

Entwurf einer genetischen Studie

Einführung

Ein zentrales Ziel des GGB-Kurses ist, dass Sie am Ende des Kurses eine einfache, aber logisch geschlossene, genetische Studie entwerfen und die beim Entwurf getroffenen Entscheidungen (Modellorganismus, Mutageneseart, Wahl des Phänotyps etc.) begründen können. Wie wichtig diese Fähigkeit in unseren Augen ist, sehen Sie daran, dass der Entwurf einer solchen Studie fester Bestandteil der GGB-Prüfungen ist und dass dafür ca. ¼ der möglichen Punkte vergeben werden.

Erfahrungsgemäss tun sich aber viele von Ihnen bei dieser Aufgabe besonders schwer. Und das, obwohl Ihr allgemeines Faktenwissen über die im Kurs besprochenen Methoden, Techniken und Modellorganismen generell gut ist.

Deshalb beschäftigen wir uns in diesem Kursabschnitt nicht mit neuen Techniken oder Modellorganismen, sondern mit der Logik von genetischen Studien im Allgemeinen. Konkret geht es darum, diese Logik anhand berühmter Studien nachzuvollziehen und sie beim Entwurf einer eigenen Studie anzuwenden.

Reduktionistische und genetische Forschungsansätze: Ein Vergleich

Ein Grossteil der Forschungsansätze, die Sie bisher im Studium kennengelernt haben, könnte man als mechanistisch bzw. reduktionistisch bezeichnen. In solchen mechanistisch/reduktionistischen Ansätzen zerlegt man einen biologischen Prozess in seine Teilprozesse und physischen Komponenten und beobachtet dann das Verhalten oder die Eigenschaften dieser Komponenten. Dann versucht man den untersuchten Prozess über die Eigenschaften der Teilprozesse und Komponenten zu erklären. Klassische Beispiele für den mechanistisch/reduktionistischen Ansatz zur biologischen Forschung sind die Biochemie oder die Strukturbiochemie. Hier werden z.B. die einzelnen Komponenten eines Signaltransduktionssystems isoliert, deren Eigenschaften (z.B. Reaktionsraten, Bindungskonstanten oder Strukturen) bestimmt und daraus ein Modell für die Funktion des gesamten Systems entwickelt. Bei diesen Untersuchungen ist das Ziel, den Teilprozess (bzw. dessen Komponenten) so weit wie möglich so zu untersuchen wie er auch im natürlichen System stattfindet.

Bei genetischen Studien hingegen versucht man einen biologischen Prozess dadurch zu verstehen, dass man untersucht, was passiert, wenn dieser Prozess nicht mehr

wie gewohnt funktioniert. Konkret sucht man in genetischen Studien in einer Population nach Individuen, in denen der untersuchte Prozess auf veränderte Weise abläuft bzw. defekt ist. Stellt man nun fest, dass eine Veränderung des Prozesses mit einer genetischen Veränderung in einem bestimmten Gen einhergeht, so schliesst man daraus, dass dieses Gen am „natürlichen“ Ablauf dieses Prozesses beteiligt ist.

Der Unterschied in der Logik der beiden Ansätze zeigt sich recht anschaulich in der Namensgebung der gefundenen Gene. In mechanistischen Studien wird der Name üblicherweise entsprechend der natürlichen Funktion des Gens gegeben. So benennen Biochemiker Proteine und die codierenden Gene gewöhnlich nach der Funktion des aktiven Gens (z.B. Wachstumshormon- oder Phosphatase-Gen). Genetiker hingegen benennen ein Gen üblicherweise nach dem Effekt, der auftritt, wenn dieses Gen inaktiviert ist. So besteht z.B. die molekulare Funktion des von Genetikern benannten Gens *white* darin, den roten Farbstoff in den Augen von Fliegen zu erzeugen. Wird dieses Gen durch eine Mutation inaktiviert, haben die Fliegen weisse statt der sonst üblichen roten Augen.

Welche Funktion werden vermutlich von den Genen ausgeführt, für die sich Genetiker die Namen *wee* (schottisch für winzig) oder *wingless* ausgedacht haben.

Struktur einer typischen genetischen Studie

Im vorhergehenden Abschnitt haben wir die Logik des genetischen Forschungsansatzes mit der eines mechanistisch/reduktionistischen Ansatzes kontrastiert. Wie aber wendet man diese Logik des genetischen Ansatzes an, um in einer Studie ein bestimmtes biologisches Thema zu untersuchen?

Typischerweise bestehen genetische Studien aus folgenden Schritten:

- Auswahl von einem Modellorganismus und einem darin ablaufenden biologischen Prozess, der Einblicke in das gewählte Thema bietet.
- Auswahl eines Phänotyps, der als Indiz für eine Veränderung dieses Prozesses (z.B. Ausschaltung oder Überaktivität) verwendet werden kann.
- Erzeugung oder Identifizierung einer genetisch diversen Population.

- Systematisches Testen aller Individuen in der Population darauf, ob Sie den gesuchten Phänotyp aufweisen.
- Identifizierung der genotypischen Änderungen, die für die phänotypischen Änderungen verantwortlich sind.

Im Entwurf von jedem dieser Schritte muss eine Vielzahl von Entscheidungen getroffen werden. Vielleicht noch wichtiger als diese Einzelentscheidungen ist es aber, dass die Entscheidungen über die Schritte hinweg aufeinander abgestimmt sind. In den folgenden Abschnitten werden die einzelnen Schritte und die in ihnen bestehenden Wahlmöglichkeiten im Detail besprochen und auf die Interaktionen zwischen diesen Wahlmöglichkeiten hingewiesen.

Von der Forschungsfrage zum konkreten Experiment

Eine der grossen Stärken des genetischen Forschungsansatzes ist die Fähigkeit neue breitgefächerte Themen anzugehen, selbst wenn bisher nur wenig Vorwissen zu diesem Thema zur Verfügung steht. Genetische Studien beginnen also oft mit sehr breiten Fragestellungen (z.B. „Wie koordinieren vielzellige Organismen ihre Entwicklung?“ oder „Wie passen sich Organismen an ihre Umwelt an?“).

Eine der zentralen Aufgaben beim Entwurf einer genetischen Studie ist es dann diese generelle Fragestellung in ein genetisches Experiment an einem bestimmten biologischen Prozess und (Modell-)Organismus zu übersetzen. Das Thema der Homöostase könnte z.B. genauso gut an der Regulierung des menschlichen Blutdrucks wie an der Kontrolle von zentralen Metaboliten im bakteriellen Stoffwechsel untersucht werden. Beide Ansätze sind legitim, werden aber sicherlich unterschiedliche Erkenntnisse liefern. Es gilt hier, die Ziele der Studie mit der Wahl von Modellorganismus und Prozess in Einklang zu bringen.

Bei der Wahl des Modellorganismus und des zu untersuchenden Prozesses besteht eine weitere Herausforderung: Die Leistungsfähigkeit der experimentellen Werkzeuge, die für einen Modellorganismus zur Verfügung stehen, gegenüber der Relevanz der erwarteten Resultate muss abgewogen werden. So bieten einfache einzellige Organismen wie Bakterien und Hefen in der Regel leistungsfähigere experimentelle Methoden (mehr Individuen können schneller und präziser mit geringeren Kosten untersucht werden), aber die erhaltenen Einblicke können vielleicht nicht ohne weiteres auf die höheren Organismen übertragen werden, denen oft das eigentliche Interesse gilt.

Ein konkretes Beispiel hilft vielleicht, diesen Punkt zu verdeutlichen. RNA-Splicing findet zwar auch in *Saccharomyces cerevisiae* statt, könnte also dort unter Zuhilfenahme der sehr leistungsfähigen Methoden der Hefegenetik untersucht werden. Jedoch sind Introns in den Genen der Hefe viel seltener als in Säugetiergenen. Nur ca. 5% der Hefegene haben ein Intron, während >90% der Säugetiergene Introns besitzen. Ausserdem verursacht die Entfernung von Introns aus dem Hefegenom nur relativ moderate Phänotypen (z.B. leicht verlangsamtes Wachstum). Es stellt sich also die Frage, ob das Splicing in Hefezellen wirklich die gesamte Komplexität des Splicings in höheren Organismen abbildet und ob dieser Nachteil durch die höhere Effizienz der für die Hefegenetik zur Verfügung stehenden Forschungsmethoden aufgewogen wird.

Auswahl des Phänotyps

Nach der Wahl von Modellorganismus und zu untersuchendem Prozess entscheidet man, welcher Phänotyp in der Studie verwendet wird.

Wie bereits besprochen ist einer der zentralen Schritte in einer genetischen Studie die Suche nach Individuen, in denen der untersuchte Prozess anders abläuft als in Wildtyp-Individuen.

Oft ist der untersuchte Prozess aber nicht direkt sichtbar oder messbar. Untersucht man z.B. den Prozess, durch den eine Fliege einen Geruchsstoff wahrnimmt, so kann man diesen Prozess nicht direkt beobachten. Um Individuen zu identifizieren, in denen dieser Prozess anders abläuft, müsste man also eine sicht- bzw. messbare Eigenschaft finden, die man als Indiz für einen veränderten Prozessablauf benutzen könnte. Diese Eigenschaft ist der Phänotyp.

Bleiben wir bei dem obigen Beispiel der Geruchserkennung, so könnte man einen Phänotyp verwenden, der auf der Tendenz der Fliegen basiert sich zu einer Quelle eines attraktiven Geruchsstoffs hinzubewegen. Ist in einer individuellen Fliege der Prozess der Geruchswahrnehmung durch eine Mutation gestört, wird diese Fliege den attraktiven Geruchsstoff nicht mehr wahrnehmen und sich auch nicht mehr zu der Geruchsquelle hinbewegen. Man könnte also Fliegen in einen Käfig mit zwei Kammern geben und in einer der Kammern den Geruchsstoff deponieren. Anschliessend sammelt man alle Tiere ein, die in der Kammer verbleiben, die keinen Geruchsstoff enthält. Man könnte dann annehmen, dass diese Individuen Mutanten sind, bei denen der Geruchsprozess gestört ist.

Das Problem bei diesem Phänotyp ist, dass es neben einer Störung des Geruchssinns noch viele andere Gründe gibt, warum individuelle Fliegen in der geruchsfreien Kammer verbleiben würden. Man würde beispielsweise erwarten, dass Fliegen, deren Orientierungssinn gestört

ist, ebenso Probleme haben könnten sich zu einer Geruchsquelle zu bewegen. Würde man diesen Phänotyp also in einer Studie verwenden, würde man neben Genen, welche die Geruchswahrnehmung beeinflussen, auch viele Gene finden, die nicht wirklich etwas mit der Geruchswahrnehmung zu tun haben, sondern die phänotypisierte Eigenschaft auf eine andere Art beeinflussen.

An welchen Prozessen könnten Gene beteiligt sind, die, wenn mutiert, auch den oben beschriebenen „bewegt sich nicht zu attraktiver Geruchsquelle“-Phänotyp hervorruft?

Ein gut gewählter Phänotyp zeichnet sich also unter anderem durch hohe Spezifität aus. Idealerweise sollte der Phänotyp also nicht (oder kaum) durch die Beeinflussung anderer Prozesse verursacht werden.

Eine höhere Spezifität lässt sich meist durch aufwendigere Phänotypisierungsmethoden (z.B. biochemische Assays oder komplexe Verhaltenstests) erreichen, aber diese Spezifität muss dann mit einem höheren Arbeitsaufwand erkauft werden.

Dies bringt uns zu der Frage der Effizienz des Phänotyps. Je nach Art des Modellorganismus und der gesuchten Mutation müssen in einer Studie Tausende, Hunderttausende oder vielleicht sogar Milliarden Individuen untersucht werden. Dies setzt natürlich dem Arbeitsaufwand, der für die Phänotypisierung eines einzelnen Individuums aufgewendet werden kann, enge Grenzen. Beispielsweise könnte eine Phänotypisierung, die auf einem biochemischen Assay (z.B. die Messung der Aktivität eines an dem untersuchten Prozess beteiligten Enzyms) basiert, bei entsprechender Automatisierung und Parallelisierung relativ problemlos auf eine Population von einigen Tausend Individuen angewendet werden. Für Populationen mit Hunderttausenden Individuen würde eine solche Phänotypisierung schon sehr aufwendig und bei Milliarden von Individuen schlicht unmöglich.

Grössere Screens mit Hunderttausenden Individuen, wie Sie sie im Kursabschnitt zur *Drosophila*-Genetik kennengelernt haben, verwenden daher in der Regel Phänotypen, die durch eine einfache visuelle Inspektion der Individuen erkannt werden können und deshalb sehr effizient zu bestimmen sind.

Ein Phänotyp, der besonders effizient ist, also auch für die Untersuchung von sehr grossen Populationen anwendbar ist, ist die Fähigkeit des Organismus unter bestimmten Wachstumsbedingungen zu überleben und sich fortzupflanzen. Diese Art von Phänotyp wird oft bei Studien an Mikroorganismen angewendet. Hier kann man nämlich selbst sehr grosse Population von Individuen mit geringstem Aufwand in Labor halten. Eine Milliarde Bakterien können, wie Sie wissen, problemlos in einem Milliliter Nährlösung gehalten werden.

Eine visuelle Phänotypisierung einzelner Individuen ist aufgrund ihrer geringen Grösse bei Mikroorganismen hingegen recht schwer.

Diese Leichtigkeit, mit der grosse Zahlen von Individuen gehalten werden können, kombiniert mit der relativen Schwierigkeit einzelne Individuen zu Phänotypisieren, macht die Verwendung eines „Überlebens“-Phänotyps bei der Untersuchung von Mikroorganismen sehr attraktiv. Man muss nicht mehr jedes einzelne Individuum untersuchen, sondern alle Individuen, die den Phänotyp nicht aufzeigen, sterben und nur solche, die den Phänotyp aufzeigen, überleben und können einfach „eingesammelt“ werden. Genetische Studien, die auf solchen „Überlebens“-Phänotypen beruhen, bezeichnet man in der Mikrobiologie als Selektionsstudien und unterscheidet sie so von Screening-Studien, in denen der Phänotyp von jedem Organismus einzeln bestimmt werden muss.

Die Herausforderung bei Selektionsexperimenten besteht meist darin, Wachstumsbedingungen zu finden, bei denen das Überleben der Individuen ein Indiz für eine Veränderung des untersuchten Prozesses ist. Ist der gesuchte Phänotyp eine Antibiotikaresistenz, so ist die Wahl der Wachstumsbedingungen recht trivial. Ist der gesuchte Phänotyp aber z.B. der Verlust der Infektiosität, so wird der Entwurf der entsprechenden selektiven Wachstumsbedingungen dem Forscher schon einiges an Kreativität abverlangen.

Ein weiterer Faktor, der bei der Auswahl des Phänotyps in Betracht gezogen werden muss, ist die Plausibilität, dass der gesuchte Phänotyp in der untersuchten Population auch auftritt. Dazu muss man sich fragen, welche Art von Mutationen den gesuchten Phänotyp hervorrufen könnten, ob die verwendete Mutagenesemethode (siehe unten) auch diese Art von Mutationen erzeugt und ob die Population gross genug ist, dass in mindestens eine dieser Mutationen in den beteiligten Genen auftritt.

Ein überspitztes Beispiel verdeutlicht diesen Punkt: Will man die Prozesse verstehen, die an der Entwicklung von Flügeln beteiligt sind, wäre es sicherlich interessant, wenn man in einer Population von Mäusen Individuen finden würde, denen Flügeln wachsen. Dieser Phänotyp ist sicherlich spezifisch und die Phänotypisierung ist auch sehr effizient, aber die Wahrscheinlichkeit, dass dieser Phänotyp tatsächlich auftritt, geht vermutlich gegen Null.

Erzeugung einer genetisch diversen Population

Wie bereits erwähnt suchen wir in einer genetischen Studie nach Individuen, in denen der untersuchte Prozess aufgrund einer genetischen Veränderung anders abläuft als in einem Wildtyp-Individuum. Prinzipiell könnte man bei dieser Suche auf die Art von natürlich auftretenden

Mutationen setzen, die auch die Evolution in der Natur „vorantreiben“ (sogenannte Spontanmutationen). Man könnte also im Labor eine Population des Modelorganismus halten und in dieser Population kontinuierlich nach Individuen Ausschau halten, die den gesuchten Phänotyp zeigen. Viele der ersten genetischen Studien (z.B. Mendels Untersuchungen an Erbsen und Morgans frühe Untersuchungen an *Drosophila*) basierten auf Spontanmutationen.

Spontanmutationen treten aber nur sehr selten auf. Man müsste also den Phänotyp von sehr vielen Individuen untersuchen, bis man unter den vielen Wildtyp-Individuen auch nur ein einziges Individuum findet, das den gesuchten Phänotyp aufweist. Dies ist auch der Grund, warum frühe Genetiker wie Mendel oder Morgan nicht gezielt nach Phänotypen gesucht haben, die auf Veränderungen in einem bestimmten biologischen Prozess hinweisen, sondern dankbar jeden Phänotyp untersucht haben, der sichtbar war – egal mit welchem Prozess dieser Phänotyp verknüpft war.

In heutigen genetischen Studien, in denen man gezielt einen bestimmten biologischen Prozess untersuchen will und in denen man nach einem ganz spezifischen Phänotyp sucht, wäre das Warten auf Spontanmutationen hingegen viel zu langwierig. Man erhöht also die Mutationsrate künstlich, indem man die Individuen (bzw. deren Gameten) einem Mutagen aussetzt und dann die so mutagenisierten Individuen untersucht. Die erzeugten Mutationen sind zufällig über das gesamte Genom verteilt.

Im Kurs haben Sie schon einige Mutagene kennengelernt (z.B. EMS, Röntgen- und UV-Strahlung, Transposons). Die unterschiedlichen Mutagene erzeugen jeweils unterschiedliche Arten von Mutationen. EMS und UV-Strahlung erzeugen vor allem Einzelbasensubstitutionen und kurze Indels (*insertion/deletion*-Mutationen), wohingegen Transposons Insertionsmutationen hervorrufen.

Der Effekt einer Transposoninsertion in ein Gen ist fast immer ein völliger Verlust der Genfunktion. EMS- und UV-induzierte Mutationen können hingegen sowohl einen Funktionsverlust (*loss-of-function*-Mutation) des betroffenen Gens verursachen (z.B. durch eine *frameshift*-Mutation oder durch ein neu erzeugtes Stoppcodon), als auch die Entstehung neuer Funktionen bewirken (*gain-of-function*-Mutation). Beispielsweise könnte eine Basensubstitution zu einer *missense*-Mutation in einem Protein führen, das dadurch eventuell eine neue Funktion erlangt. Ein Beispiel für eine solche Mutation wäre eine mutierte Kinase, die durch eine Aminosäuresubstitution eine veränderte Spezifität erlangt und nun ein neues Substrat phosphoryliert und so eine andere Signalkaskade in der Zelle aktiviert. Oder ein Enzym könnte durch eine *missense*-Mutation die Fähigkeit erlangen eine neue Reaktion zu katalysieren und so den zellulären Stoffwechsel verändern.

Solche *gain-of-function*-Mutationen sind im Vergleich zu *loss-of-function*-Mutationen aber relativ selten. Der Grund für diese unterschiedliche Häufigkeit ist statistischer Natur. Die Wahrscheinlichkeit für eine Mutation ist an jeder Stelle im Genom ungefähr gleich hoch. Unter den potentiell möglichen Einzelbasenmutationen verursachen jedoch relativ viele einen Funktionsverlust, während nur sehr wenige (oft nur eine einzige) Mutationen einen Funktionsgewinn verursachen, der den gesuchten Phänotyp auslöst.

Die weitaus grösste Anzahl der durch eine Zufallsmutagenese verursachten Mutationen sind allerdings weder *gain-of-function* noch *loss-of-function*-Mutationen, sondern sogenannte „stille“ Mutationen, welche keinerlei phänotypische Veränderung hervorrufen (z.B. Mutationen, die in Introns oder zwischen Genen fallen).

Um während der Mutagenese mit genügend hoher Wahrscheinlichkeit funktional relevante Mutationen zu erzeugen, muss man in Kauf nehmen, dass man auch eine grosse Anzahl von stillen Mutationen erzeugt, die später dann die Suche nach den Mutation erschweren, die für die phänotypische Veränderung verantwortlich sind (siehe unten).

Ein anderer Ansatz zur Erstellung von genetisch diversen Populationen besteht darin, Mutationen nicht zufällig, sondern systematisch einzuführen. Ein Beispiel für diesen Ansatz sind die sogenannten Kock-Out-Libraries, die Sie im Kursabschnitt zur Hefegenetik kennengelernt haben. Dort wurde für jedes einzelne Gen im Hefegenom eine Zelllinie erstellt, in der dieses Gen entfernt wurde. Diese Zelllinien können nun gemischt werden und erzeugen so eine Population von Hefezellen, von der man weiss, dass in jeder der Zellen in der Population jeweils ein Gen komplett fehlt und dass alle Genverlust-Mutanten repräsentiert sind.

Streng genommen wird die so erzeugte Population nicht wirklich alle Genverlust-Mutanten enthalten. Von welchen Genen werden die Genverlust-Mutanten zwangsläufig in der Population fehlen?

Wenn nun eine genetisch diverse Population für eine konkrete genetische Studie erzeugt werden soll, stellen sich zwei zentrale Fragen: Welche Mutagenesemethode soll verwendet werden und wie gross muss die mutagenisierte Population sein?

Die Art der Mutagenesemethode ist stark durch die Art der Mutationen bestimmt, von der wir annehmen, dass sie den gesuchten Phänotyp hervorrufen könnte. Sucht man z.B. nach einem Phänotyp, der vermutlich nur durch eine *gain-of-function*-Mutation hervorgerufen werden kann, so sollte man eine Mutagenesemethode wählen, die auch tatsächlich *gain-of-function*-Mutationen hervorrufen kann.

Welche der ihnen bekannten Mutagene können gain-of-function-Mutationen erzeugen?

Die Art der Mutationen beeinflusst auch die Grösse der Population, die für die Studie erzeugt werden muss. Erwartet man z.B., dass der gesuchte Phänotyp nur durch ganz wenige sehr spezifische *gain-of-function*-Mutationen erzeugt werden kann, so muss man eine entsprechend grosse Population von Individuen erzeugen, um eine statistische Chance zu haben, dass diese seltenen Mutationen auch tatsächlich in der Population vorhanden sind. Erwartet man hingegen, dass der gesuchte Phänotyp durch eine Funktionsverlustmutante in mehreren verschiedenen Genen erzeugt werden kann, so kann die Grösse der Population entsprechend kleiner sein.

*Was wäre die Mindestzahl der Individuen, die man in einer genetischen Studie untersuchen müsste, wenn man alle möglichen Einzelgen-Knock-Out-Mutanten der Hefe *S. cerevisiae* abdecken wollte?*

*Wie gross wäre diese Zahl für eine Studie, die alle durch eine Einzelbasensubstitution hervorgerufenen gain-of-function-Mutationen in *Drosophila* abdecken will?*

Bestimmung der verantwortlichen genotypischen Variation

Nachdem die Individuen der genetisch diversen Population auf ihren Phänotypen getestet wurden, hat man hoffentlich einige Individuen gefunden, die den gesuchten Phänotyp aufweisen. Der nächste Schritt ist dann die Bestimmung der für den Phänotyp verantwortlichen genotypischen Variation. Die hierbei verwendeten Methoden hängen dabei stark davon ab, auf welche Weise die genetische Diversität erzeugt wurde.

Wurde die genetische Diversität z.B. durch die Insertion von Transposons erreicht, kann man die bekannte Sequenz des Transposons nutzen, um dessen Insertionsort im Genom und somit das betroffene Gen gezielt zu identifizieren. Einen derartigen Ansatz haben Sie im Abschnitt zur Bakteriengenetik kennengelernt.

Im Gegensatz dazu hinterlassen die durch EMS-Mutagenese bzw. Röntgen- oder UV-Strahlung eingeführten Mutationen keine typische Sequenzsignatur, die bei der Identifizierung des getroffenen Gens helfen könnte. Wurde also bei der Erzeugung der genetisch diversen Population eine dieser Mutagenesemethoden verwendet, muss das gesamte Genom systematisch nach den Mutationen abgesucht werden, die den Phänotyp verursacht haben. Dabei ist es oft nicht sinnvoll direkt das gesamte Genom der Mutante zu sequenzieren. Stattdessen grenzt man zunächst die durch die Mutation getroffene Genomregion durch andere Methoden ein. Methoden zur Kartierung von Mutationen haben Sie im Teil *Drosophila*-Genetik kennengelernt. Bei dieser Analyse ist es auch hilfreich

in Betracht zu ziehen, welche Art von Mutationen normalerweise durch das verwendete Mutagen verursacht werden. Wurde Röntgenstrahlung verwendet, so sind durch Doppelstrangbrüche induzierte grosse strukturelle Veränderungen auf Chromosomenebene zu erwarten (Translokationen etc.). Die Regionen, die von solchen strukturellen Variationen getroffen wurden, identifiziert man vielleicht besser durch Mappen der chromosomalen Strukturen (z.B. mit der BioNano Mapping Methode die Sie im „Methoden der Biologischen Analytik“ Kurs kennengelernt haben). Die ungefähre Position von Punktmutationen oder kurzen Indels, wie sie durch UV und EMS verursacht werden, bestimmt man hingegen vielleicht besser durch komplementationsbasierte Ansätze, wie Sie sie in den Kursteilen zu *Drosophila* oder Hefe kennengelernt haben.

Anschliessend verwendet man dann die Sequenzanreicherungsmethoden und Sequenzierungsmethoden die im Kursabschnitt „Methoden der Genomik“ behandelt wurden.

Comment [s1]: Ein Beispiel nennen