

## Feinschliff für „Genschere“

**Molekularbiolog/innen der ÖAW haben eine neue Technologie namens „CRISPR-Switch“ entwickelt. Die Genschere CRISPR/Cas9 wirkt damit besonders fehlerfrei und zielgerichtet.**

Kaum eine Gentechnologie hat in den letzten Jahren so viel Aufmerksamkeit in der Öffentlichkeit erregt und gleichzeitig die molekulare Grundlagenforschung so revolutioniert, wie die „Genschere“ CRISPR/Cas9. Sie ermöglicht es, das menschliche Genom ähnlich einfach zu bearbeiten wie eine Textdatei am Computer. Wenn man sich die DNA als ein Word-Dokument vorstellt, so wäre CRISPR/Cas9 der Word-Editor, mit dem sich Gene bzw. Wörter, gezielt verändern lassen.

Ursprünglich basiert die Technologie auf einem Trick der Evolution: Einem molekularen Abwehrmechanismus, mit dem sich Bakterien gegen Viren schützen, indem sie virale Sequenzen in ihrer eigenen DNA abspeichern und als „Suchbegriffe“ verwenden, um anschließend neu eindringende Viren zu erkennen und zu zerschneiden.

### **Schnell, robust, vielseitig einsetzbar**

Die Grundlagen für diese inzwischen in Labors weltweit verbreitete Technik wurden unter anderem auch in Wien gelegt. Nun zeigt ein Team Wiener Forscher/innen, die teilweise bereits an der Entdeckung der Genschere beteiligt waren, ein „Upgrade“ dieser Technologie, um Funktion und Zusammenspiel von Genen in Zukunft noch präziser erforschen zu können. Das berichten die Wissenschaftler/innen vom IMBA - Institut für Molekulare Biotechnologie der Österreichischen Akademie der Wissenschaften (ÖAW) und den Vienna BioCenter Core Facilities in der aktuellen Ausgabe der Fachzeitschrift „Nature Communications“.

Dieses Upgrade mit dem Namen „CRISPR-Switch“ erlaubt es, die Genschere zu unterschiedlichen Zeiten und an unterschiedlichen Orten in der Zelle effizient zu kontrollieren. Dafür sorgt eine Optimierung der „guide-RNA“, jenes zellulären Suchbegriffes, der die Genschere an ihr Ziel - ein bestimmtes Gen - führt. Dabei werden jene guide-RNAs unter die Kontrolle von bestimmten Proteinen - sogenannten „Cre-Rekombinasen“ - gestellt, die ein gezieltes An- und Ausschalten der Aktivität ermöglichen.

Das Novum von CRISPR-Switch: Die Technologie kann schnell und ohne erkennbare Undichtigkeiten eingeschaltet werden und wirkt besonders fehlerfrei und zielgerichtet. „Frühere Systeme basierten vor allem auf einer Regulierung des Enzyms Cas9, was aber Zellen schädigen und in einem Organismus zu möglichen Immunantworten führen kann. CRISPR-Switch ist dank der Optimierung der guide-RNAs und Cre-Rekombinasen besonders schnell, robust und vielseitig einsetzbar“, erklärt Krzysztof Chylinski von den Vienna BioCenter Core Facilities, der gemeinsam mit Maria Hubmann Co-Erstautor der aktuellen Publikation ist.

### **Neues Tool für komplexe Erkrankungen**

Ein Standard in den molekularen Biowissenschaften ist es, ein Gen gezielt auszuschalten, um festzustellen, welche Funktion es in der Zelle hat - man spricht hier von „Knock-out“ Genen. Gerade bei sehr komplexen Erkrankungen wie Krebs ist eine Ansammlung bestimmter Mutationen an verschiedensten Stellen im Genom, die zu verschiedenen Zeiten passieren, maßgeblich für die

Tumorentstehung.

„Mit CRISPR-Switch können wir nun auch erstmals Gene in definierter zeitlicher Reihenfolge ausschalten lassen. Gerade für die Untersuchung komplexer Krankheiten, die durch ein zeitliches Zusammenspiel vieler Gene entstehen, hat CRISPR-Switch großes Anwendungspotential“, so Ulrich Elling, Gruppenleiter am IMBA der ÖAW über die neue Technologie.

Die Wissenschaftler/innen konnten im Mausmodell nachweisen, dass die zeitliche Abfolge von Mutationen für die Tumorbildung entscheidend ist: Zwei bestimmte Gene, NF1 und TRP53, die mit der Entstehung eines besonders bösartigen Tumors, dem Glioblastom, in Verbindung stehen, wurden untersucht. Für die Krebsentstehung war tatsächlich maßgeblich, dass TRP53 vor NF1 ausgeschaltet wurde und nicht umgekehrt.

„Die CRISPR-Switch-Methode kann bei der Erforschung verschiedenster Tumorarten angewendet werden, wo wir nicht nur die molekularen Vorgänge der Krebsentstehung erforschen können, sondern auch jene noch wenig bekannte Mechanismen, die einen Tumor am Leben erhalten“, sagt Elling zum medizinischen Potential der neuen CRISPR-Switch Technologie.

#### **PUBLIKATION:**

“CRISPR-Switch regulates sgRNA activity by Cre recombination for sequential editing of two loci”, Krzysztof Chylinski and Maria Hubmann, Ruth E. Hanna, Connor Yanchus, Georg Michlits, Esther C. H. Uijttewaal, John Doench, Daniel Schramek, Ulrich Elling, Nature Communications, 2019  
DOI: [10.1038/s41467-019-13403-y](https://doi.org/10.1038/s41467-019-13403-y)