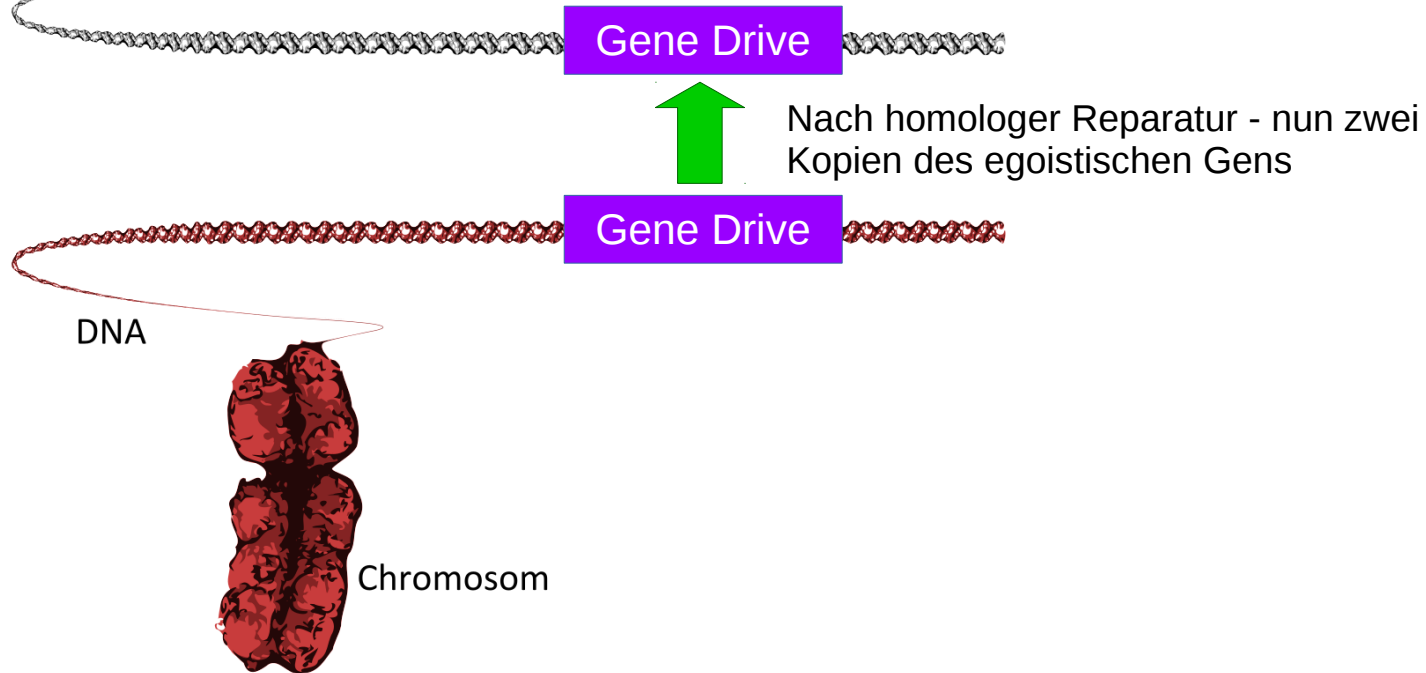
Egoistische Gene nutzen diesen Reparaturmechanismus aus um sich selbst zu verbreiten.

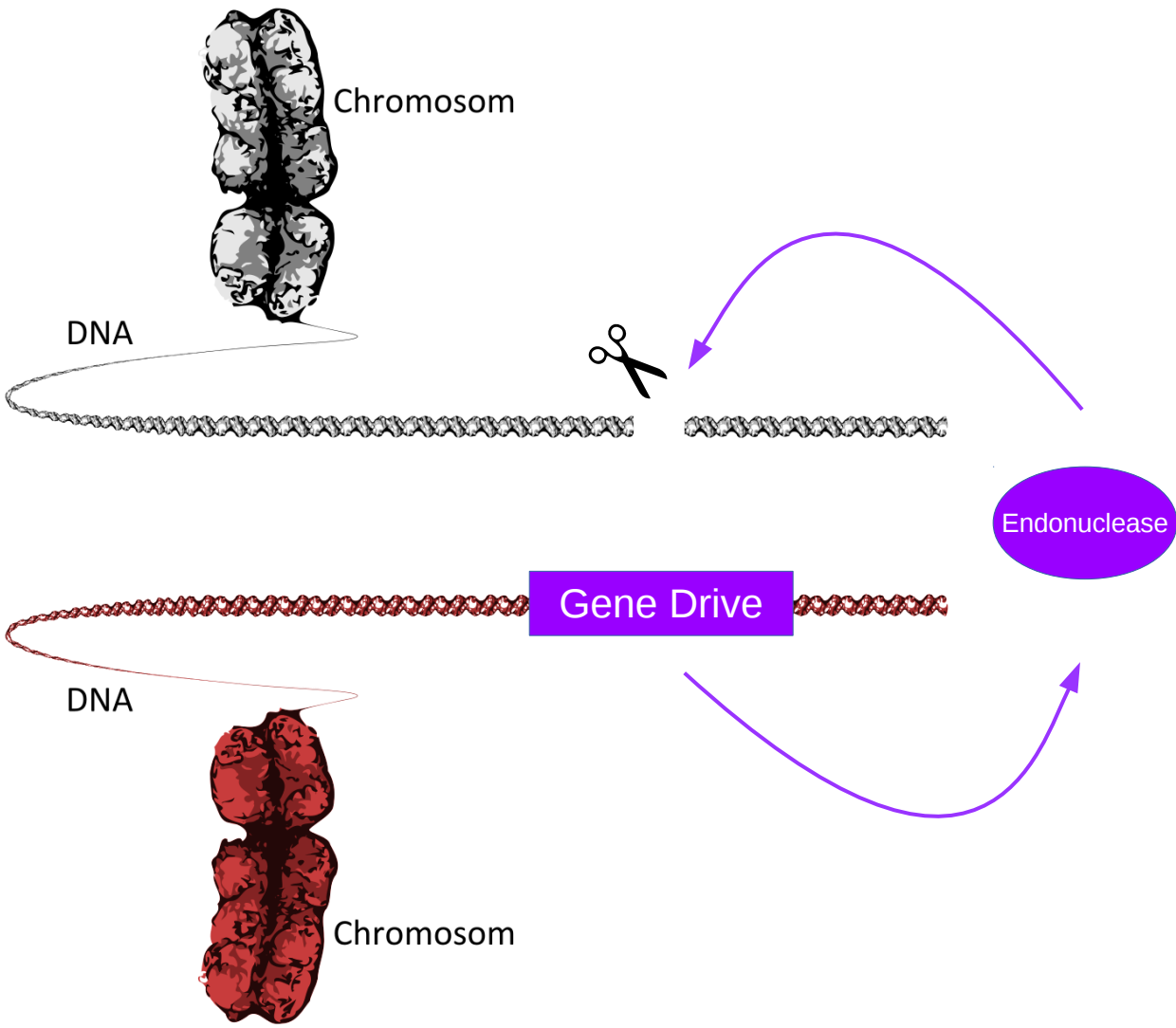


Egoistische Gene nutzen diesen Reparaturmechanismus aus um sich selbst zu verbreiten.

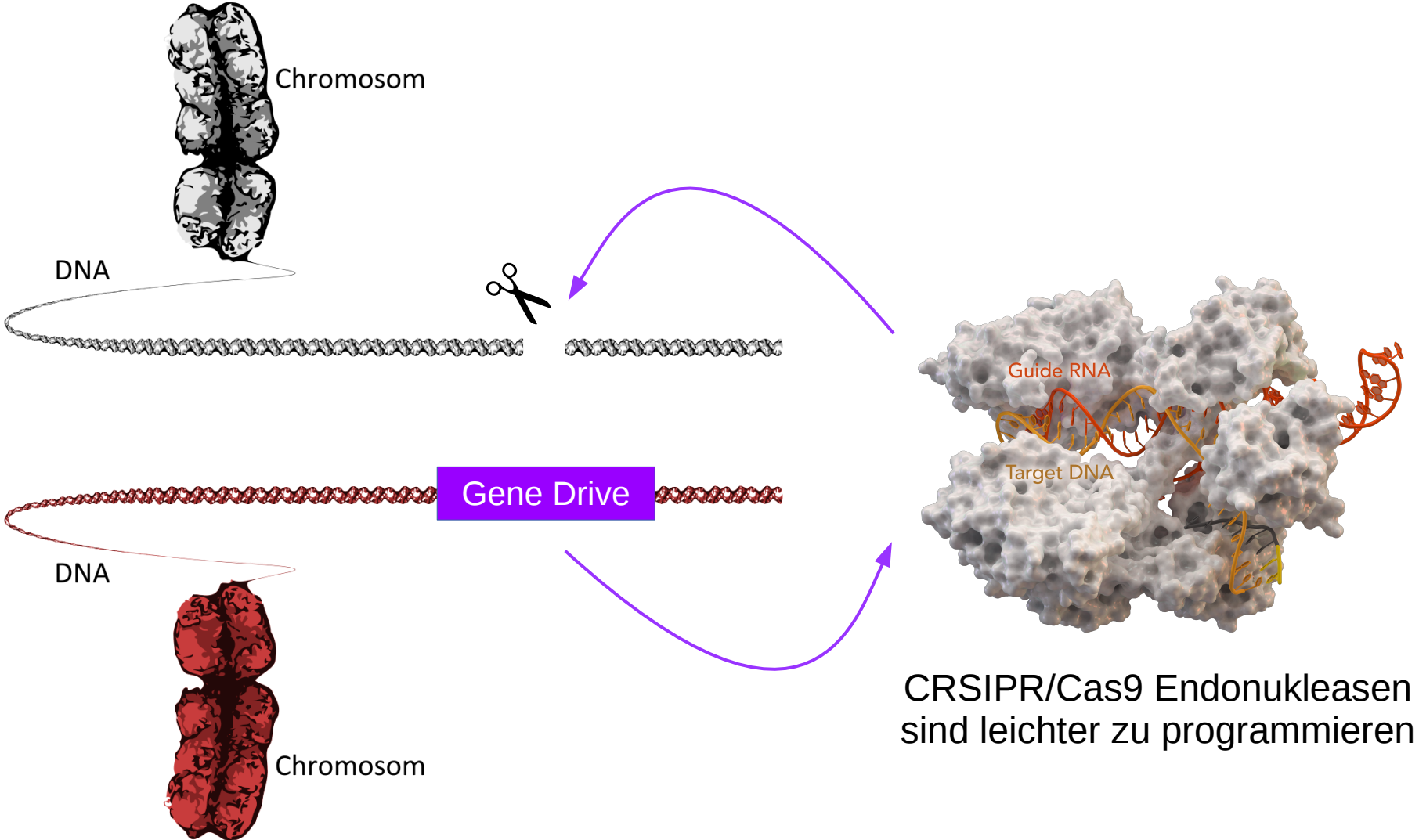


Egoistische Gene nutzen diesen Reparaturmechanismus aus um sich selbst zu verbreiten.





Solche egoistischen Gene kommen in vielen Genomen vor:
"Homing Endonukleasen"



Chromosom

DNA



Gene Drive

DNA

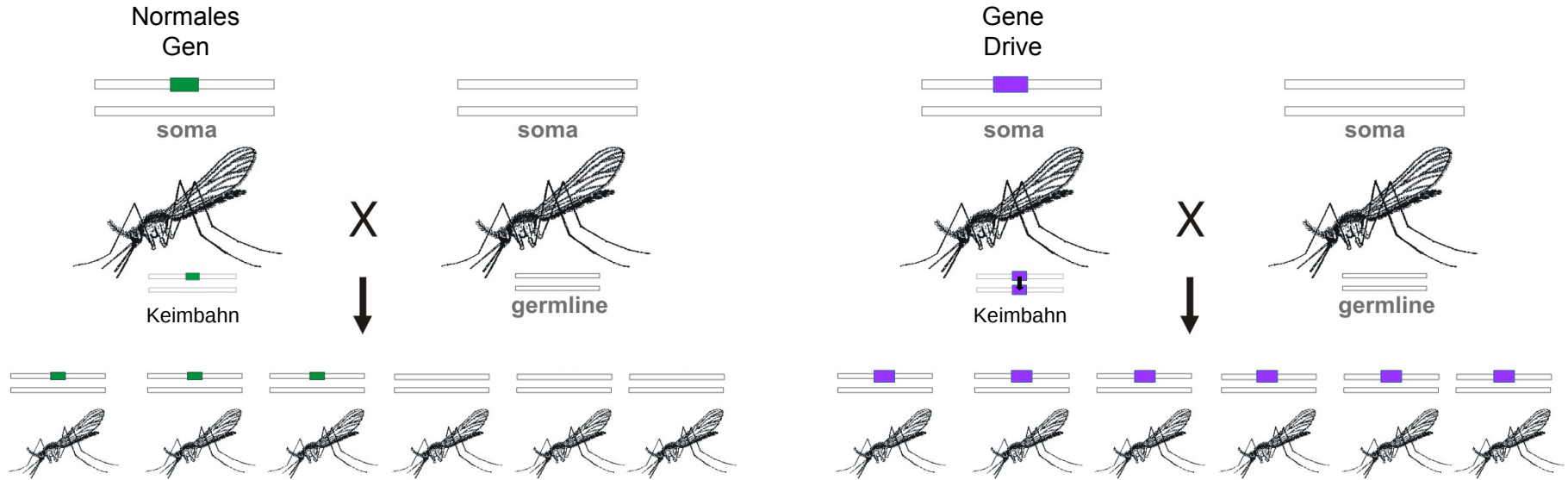
Chromosom

Guide RNA

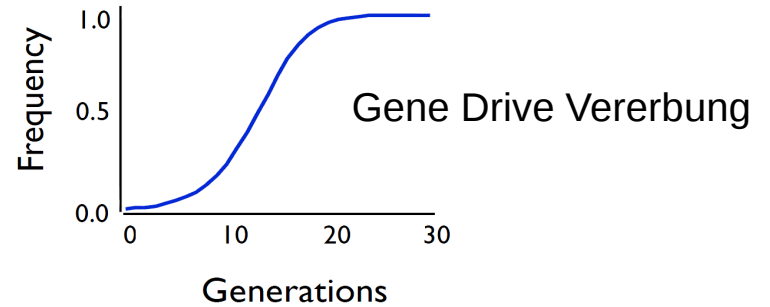
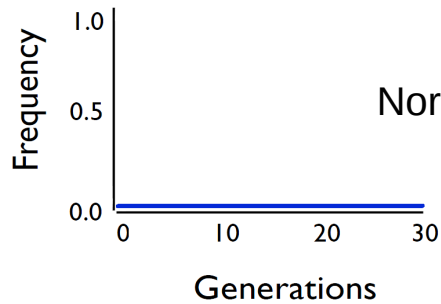
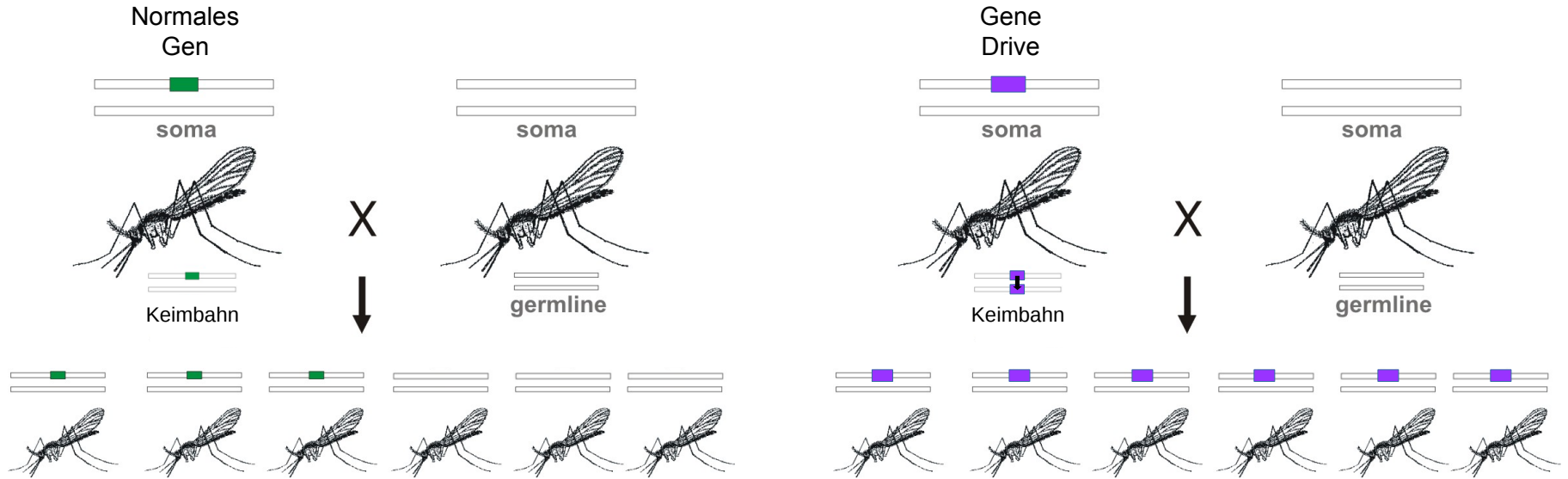
Target DNA

CRSIPR/Cas9 Endonukleasen sind leichter zu programmieren

Gene Drive als Vererbungsturbo

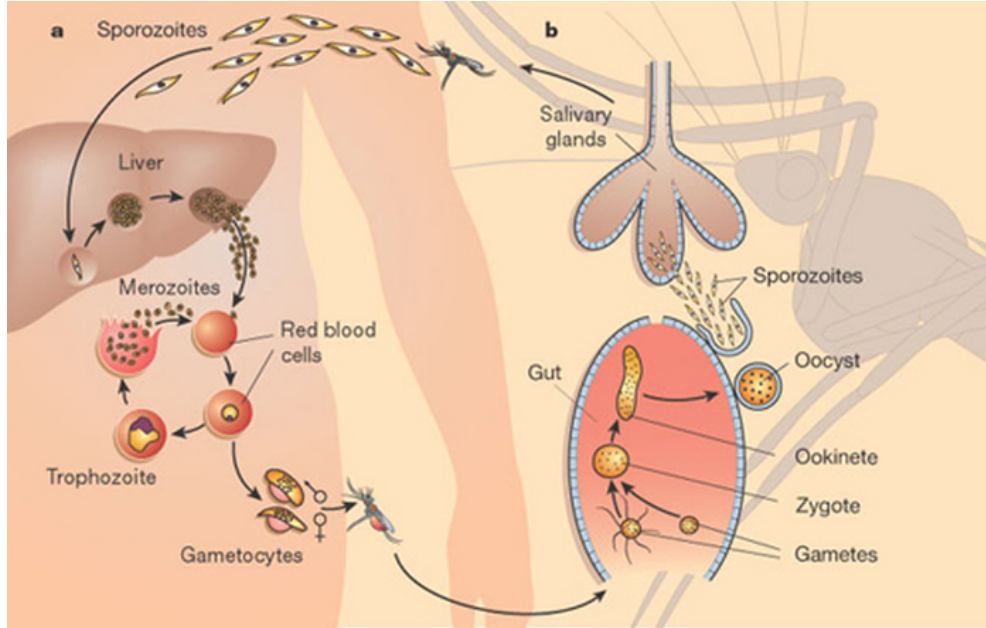


Gene Drive als Vererbungsturbo



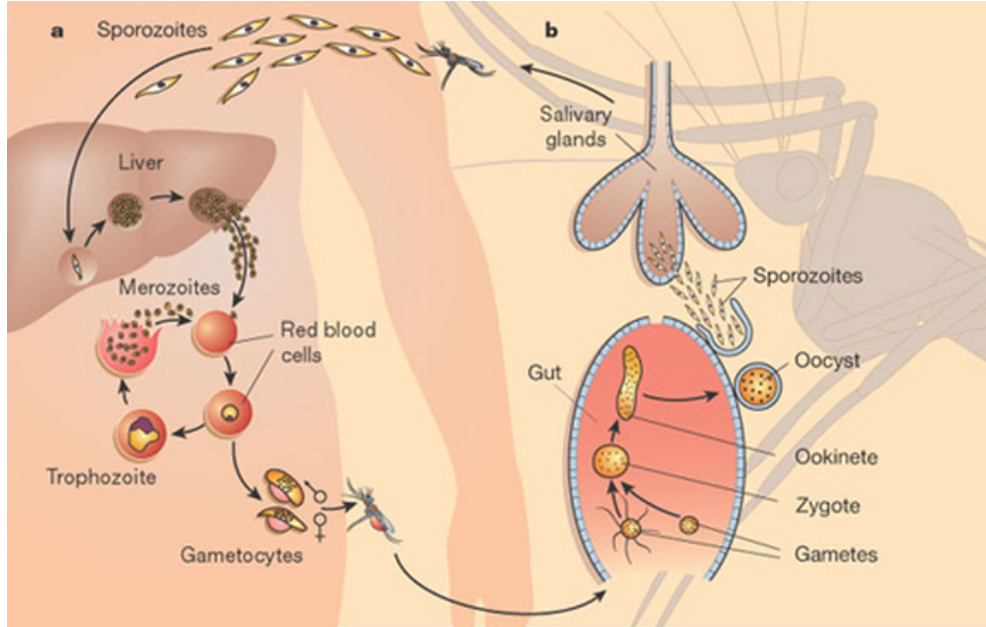
Anwendungsarten:

1. Modifikation von Populationen



Anwendungsarten:

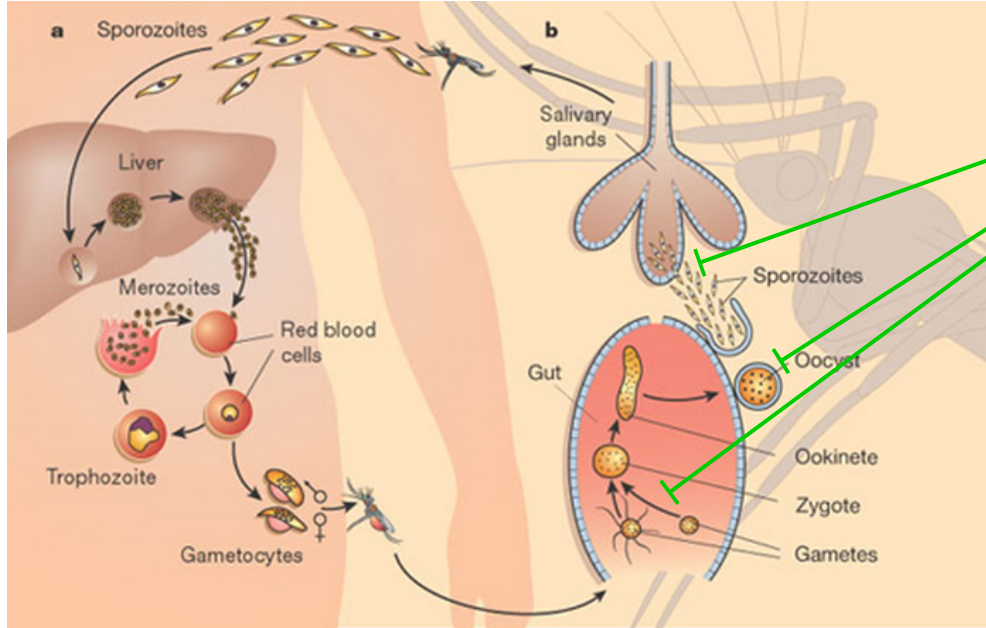
1. Modifikation von Populationen



Anti-Plasmodium
Gen
■

Anwendungsarten:

1. Modifikation von Populationen

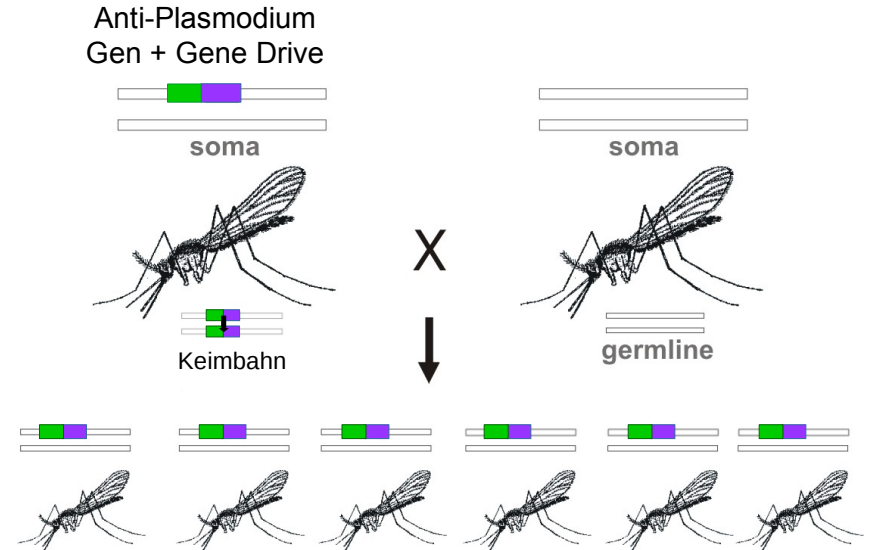
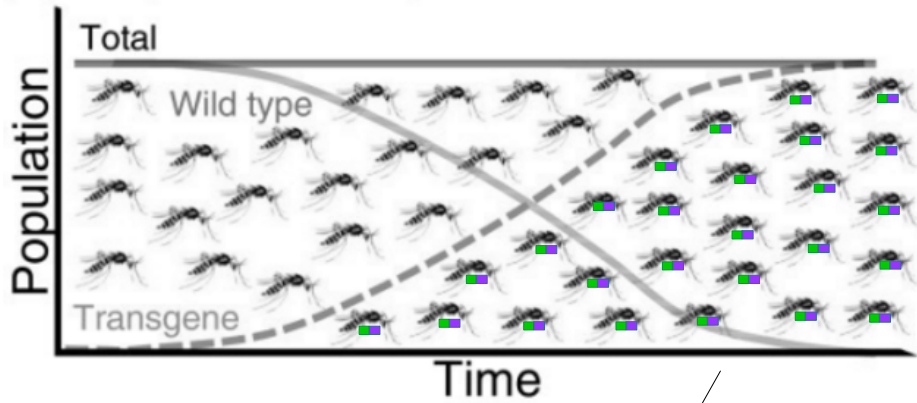


Anti-Plasmodium
Gen

Beinträchtigt Entwicklung des Malaria
Parasiten im Mosquito

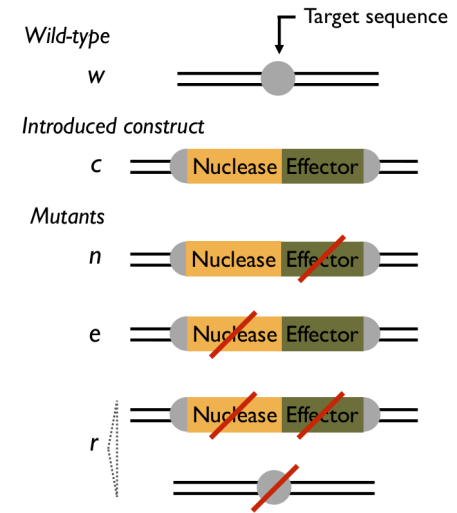
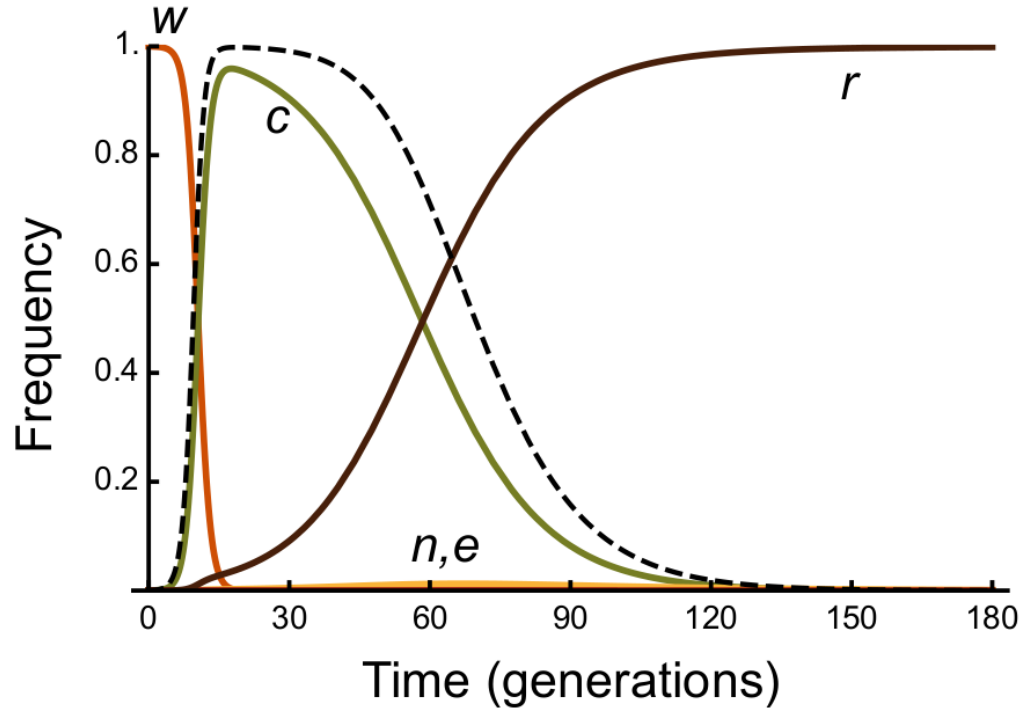
Anwendungsarten:

1. Modifikation von Populationen



Reduzierte oder keine
Krankheitsübertragung

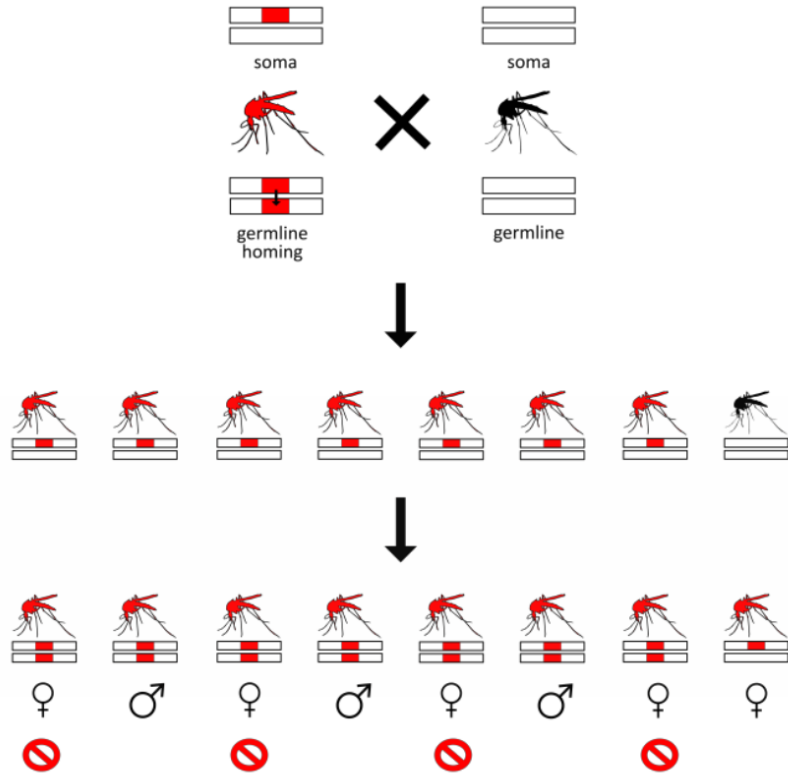
Gene Drive: irreversibel, permanent und unaufhaltbar?



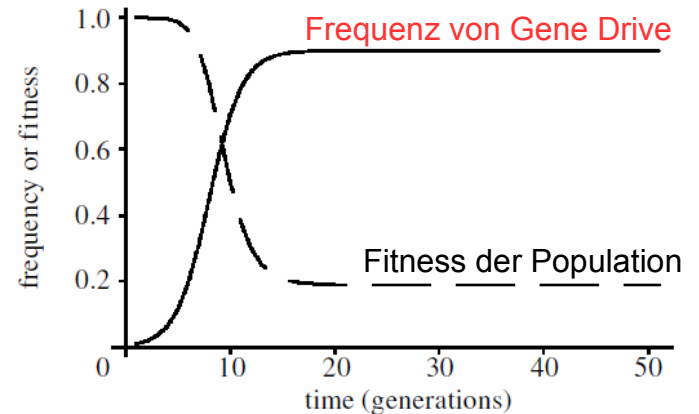
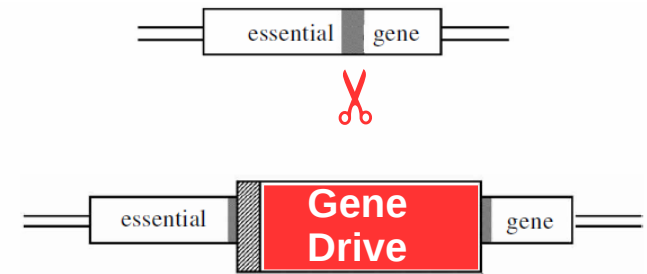
Theoretisch:
Gene Drive funktioniert und blockiert
Krankheitsübertragung circa
30 bis 50 Generationen
(*A. gambiae*: 10-18 Generationen/Jahr)

Anwendungsarten:

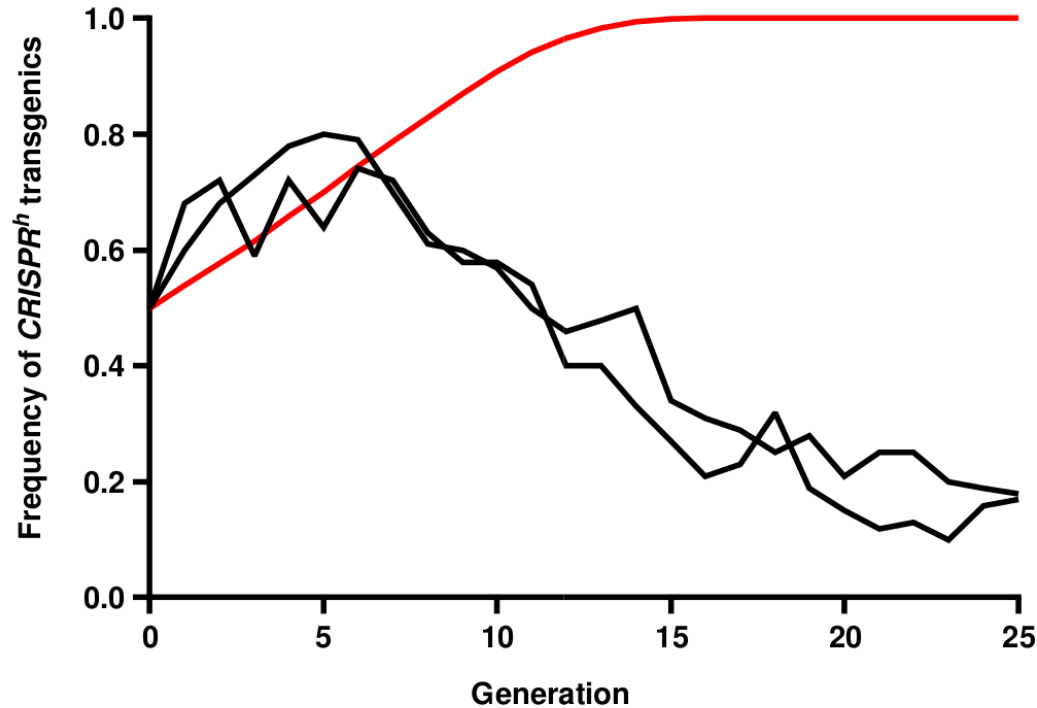
2. Reduktion oder Elimination der Population



Gene Drive gegen ein ♀ Fruchtbarkeitsgen



Gene Drive: irreversibel, permanent und unaufhaltbar?

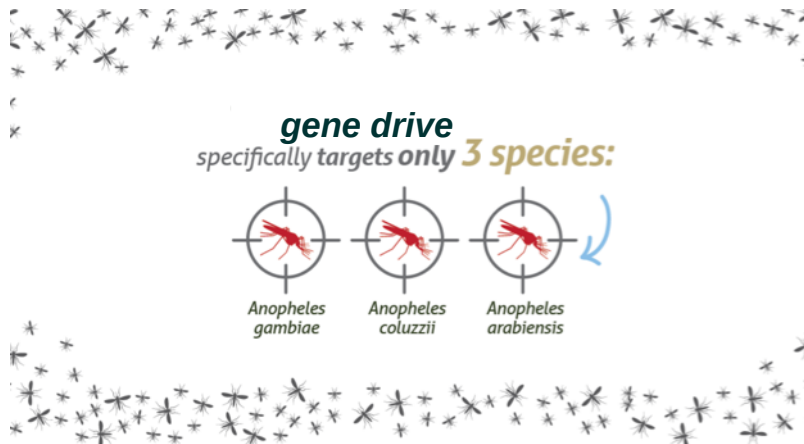
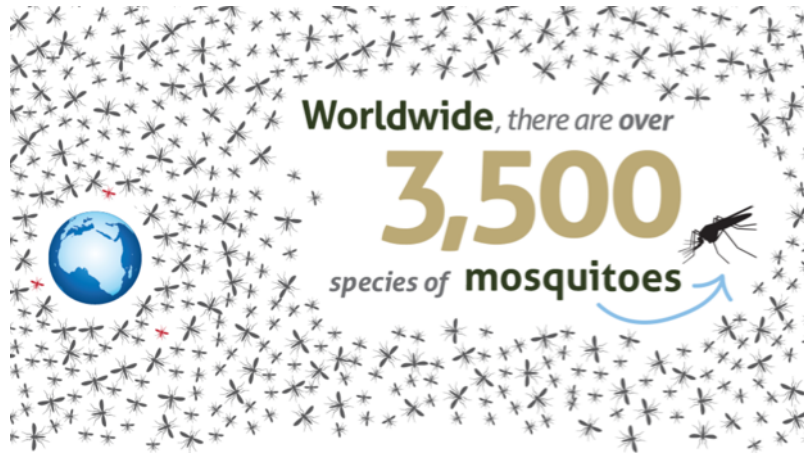


Generation 12:
Resistente Mutationen haben sich ausgebreitet:

Allele	Sequence	Total
WT	GGTGA GGAAGAAAGT GAGGAGGAGGTTGGTAGT	0% (0/70)
202 - TGAGGA	GGTGA GGAAGAAAG ----- GGAGGC TGGTAGT	52.9% (37/70)
203 - GAGGAG	GGCGA GGAAGAAAGT ----- GAGGC TGGTAGT	34.3% (24/70)
203 - GAG	GGTGA GGAAGAAAGT GAG-- GACGGT TGGTAGT	0.1% (1/70)
191 - GAGGAAGAAAGTGA	GGT CGATGTCGT ----- GAGGAGGC TGGTAGT	0.1% (1/70)
207 + AAAGTC	GGTGA GGAAGAAAGT GAG GAAGTCAGGAGGC TGGTAGT	10.0% (7/70)

Gene Drive gegen ein Fruchtbarkeitsgen in 2 Laborpopulationen
(Ziel: Reduktion oder Elimination der Population)

Tausende Mosquitospezies → Gene Drive richtet sich gegen die 3 wichtigsten Überträger



Ökologischen Auswirkungen:

- Ziel ist Reduktion von Malaria (nicht die Elimination von *Anopheles gambiae*)
- *Anopheles gambiae* repräsentiert winzigen Teil der Biomasse
- Keine Schlüsselspezies
- Kein spezialisierter Bestäuber
- Starke Assoziation mit dem Menschen
- größter ökologischer Effekt durch die Reduktion von Malaria (vgl. Bettnetze)

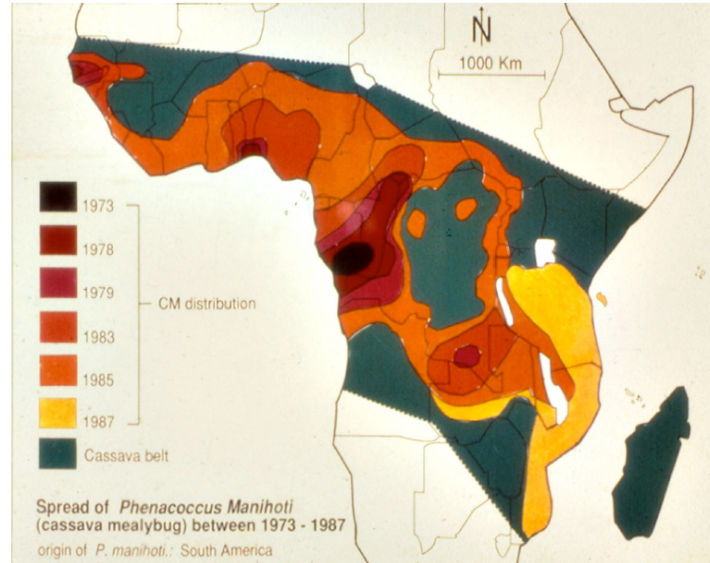
Wie könnte man sich die Implementation vorstellen?

Beispiel – Biologische Kontrolle des “Cassava mealybug”

Problem:

“Cassava mealybug” ein Maniok Schädling (*Phenacoccus manihoti*) wurde in den frühen 70er Jahren von Südamerika nach Afrika eingeschleppt und verbreitete sich dort rasant.

Schädling verursachte massive Ernteverluste und die Einführung resistenter Manioksorten war nicht erfolgreich.



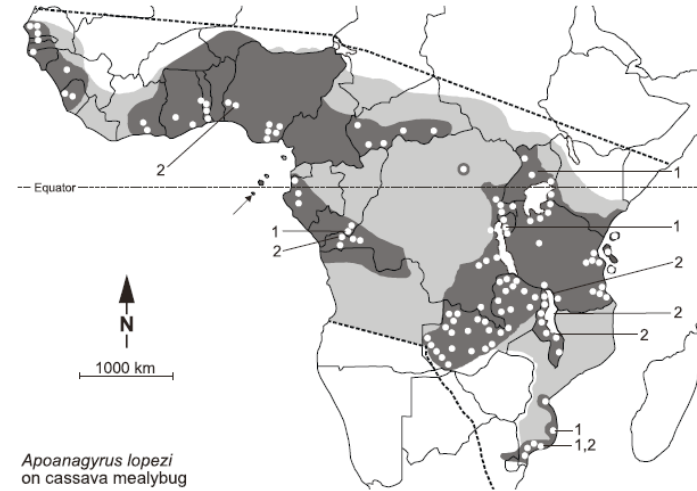
Wie könnte man sich die Implementation vorstellen?

Beispiel – Biologische Kontrolle des “Cassava mealybug”



Apoanagyrus lopezi
from Paraguay, Brazil

Parasitische Wespe nutzt Mealybug
als Wirt um ihre Eier zu legen



1981 – 1995: N=150 releases throughout tropical Africa

10 fache Reduktion des Befalls in 95% der Felder in allen Ländern
Mealybug stellte fuer die folgenden 15 Jahre kein Problem dar
Kosten: ~34 Millionen \$ in 35 Jahren → **Nutzen:** ~9-20 Milliarden \$

Fazit

Eine spezies-spezifische und effektive genetische Technologie mit der ganze Populationen modifiziert werden könn(t)en

Gene Drive Technologie funktioniert in Labor und ist durch CRISPR/Cas9 viel einfacher geworden

Gene Drive kann dazu verwendet werden die Übertragung von Krankheiten durch Mosquitopopulationen zu blockieren oder die Populationsgrösse zu reduzieren

Die Technologie ist weder permanent noch unaufhaltbar, sondern es besteht eher das Risiko ist dass der Effekt nicht nachhaltig genug ist (muss noch verbessert werden)

Keine Wunderwaffe sondern eine Technologie die zusammen mit anderen Interventionen angewendet werden kann und muss (e.g. Bettnetze, Impfungen)

Die Behandlung der legalen, ethischen und gesellschaftlichen Gesichtspunkte ist weniger weit vortgeschritten als die technischen Möglichkeiten





Fragen?