

Informationspapier zu Gene Drives

Erstellt für die Ethikplattform der BOKU

Dezember 2020

Bernd Giese und Wolfgang Liebert
Institut für Sicherheits- und Risikowissenschaften (ISR)
Universität für Bodenkultur (BOKU)
Dänenstraße 4
1190 Wien (Austria)

Einleitung

Die Beeinflussung von Populationen wildlebender Arten durch ihre gentechnische Manipulation wird bereits seit einigen Jahrzehnten angestrebt (Curtis 1968; Hamilton 1967; Serebrovskii 1940). Zunächst wurden dafür gentechnisch veränderte Organismen (GVOs) freigesetzt, deren Transgene nicht darauf angelegt waren, sich in den Populationen wildlebender Arten durch vertikalen Gentransfer (hier: Kreuzung von trans-gegen mit wildlebenden Arten) zu verbreiten, da sie zum vollständigen oder zumindest geschlechtsspezifischen Tod der Nachkommen führen (Thomas et al. 2000). Darüber hinaus konnten sie nur den Mendelschen Regeln entsprechend an jeweils maximal 50 Prozent der Nachkommen vererbt werden. Und weil diese Transgene zudem keinen Fitnessvorteil für die Organismen mit sich brachten, hätte sich ihre Anzahl innerhalb der betroffenen Populationen auch dann verringert, wenn geschlechtsreife Nachkommen entstanden wären. Mit einer Reihe von gentechnischen Systemen, deren Entwicklung vor allem in den letzten Jahren vorangetrieben wurde, ist es nun jedoch möglich, auch Gene in Populationen zu verbreiten, die eigentlich zu einem Fitnessverlust (bis hin zur Letalität) führen. Sie ermöglichen es, Eigenschaften an mehr als 50 Prozent der Nachkommen weiterzugeben und damit über die Mendelschen Vererbungsregeln hinausgehen (vgl. Review von Champer et al. 2016). Natürliche Formen dieser mit dem Sammelbegriff „Gene Drives“ bezeichneten Systeme waren schon in der Mitte des 20. Jahrhunderts bei einigen Arten beobachtet worden (Beeman et al. 1992; Craig et al. 1960; Vanderplank 1944). Sie wurden als „selfish genes“ – als egoistische Gene – bezeichnet (Burt 2003).

Die Grundvoraussetzung für die Eignung von Arten für den Einsatz von Gene Drives ist ihre (zumindest teilweise) geschlechtliche Vermehrung. Wenn sie zusätzlich eine rasche Generationenfolge aufweisen, könnten gentechnisch erzeugte Gene Drives möglicherweise effizient eingesetzt werden, um entweder neue Eigenschaften innerhalb von Populationen zu verbreiten oder Populationen bzw. eine ganze Art zu unterdrücken. Angesichts dieser Anwendungsformen stellen Gene Drives einen Paradigmenwechsel im Bereich der Gentechnik dar: Mit ihnen ist die Freisetzung von GMOs erstmals nicht auf die ausgebrachten Individuen beschränkt, sondern bewusst

auf den vertikalen Gentransfer zwecks Ausbreitung innerhalb natürlicher Populationen hin angelegt. Während bisherige GVO-Anwendungen auf räumlich und zeitlich begrenzte Freisetzungen hin ausgelegt waren, zielen Freisetzungen von Gene Drive tragenden Organismen bewusst auf eine Ausbreitung jenseits der bisherigen räumlichen und zeitlichen Grenzen, deren Ausmaße und Kontrollierbarkeit noch schwer abschätzbar bzw. höchst umstritten sind (Simon et al. 2018; Frieß et al. 2020a; Giese et al. 2020; Frieß et al. 2020b).

Freisetzungen von Gene Drives zur Beeinflussung von wildlebenden Populationen hat es über erste Versuche in Laboren hinaus bislang jedoch noch nicht gegeben.

Diskutierte Anwendungsfelder

Diskutiert wird bereits eine ganze Reihe von Anwendungsfeldern (NASEM 2016). Schon seit vielen Jahren sind Ansätze der Populationskontrolle zur Bekämpfung von krankheitsübertragenden Stechmücken erforscht worden. Und so ist die Entwicklung von Gene Drives zur Eindämmung von Malaria derzeit von allen Anwendungsarten am weitesten fortgeschritten (Burt u. a. 2018). Daneben gibt es Pläne, Gene Drives gegen landwirtschaftliche Schädlinge, wie die Kirschessigfliege *Drosophila suzukii*, einzusetzen, die in bestimmten Regionen zu hohen Verlusten beim Anbau von Obst führt (Buchman u. a. 2018). Aber auch zur Unkrautbekämpfung wurden Gene Drives bereits vorgeschlagen (Esvelt u. a. 2014). Ein weiterer Anwendungsbereich, bei dem es wie im Falle der Landwirtschaft sehr darauf ankommt, die Ausbreitung des Gene Drive auf das Einsatzgebiet zu beschränken, ist die Vernichtung von invasiven Arten in Regionen, wo sie erhebliche Schäden hervorrufen. Für bestimmte Inseln und insbesondere in Neuseeland wurde deshalb bereits die Verwendung von Gene Drives vor allem gegen eingewanderte Nagetiere wie Mäuse oder Ratten erwogen (Leitschuh u. a. 2017). Daneben sind in der zunehmenden Zahl von Veröffentlichungen zu Gene Drives auch Anwendungen zum Naturschutz durch die Ertüchtigung bedrohter Arten ins Spiel gebracht worden (Esvelt u. a. 2014).

Die Hoffnungen stützen sich bei all diesen Verwendungen auf die Erwartung, dass mit Gene Drives ein im Vergleich zu bisherigen Methoden präzises, kostengünstiges und weitreichendes Mittel zur Verfügung steht (Courtier-Orgogozo et al. 2017).

Methodiken

Mittlerweile können verschiedene Ansätze zur gentechnischen Erzeugung von Gene Drives unterschieden werden. Sie gehen zum Teil auf natürlich vorkommende Gene Drives zurück. Gene Drives lassen sich entsprechend ihres Wirkmechanismus in "passive" und "aktive" Techniken unterscheiden (Frieß et al. 2019). Passive Systeme sichern die Weitergabe bestimmter Gene an nachfolgende Generationen, indem nur die Nachkommen überleben, die eine bestimmte Kombination von genetischen Elementen (z. B. ein Toxin und das Antitoxin) tragen. Bei aktiven Gene Drives wird durch das "Kopieren" genetischer Information zwischen homologen Chromosomen durch Homing-Endonuklease-Gene (HEG) die genomische Modifikation im Optimalfall an alle Nachkommen weitergegeben. Daneben gibt es Drives, die darauf beruhen,

dass (enzymatische) Mechanismen eine Verschiebung des Geschlechterverhältnisses innerhalb einer Population bewirken, indem nur noch Nachkommen eines Geschlechts entstehen. Die Entwicklung der HEG-Gene Drives steht in engem Zusammenhang mit dem Aufschwung, den die Genome-Editing-Methoden durch die Verwendung der „Genschere“ CRISPR/Cas genommen haben. Seit ihrer ersten Beschreibung als neues molekularbiologisches Werkzeug im Jahr 2012 wird die CRISPR/Cas-Methode als universelles Werkzeug der Molekularbiologie angesehen (Jinek u. a. 2012; Doudna und Charpentier 2014). Durch CRISPR/Cas wurde auch die Gene Drive-Technologie billiger und leichter adaptierbar (Courtier \square Orgogozo et al. 2017). Auf dieser Basis sind bei Insekten Vererbungsraten von nahezu 100 % erreicht worden (DiCarlo et al. 2015). Das heißt, fast alle Nachkommen waren mit dem Gene Drive ausgestattet. Diese hohe Effizienz zeigt sich auch in der von den beteiligten Forschern gewählten Semantik: Der mithilfe von CRISPR/Cas entwickelte Gene Drive wurde als „mutagene Kettenreaktion“ bezeichnet (Gantz und Bier 2015).

Neben der Effektivität, die abhängig vom jeweiligen Gene Drive-Typ von einer Vielzahl von Randbedingungen abhängt, sind auch sehr unterschiedliche Freisetzungsmengen von Gene Drive-tragenden Organismen (GDOs) notwendig, um einen Schwellenwert zu erreichen, ab dem eine Verbreitung des Gene Drives in der jeweiligen Population möglich ist. Eine entsprechende Differenzierung von Gene Drives bezieht sich auf die Anzahl benötigter GDOs innerhalb einer Population, die nötig sind, um eine fortschreitende Verbreitung innerhalb der Zielpopulation zu erreichen. Dabei wird zwischen High- und Low-Threshold-Techniken unterschieden. High-Threshold-Methoden benötigen eine große Anzahl an freigesetzten Individuen, die entweder über eine einzelne oder mehrere aufeinanderfolgende Massenfreisetzungen mit der Zielpopulation in Kontakt gebracht werden. Solche Techniken versprechen theoretisch eine höhere Kontrollierbarkeit, da im Falle unvorhergesehener Folgen die Freisetzungen gestoppt werden könnten (Giese et al. 2020). Low-Threshold-Methoden zeichnen sich demgegenüber durch eine hohe Invasivität aus. Nur eine geringe Anzahl an initial freigesetzten Gene Drive-Trägern ist theoretisch notwendig, um das angestrebte Ziel zu erreichen.

Für Gene Drives auf der Basis der Genschere CRISPR/Cas deuten die ersten Laborversuche und Modellierungen darauf hin, dass sie vergleichsweise niedrige Schwellenwerte besitzen. Wenige freigesetzte Organismen würden in ihrem Falle also ausreichen, um eine Verbreitung des Gene Drive in Gang zu setzen und möglicherweise eine ganze Population zu verändern (Noble et al. 2017; Frieß et al. 2019).

Darüber hinaus können Gene Drives in (zumindest theoretisch) selbstlimitierende und selbsterhaltende Gene Drive-Systemen unterschieden werden. Selbstlimitierende Gene Drive-Techniken sind darauf ausgerichtet, nur für eine begrenzte Dauer bzw. Zahl an Generationen zu persistieren, während selbsterhaltende Gene Drives potenziell unbegrenzt in Ökosystemen fortbestehen können (Frieß et al. 2020a).

Fehleranfälligkeit und Beherrschbarkeit

Die derzeit in der Entwicklung befindlichen Gene Drives – und dabei vor allem die CRISPR/Cas basierten Systeme – versprechen ein großes Potenzial. Allerdings wird ihre Effektivität immer noch durch einige Probleme behindert. Zu den größten Hindernissen zählen Resistenzen gegen das Gene Drive-Konstrukt, u.a. durch Mutationen in der Erkennungssequenz des CRISPR/Cas-Systems (Unckless et al. 2016; Callaway 2017). Falls die resistenten Organismen gegenüber den Gene Drive-Trägern einen Selektionsvorteil besitzen, reichern sie sich in Populationen allmählich an und behindern dadurch die Ausbreitung des Gene Drives. Neben den vom Gene Drive selbst hervorgerufenen oder zufällig entstehenden Mutationen kann auch die hohe genetische Variabilität einer Zielpopulation die Ausbreitung von Gene Drives behindern. Denn damit steigt auch die Wahrscheinlichkeit, dass Allele vorliegen, die gegenüber der Integration eines Gene Drives resistent sind. Die genetische Variabilität ist beispielsweise sehr hoch in einer Malaria übertragenden Stechmückenart (*Anopheles gambiae*), die in Afrika, das von Malaria besonders betroffen ist, sehr verbreitet ist (Miles u.a. 2016). Eine mögliche Konsequenz daraus wäre, dass mehrere Gene Drive-Konstrukte entwickelt und freigesetzt werden müssten, um die genetische Vielfalt ausreichend abzudecken (Liebert 2021).

Trotz der oftmals noch recht eingeschränkten Wirksamkeit, die in den bisherigen Laborversuchen deutlich wurde (Lin und Potter 2016; Marshall und Akbari 2017; Buchman et al. 2018) kann eine effektive Ausbreitung von Gene Drives keinesfalls ausgeschlossen werden. Beim heutigen Stand der Entwicklung ist noch unklar, ob Gene Drives überhaupt beherrschbar sind, wenn sie nicht durch die genannten Effekte bereits früh in ihrer Ausbreitung behindert werden. Auch wenn seine Effizienz niedrig ist oder Resistenz gegen das Gene Drive-Konstrukt auftritt, sollte im Zweifelsfall davon ausgegangen werden, dass sie in der Population der Zielart invasiv sind (Noble et al. 2018).

Für ein erfolgreiches Risikomanagement wäre es notwendig, jederzeit technische Optionen zur Beschränkung anwenden zu können und im Optimalfall gar Möglichkeiten zu besitzen, um die erzeugten Wirkungen rückgängig zu machen. Ein Rückgängigmachen von Gene Drives in diesem Zusammenhang könnte allerdings nur äußerst beschränkt, wenn überhaupt, möglich werden. Es ist jedenfalls derzeit nicht möglich, verlässliche Aussagen über die Wirksamkeit von Möglichkeiten zur Begrenzung oder gar zur Reversibilität von Gene Drives unter realistischen Freilandbedingungen zu treffen (Giese et al. 2020). Verschiedene Maßnahmen zur Begrenzung ihrer Verbreitung sowie für die Inaktivierung der induzierten Funktionalitäten werden diskutiert (Esvelt u. a. 2014; Giese et al. 2020; Noble et al. 2018). Ein erster Versuch zur Inaktivierung eines HEG-Gene Drives in Hefe ist zwar bereits durchgeführt worden (DiCarlo et al. 2015b), aber der Nachweis einer Wirksamkeit von Sicherheitsmechanismen bei Insekten oder anderen höheren Organismen ist bislang nicht erbracht worden. Es gibt aber Entwicklungsarbeiten in diese Richtung. Dabei erscheinen jedoch Zweifel angebracht, ob alle Einflüsse von Freilandbedingungen vor einer Freisetzung ausreichend in den Tests der Sicherheitsmechanismen abgebildet werden können. Auch ist unklar, ob die natürliche

Genesequenz der betroffenen Organismen nach der Ausbreitung von Homing-Endonuklease-basierten Gene Drives wieder vollständig hergestellt werden kann.

Da es sich bei Gene Drives um sich selbst verbreitende, künstlich erzeugte genetische Elemente handelt, steht ihre Kontrollierbarkeit auch prinzipiell in Frage. Im Gegensatz zu bislang bekannten GVOs würden Gene Drives als naturähnliche technische Konstrukte autonom in der Natur agieren (Liebert 2021). Jenseits des klassisch-modernen Kontrollparadigmas für Technologien stellen sich grundsätzliche Fragen nach der Möglichkeit stabiler Konstruktion und von Monitoring und Kontrollierbarkeit nach einem Einsatz (Liebert und Wölcher 2018; Liebert 2021). Zu beachten ist auch, dass Gene Drives über nationale Grenzen hinweg – und potenziell sogar global – Wirksamkeit entfalten könnten. Dies wirft erhebliche Probleme auf hinsichtlich der Entscheidung über einen denkbaren Einsatz sowie nationaler und internationaler Regulierungsmechanismen.

Potenzielle ökologische Effekte

Nicht-Zieleffekte, wie der Transfer von Genen des Gene Drive oder des vollständigen Drives auf Nicht-Zielarten (aufgrund der Paarung verwandter Arten oder anderer möglicher Wege des DNA-Transfers) können erhebliche ungewollte Folgen haben. Genfluss zwischen den Zielarten und verwandten Arten kann dann auftreten, wenn eine Hybridisierung mit lebensfähigen Nachkommen grundsätzlich möglich ist (NASEM 2016). Für verschiedene relevante Mosquitoarten wurden solche Prozesse beobachtet (Triplet u.a. 2011). Schlimmstenfalls könnte der Gene Drive-Mechanismus auf andere Arten übergehen und erhebliche Folgen in Ökosystemen erzeugen. Auf dem Wege der Einkreuzung könnte auch die Fitness von verwandten Arten verändert werden. Darüber hinaus können Mutationen des Gene Drives zu unvorhersehbaren Wirkungen innerhalb der direkt oder indirekt betroffenen Arten und anschließend zu Folgewirkungen im jeweiligen Ökosystem führen.

Generell wäre die Identifizierung der Anzahl, der Art und Qualität von wesentlichen Interaktionen innerhalb von Ökosystemen, die von der Zielart abhängig sind, von zentraler Bedeutung, um unerwünschte Folgen einschätzen zu können. Die vom Gene Drive direkt betroffene Art muss hinsichtlich ihrer vielfältigen Rollen und ihrer Einnischung in Ökosystemen untersucht werden (Hayes et al. 2018; David et al. 2013; Lalyer et al. 2020). Diese Interaktionen und gegenseitige Abhängigkeiten, beispielsweise über Nahrungsketten, oder erwähnte Hybridisierungseffekte könnten zu nicht absehbaren Kaskadeneffekten in Ökosystemen führen (Fang 2010). Darüber hinaus müssen mögliche indirekte Effekte berücksichtigt werden, beispielsweise wenn eine Art durch einen Gene Drive unterdrückt oder gänzlich vernichtet wird und in Folge ihre ökologische Nische von einer anderen Art ersetzt wird, die aber eine ähnliche oder die gleiche unerwünschte Rolle für menschliche Gesundheit oder Wohlstandsziele spielt (David et al. 2013).

So können neben der Funktionsfähigkeit von Ökosystemen auch sogenannte Ökosystemleistungen, d.h. für den Menschen wichtigen Dienste von Ökosystemen,

und somit auch sozio-ökonomische Prozesse von den möglichen Folgewirkungen betroffen sein.

Auch wenn eine ganze Reihe von ernsthaften Risiken und möglichen gefährlichen Ereignissen für ökologische Zusammenhänge identifiziert worden sind, die zu untersuchen wären (Hayes et al. 2018), so bestehen derzeit erhebliche Unsicherheiten und weitgehendes Nicht-Wissen, was konkret zu durchdenkende Einsatzszenarien von Gene Drives angeht (NASEM 2016). Hinsichtlich des Einflusses von Gene Drives auf betroffene Ökosysteme ergeben sich deshalb viele offene Fragen in Bezug auf ihre direkten und indirekten Wirkungen sowie auch ihre Kontrollierbarkeit und Reversibilität (von Gleich 2020).

Notwendigkeit von prospektiver Technikfolgenabschätzung

Die Modifikation des Genoms einer gesamten Population durch Gene Drives stellt eine sehr hohe Eingriffstiefe in Naturprozesse dar, die potenziell mit langen Wirkungsketten in Raum und Zeit verbunden sein kann (Frieß et al. 2020a). Daher erscheint eine frühzeitige (und rechtzeitige) Technikfolgenabschätzung erforderlich, die den laufenden Forschungsprozess mit einbezieht und jeglichem Einsatz vorausgehen muss (Liebert und Wölcher 2018, Giese 2018, Liebert und Schmidt 2018, Liebert 2021). Eine Analyse der wissenschaftlich-technischen Forschung und Entwicklung sollte zum Ziel haben, die Entwicklungsdynamik selbst und die angestrebte Nutzung von Gene Drives transparent und besser verstehbar und einschätzbar zu machen. Hierzu ist ein Herangehen an den wissenschaftlich-technischen Kern notwendig. Technikcharakterisierungen – auch in der Bandbreite der unterschiedlichen erforschten Typen von Gene Drives und hinsichtlich des Neuartigkeitscharakters des Ansatzes – sind ein wesentlicher Schritt. Analysen der Ambivalenzen (Technikpotenziale versus Risiken und unerwünschten Folgen, Technikversprechungen versus Entwicklungsrisiken, Technikvisionen versus Unsicherheiten und Nicht-Wissen, etc.) sollten darauf aufbauen. Von besonderer Bedeutung sind die expositionsbestimmenden Eigenschaften von Gene Drives und Verletzlichkeitsanalysen von ökosystemaren Zusammenhängen. Herausgearbeitet werden sollten auch absehbare oder mögliche sozio-ökonomische Folgen, erkennbare Freiheitsgrade für die Gestaltung von Gene Drive-Konstrukten und mögliche Grenzen der Bestimmbarkeit bzw. Voraussagbarkeit der möglichen Folgewirkungen von Anwendungen. Hinzutreten sollte eine Analyse und Einschätzung von sozio-technischen Alternativen zur Anwendung von Gene Drives.

Resumé

Gene Drives markieren einen Paradigmenwechsel im Bereich von GVOs. Mit Gene-Drives entsteht jetzt eine neue Art der Anwendung von Gentechnik, die auf der gentechnischen Invasion von Wildpopulationen beruht. Mit ihrer Verbreitung können eine Reihe von Effekten innerhalb der vom Gene Drive ursprünglich betroffenen Art sowie innerhalb von Ökosystemen einhergehen, deren Folgewirkungen und

Bedeutung für Mensch und Umwelt noch weitgehend unerforscht sind (Lalyer et al. 2020). Technikfolgenforschung, die eine angemessene Risikoforschung umfasst, erscheint daher unabdingbar.

Potenziell stellen Gene Drives eine weitaus stärkere Intervention in Ökosysteme dar, als bisherige GVO-Freisetzen. Die Wirkmächtigkeit dieser neuartigen Technologie erweitert das Spektrum seiner Funktionalitäten um tendenziell weitreichende räumliche und zeitliche Wirkungen. Dass die bestehenden Ansätze und Vorgaben zur Risikobewertung von GVOs auch für Gene Drives anwendbar sind, ohne wesentliche risikorelevante Eigenschaften zu vernachlässigen, wird dementsprechend angezweifelt (Simon, Otto, und Engelhard 2018; von Gleich 2020). Denn bisher ist insbesondere unklar, ob einmal freigesetzte Gene Drives in ihrer Ausbreitung kontrolliert oder begrenzt werden könnten.

Literatur

- Beeman, R. W., K. S. Friesen, und R. E. Denell. 1992. „Maternal-effect selfish genes in flour beetles“. *Science* 256 (5053): 89–92. <https://doi.org/10.1126/science.1566060>.
- Buchman, Anna, John M. Marshall, Dennis Ostrovski, Ting Yang, und Omar S. Akbari. 2018. „Synthetically engineered Medea gene drive system in the worldwide crop pest *Drosophila suzukii*“. *PNAS* 115 (18): 4725–30. <https://doi.org/10/gdb9wc>.
- Burt, Austin. 2003. „Site-Specific Selfish Genes as Tools for the Control and Genetic Engineering of Natural Populations.“ *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 270 (1518): 921–28. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2319>.
- Burt, Austin, Mamadou Coulibaly, Andrea Crisanti, Abdoulaye Diabate, und Jonathan K. Kayondo. 2018. „Gene Drive to Reduce Malaria Transmission in Sub-Saharan Africa“. *Journal of Responsible Innovation* 5 (sup1): S66–80. <https://doi.org/10.1080/23299460.2017.1419410>.
- Callaway, Ewen. 2017. „Gene drives meet the resistance“. *Nature* 542: 15. <https://doi.org/10.1038/542015a>.
- Champer, J., A. Buchman, und O. S. Akbari. 2016. „Cheating Evolution: Engineering Gene Drives to Manipulate the Fate of Wild Populations“. *Nat Rev Genet* 17 (3): 146–59. <https://doi.org/10.1038/nrg.2015.34>.
- Courtier-Orgogozo, Virginie, Baptiste Morizot, und Christophe Boëte. 2017. „Agricultural Pest Control with CRISPR-based Gene Drive: Time for Public Debate: Should We Use Gene Drive for Pest Control?“ *EMBO Reports*, Mai, e201744205. <https://doi.org/10.15252/embr.201744205>.
- Craig, G. B. Jr., W. A. Hickey, und R. C. VandeHey. 1960. „An Inherited Male-Producing Factor in *Aedes aegypti*“. *Science* 132 (3443): 1887–89.
- Curtis, C. F. 1968. „Possible use of translocations to fix desirable genes in insect pest populations. *Nature* 218, 368–369 (1968).“ *Nature* 218: 368–69.
- David, Aaron S., Joe M. Kaser, Amy C. Morey, Alexander M. Roth, und David A. Andow. 2013. „Release of genetically engineered insects: a framework to identify potential ecological effects“. *Ecology and Evolution* 3 (11): 4000–4015. <https://doi.org/10.1002/ece3.737>.
- DiCarlo, James E., Alejandro Chavez, Sven L. Dietz, Kevin M. Esvelt, und George M. Church. 2015a. „RNA-Guided Gene Drives Can Efficiently Bias Inheritance in Wild Yeast“.

- . 2015b. „Safeguarding CRISPR-Cas9 Gene Drives in Yeast“. *Nature Biotechnology* 33 (12): 1250–55. <https://doi.org/10.1038/nbt.3412>.
- Doudna, Jennifer A., und Emmanuelle Charpentier. 2014. „The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9“. *Science* 346 (6213). <https://doi.org/10.1126/science.1258096>.
- Esvelt, Kevin M., Andrea L. Smidler, Flaminia Catteruccia, und George M. Church. 2014. „Concerning RNA-Guided Gene Drives for the Alteration of Wild Populations“. *ELife* 3 (Juli): e03401. <https://doi.org/10.7554/eLife.03401>.
- Fang, Janet. 2010. „Ecology: A World without Mosquitoes“. *Nature* 466 (7305): 432–34. <https://doi.org/10.1038/466432a>.
- Frieß, Johannes L., Arnim von Gleich, und Bernd Giese. 2019. „Gene Drives as a New Quality in GMO Releases—a Comparative Technology Characterization“. *PeerJ* 7 (Mai): e6793. <https://doi.org/10/ggfwbh>.
- Frieß, Johannes L., Bernd Giese, und Arnim von Gleich. 2020a. „Technology Characterisation“. In *Gene Drives at Tipping Points: Precautionary Technology Assessment and Governance of New Approaches to Genetically Modify Animal and Plant Populations*, herausgegeben von Arnim von Gleich und Winfried Schröder, 1–28. Cham: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-38934-5_1.
- Frieß, Johannes L., Mathias Otto, Samson Simon, Bernd Giese, und Wolfgang Liebert. 2020b. „Umbruch in der Biotechnologie: Sprung aus dem Labor in die Natur“. *Natur und Landschaft* 5 (Mai): 209–14. <https://doi.org/10/ggznr3>.
- Gantz, V. M., und E. Bier. 2015. „Genome Editing. The Mutagenic Chain Reaction: A Method for Converting Heterozygous to Homozygous Mutations“. *Science* 348 (6233): 442–44. <https://doi.org/10.1126/science.aaa5945>.
- Giese, Bernd. 2018. „Gene Drives – Eine neue Qualität bei der Freisetzung gentechnisch veränderter Organismen“. In: M.Decker, R.Lindner,S.Lingner, C.Scherz, M.Soutoudeh (Hrsg.):Grand Challenges_ meistern_ Der Beitrag der Technikfolgenabschätzung. Baden-Baden: Nomos/Sigma, S. 159-170
- Giese, Bernd, Arnim von Gleich, und Johannes L. Frieß. 2020. „Alternative Techniques and Options for Risk Reduction of Gene Drives“. In *Gene Drives at Tipping Points: Precautionary Technology Assessment and Governance of New Approaches to Genetically Modify Animal and Plant Populations*, herausgegeben von Arnim von Gleich und Winfried Schröder, 167–85. Cham: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-38934-5_7.
- Gleich, Arnim von. 2020. „Steps Towards a Precautionary Risk Governance of SPAGE Technologies Including Gene-Drives“. In *Gene Drives at Tipping Points: Precautionary Technology Assessment and Governance of New Approaches to Genetically Modify Animal and Plant Populations*, herausgegeben von Arnim von Gleich und Winfried Schröder, 219–43. Cham: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-38934-5_9.
- Hamilton, W. D. 1967. „Extraordinary sex ratios. A sex-ratio theory for sex linkage and inbreeding has new implications in cytogenetics and entomology.“ *Science* 156: 477–88.
- Hayes, Keith R., Geoffrey R. Hosack, Genya V. Dana, Scott D. Foster, Jessica H. Ford, Ron Thresher, Adrien Ickowicz, u. a. 2018. „Identifying and Detecting potentially Adverse Ecological Outcomes associated with the Release of Gene-Drive modified Organisms“. *Journal of Responsible Innovation* 5 (sup1): S139–58.
- Jinek, M., K. Chylinski, I. Fonfara, M. Hauer, J. A. Doudna, und E. Charpentier. 2012. „A Programmable Dual-RNA-Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity“. *Science* 337 (6096): 816–21. <https://doi.org/10.1126/science.1225829>.

- Lalyer, Carina R., Arnim von Gleich, und Bernd Giese. 2020. „Vulnerability Analysis of Ecological Systems“. In *Gene Drives at Tipping Points*, herausgegeben von Arnim von Gleich und Winfried Schröder, 57–77. Cham: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-38934-5_3.
- Leitschuh, Caroline M., Dona Kanavy, Gregory A. Backus, Rene X. Valdez, Megan Serr, Elizabeth A. Pitts, David Threadgill, und John Godwin. 2017. „Developing Gene Drive Technologies to eradicate Invasive Rodents from Islands“. *Journal of Responsible Innovation* 5 (sup1): S121–38.
- Liebert, Wolfgang; und Jakob Wölcher. 2018.: „Gene Drive: auf CRISPR/Cas9 basierende mutagene Kettenreaktion als Ultima Ratio zur Bekämpfung von Malaria?“ In: M.Decker, R.Lindner,S.Lingner, C.Scherz, M.Soutoudeh (Hrsg.):Grand Challenges meistern – Der Beitrag der Technikfolgenabschätzung. Baden-Baden: Nomos/Sigma, S. 171-181
- Liebert, Wolfgang; und Schmidt, Jan. 2018.: „Ambivalenzen im Kern der wissenschaftlich-technischen Dynamik. Ergänzende Anforderungen an eine Theorie der Technikfolgenabschätzung“. In: TATuP Technikfolgenabschätzung Theorie und Praxis 27/1, S. 52-58.
<http://www.tatup.de/index.php/tatup/article/view/94>
- Liebert, Wolfgang. 2021: “CRISPR-based Gene Drives for Combatting Malaria: Need for an Early Stage Technology Assessment.” To be published in a peer-reviewed book based on a joined FAO/IAEA conference 2017: Hendrichs, J.; Pereira, R.; Vreysen, M. (Eds.): Area-wide Integrated Pest Management: Development and Field Application. Boca Raton, FL, USA: CRC Press 2021, S. 795-808
- Lin, C. C., und C. J. Potter. 2016. „Non-Mendelian Dominant Maternal Effects Caused by CRISPR/Cas9 Transgenic Components in *Drosophila Melanogaster*“. *G3 Genes, Genomes, Genetics* 6 (November 2016): 3685–91.
<https://doi.org/10.1534/g3.116.034884>.
- Marshall, John M., und Omar S. Akbari. 2017. „Can CRISPR-based gene drive be confined in the wild? A question for molecular and population biology“. *bioRxiv*, August, 1–16.
<https://doi.org/10.1101/173914>.
- Miles, A., M. Lawniczak, M. Donnelly, and D. Kwiatkowski. 2016. “Natural diversity of the malaria vector *Anopheles gambiae*.” In *bioRxiv* preprint. doi: <http://dx.doi.org/10.1101/096289>
- NASEM – National Academies of Sciences Engineers and Medicine. 2016. *Gene Drives on the Horizon: Advancing Science, Navigating Uncertainty, and Aligning Research with Public Values*. Washington, DC: The National Academies Press.
<https://doi.org/10.17226/23405>.
- Noble, C., J. Min, J. Olejarz, J. Buchtahl, A. Chavez, A. Smidler, E. DeBenedictis, G. Church, M. Nowak, and K. Esvelt. 2016. “Daisy-chain gene drives for the alteration of local populations.” In *bioRxiv* – preprint. doi: <http://dx.doi.org/10.1101/057307>
- Noble, C.; J. Olejarz, K. Esvelt, G. Church, and M. Nowak. 2017. “Evolutionary dynamics of CRISPR gene drives.” *Science Advances* 3(4): e1601964
- Noble, Charleston, Ben Adlam, George M Church, Kevin M Esvelt, und Martin A Nowak. 2018. „Current CRISPR gene drive systems are likely to be highly invasive in wild populations“. Herausgegeben von Michael Doebeli. *eLife* 7 (Juni): e33423.
<https://doi.org/10.7554/eLife.33423>.
- Serebrovskii, A. S. 1940. „On the possibility of a new method for the control of insect pests.“ *Zool. Zhurnal* 19: 618–30.
- Simon, Samson, Mathias Otto, und Margret Engelhard. 2018. „Synthetic gene drive: between continuity and novelty“. *EMBO Reports*, April, e45760.

- Thomas, D. D., C. A. Donnelly, R. J. Wood, und Luke Alphey. 2000. „Insect population control using a dominant, repressible, lethal genetic system. In: *Science* 287: 2474–76.
- Tripet, F., P. Lounibos, D. Robbins, J. Moran, N. Nishimura, and E. Blosser. 2011. “Competitive reduction by satyrization? Evidence for interspecific mating in nature and asymmetric reproductive competition between invasive mosquito vectors.” *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 85: 265-270.
- Unckless, Robert L., Andrew G. Clark, und Philipp W. Messer. 2016. „Evolution of Resistance Against CRISPR/Cas9 Gene Drive“. *Genetics*: genetics.116.197285. <https://doi.org/10.1534/genetics.116.197285>.
- Vanderplank, F. L. 1944. „Hybridization between *Glossina* Species and Suggested New Method for Control of Certain Species of Tsetse“. *Nature* 154 (November): 607–8.