

**Untersuchung der Relevanz unterschiedlicher
Asthma-Suszeptibilitätsgene im Modell-
organismus *Drosophila melanogaster***

DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von
Kimberley Kallsen
Borstel, 2013

Erster Gutachter: Prof. Dr. Thomas Roeder

Zweiter Gutachter: Prof. Dr. Holger Heine

Tag der mündlichen Prüfung: 25.04.2013

Zum Druck genehmigt: 25.04.2013

gez. Prof. Dr. Wolfgang Duschl, Dekan

meinen Lieben

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	1
1.1	Asthma	1
1.1.1	Mechanismen des Asthma	1
1.1.1.1	Allergische Sensibilisierung	1
1.1.1.2	Asthmatischer Anfall und chronische Entzündung	3
1.1.2	Asthma-Pathogenese	4
1.1.2.1	Das Asthma-Suszeptibilitätsgen <i>ORMDL3</i>	6
1.1.2.2	Die Asthma-Suszeptibilitätsgene <i>STAT3</i> und <i>STAT6</i> und der JAK/STAT-Signalweg bei <i>Drosophila</i>	11
1.1.2.3	Die Bedeutung des Atemwegsepithels für die Asthma-Pathogenese .	13
1.2	<i>Drosophila melanogaster</i> als Modellorganismus bei der Asthma- Forschung	15
1.3	Zielsetzung	17
2	MATERIAL UND METHODEN	19
2.1	Material	19
2.1.1	Geräte	19
2.1.2	Fliegenstämme	20
2.1.3	Chemikalien und Substanzen	20
2.1.4	Kits	22
2.1.5	Antikörper	22
2.1.6	Primer	22
2.1.6.1	Primer für die Klonierung	22
2.1.6.2	cDNA-Synthese-Primer	22
2.1.6.3	Mikroarray-Primer	23
2.1.6.4	Quantitative <i>Real-Time</i> PCR (qRT-PCR)-Primer	23
2.1.7	Weitere Materialien	23
2.1.8	Puffer und Medien	24
2.1.9	Software	25
2.2	Methoden	25
2.2.1	Erzeugung der Fliegenlinie UAS-ORMDL	25
2.2.2	Stammhaltung	27
2.2.3	Behandlung der Larven und Fliegen	27
2.2.3.1	Genetische Manipulation	27
2.2.3.2	Zigarettenrauch	28
2.2.3.3	Hypoxie	29
2.2.3.4	Natrium-Dextransulfat (DSS)	29
2.2.4	Analyse der Larven und Fliegen	29
2.2.4.1	Immunhistochemie und Konfokale Laserscanmikroskopie	29

2.2.4.2	Mikroskopie	30
2.2.4.3	Isolierung der Gesamt-RNA	30
2.2.4.4	Reverse Transkription	30
2.2.4.5	qRT-PCR-Analysen.....	31
2.2.4.6	Mikroarray-Analysen	31
2.2.4.7	Lipid-Analysen.....	33
2.2.5	Bioinformatik	34
2.2.5.1	Vergleich von Überlebensraten	34
2.2.5.2	Hypoxie-Empfindlichkeit.....	34
2.2.5.3	Lipid-Analysen.....	34
2.2.5.4	Mikroarray-Analysen	34
2.2.5.5	qRT-PCR-Analysen.....	35
3	ERGEBNISSE.....	36
3.1	Die funktionelle Relevanz von ORMDL in den Atemwegen von <i>Drosophila melanogaster</i>	36
3.1.1	<i>Ormdl</i> -Überexpression erhöht die Stressantwort des Atemwegsepithels....	36
3.1.1.1	<i>Ormdl</i> -Überexpression in den adulten Tracheen verstärkt die Morbidität infolge von Zigarettenrauch.....	36
3.1.1.2	<i>Ormdl</i> -Überexpression in den larvalen Tracheen verstärkt die Hypoxie-Antwort.....	38
3.1.2	<i>Ormdl</i> -Überexpression moduliert die Menge von mehreren Lipiden in den larvalen Tracheen	42
3.1.3	<i>Ormdl</i> -Deregulierung moduliert Entwicklungs-, Stress- und Reparatur-assoziierte Prozesse und Signalwege in den Tracheen.....	44
3.2	Die funktionelle Relevanz von ORMDL im Darm von <i>Drosophila melanogaster</i>.....	51
3.2.1	<i>Ormdl</i> -Überexpression erhöht die durch Natrium-Dextransulfat induzierte Morbidität	51
3.2.2	<i>Ormdl</i> -Deregulierung moduliert Entwicklungs-, Stress- und Reparatur-assoziierte Prozesse und Signalwege im Darm	52
3.2.3	<i>Ormdl</i> -Überexpression modifiziert die Abundanz verschiedener Lipide im larvalen Darm.....	57
3.3	Die funktionelle Relevanz des JAK/STAT-Signalweges in den Atemwegen von <i>Drosophila melanogaster</i>.....	59
3.3.1	Die Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges in den larvalen Tracheen induziert eine Barrierestörung und Melanisierung.....	59
3.3.1.1	Die Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges hat keinen Einfluss auf die <i>Septate Junction</i> -Struktur der Tracheen	61
3.3.2	Die Beteiligung der Wnt- und TGF- β -Signalwege an der durch die JAK/STAT-Aktivierung induzierten Barrierestörung und Melanisierung	62

3.3.3	Die Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges hat keinen Einfluss auf die Genexpression von Enzymen der Melanisierungskaskade.....	67
4	DISKUSSION.....	69
4.1	ORMDL in den Atemwegen von <i>Drosophila melanogaster</i>.....	69
4.1.1	<i>Ormdl</i> -Überexpression erhöht die Stressantwort des Atemwegsepithels....	69
4.1.2	<i>Ormdl</i> -Überexpression moduliert den Anteil von Asthma-relevanten Lipiden in den larvalen Tracheen.....	71
4.1.3	<i>Ormdl</i> -Deregulierung moduliert Entwicklungs-, Stress- und Reparatur-assoziierte Prozesse und Signalwege in den Tracheen.....	72
4.2	ORMDL im Darm von <i>Drosophila melanogaster</i>.....	74
4.2.1	<i>Ormdl</i> -Deregulierung moduliert Entwicklungs-, Stress- und Reparatur-assoziierte Prozesse und Signalwege im Darm.....	75
4.2.2	<i>Ormdl</i> -Überexpression modifiziert die Menge verschiedener Lipide im larvalen Darm.....	76
4.3	Der JAK/STAT-Signalweg in den Atemwegen von <i>Drosophila melanogaster</i>.....	77
4.3.1	Die Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges in den larvalen Tracheen induziert eine Barrierestörung und Melanisierung.....	77
4.3.2	Die Beteiligung der Wnt- und TGF- β -Signalwege an der durch die JAK/STAT-Aktivierung induzierten Barrierestörung und Melanisierung.....	78
4.3.3	Die Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges hat keinen Einfluss auf die Genexpression von Enzymen der Melanisierungskaskade.....	80
4.4	Fazit: Die funktionelle Relevanz des Asthma-Suszeptibilitätsgens <i>ORMDL3</i> und des Asthma-assoziierten JAK/STAT-Signalweges im Atemwegsepithel.....	80
4.5	Ausblick.....	85
5	ZUSAMMENFASSUNG.....	86
6	SUMMARY.....	88
7	LITERATURVERZEICHNIS.....	90
8	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	101
9	ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	104
10	TABELLENVERZEICHNIS.....	106
11	CURRICULUM VITAE.....	107
12	DANKSAGUNG.....	110
13	EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG.....	112
14	ANHANG.....	

1 Einleitung

In der vorliegenden Dissertation wurde die Relevanz unterschiedlicher Asthma-Suszeptibilitätsgene eingehend untersucht. Die folgende Einleitung beginnt daher mit einer Beschreibung des aktuellen Wissensstandes über wesentliche Aspekte des Asthma bronchiale. Anschließend wird auf durch Suszeptibilitätsgene vermittelte genetische Prädispositionen eingegangen, die eine wichtige Rolle bei der Asthma-Pathogenese einnehmen¹. Im Anschluss wird die Bedeutung des Atemwegsepithels für die Asthma-Pathogenese herausgestellt und abschließend die Verwendung des Modellorganismus *Drosophila melanogaster* für die Untersuchungen erläutert.

1.1 Asthma

Asthma stellt mit weltweit etwa 300 Millionen Erkrankten ein ernsthaftes globales Gesundheitsproblem dar². Die Pathogenese dieser Erkrankung ist dessen ungeachtet noch weitestgehend unklar. Die *Global Initiative for Asthma* beschrieb Asthma 2011 als „eine chronisch-entzündliche Erkrankung der Atemwege, bei der verschiedene Zellen und deren Komponenten von Bedeutung sind. Die Krankheit ist durch eine Hyperreagibilität der Atemwege charakterisiert, die rezidivierend, besonders nachts und am frühen Morgen, zu Keuchen, Atemnot und Engegefühl in der Brust und Husten führt. Diese Symptome sind in der Regel mit einer umfassenden, obgleich variablen Atemwegsobstruktion der Lunge assoziiert, die jedoch oft, entweder spontan oder durch Behandlung, reversibel ist“³. Klinisch unterscheidet man allergisches und nicht allergisches Asthma, wobei sich allergisches Asthma durch das Vorhandensein Allergen-spezifischer Immunglobulin (Ig) E-Antikörper auszeichnet¹.

1.1.1 Mechanismen des Asthma

1.1.1.1 Allergische Sensibilisierung

Am Atemwegsepithel sind spezialisierte Antigen-präsentierende Zellen, die sogenannten Dendritischen Zellen (DCs), lokalisiert, die Allergene aufnehmen und prozessieren können⁴ (Abbildung 1). Allergene sind *per se* harmlose Umwelt-Antigene, die jedoch bei Allergikern eine Immunantwort induzieren können⁵. DCs, die durch Aufnahme dieser Allergene aktiviert wurden, präsentieren die Allergenfragmente über Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC) II-Moleküle. Gemeinsam mit der Expression kostimulatorischer Moleküle sowie der Ausprägung eines bestimmten Zytokinprofils

nehmen diese Zellen starken Einfluss auf die Differenzierung von naiven T-Zellen zu T-Helfer-2 (T_H2)-Zellen⁴. Den T_H2 -Zellen werden von B-Zellen, die ebenfalls mit den Allergenen in Kontakt gekommen sind und dieses aufgenommen und prozessiert haben, identische Allergenfragmente präsentiert. Durch die Bindung an die allergenspezifischen Rezeptoren der T_H2 -Zellen und die darauf folgende Freisetzung kostimulatorischer Zytokine wird ein Isotyp-Wechsel der Ig-Klassen von IgM zu IgE induziert. Das Resultat einer anschließenden Reifung sind klonale Plasmazellen, die Allergen-spezifische IgE-Antikörper produzieren und sezernieren. Diese IgE-Antikörper binden wiederum mit ihrer konstanten Region an hochaffine $Fc\epsilon RI$ -Rezeptoren auf Mastzellen und sind von großer Bedeutung beim asthmatischen Anfall (Abschnitt 1.1.1.2)⁴.

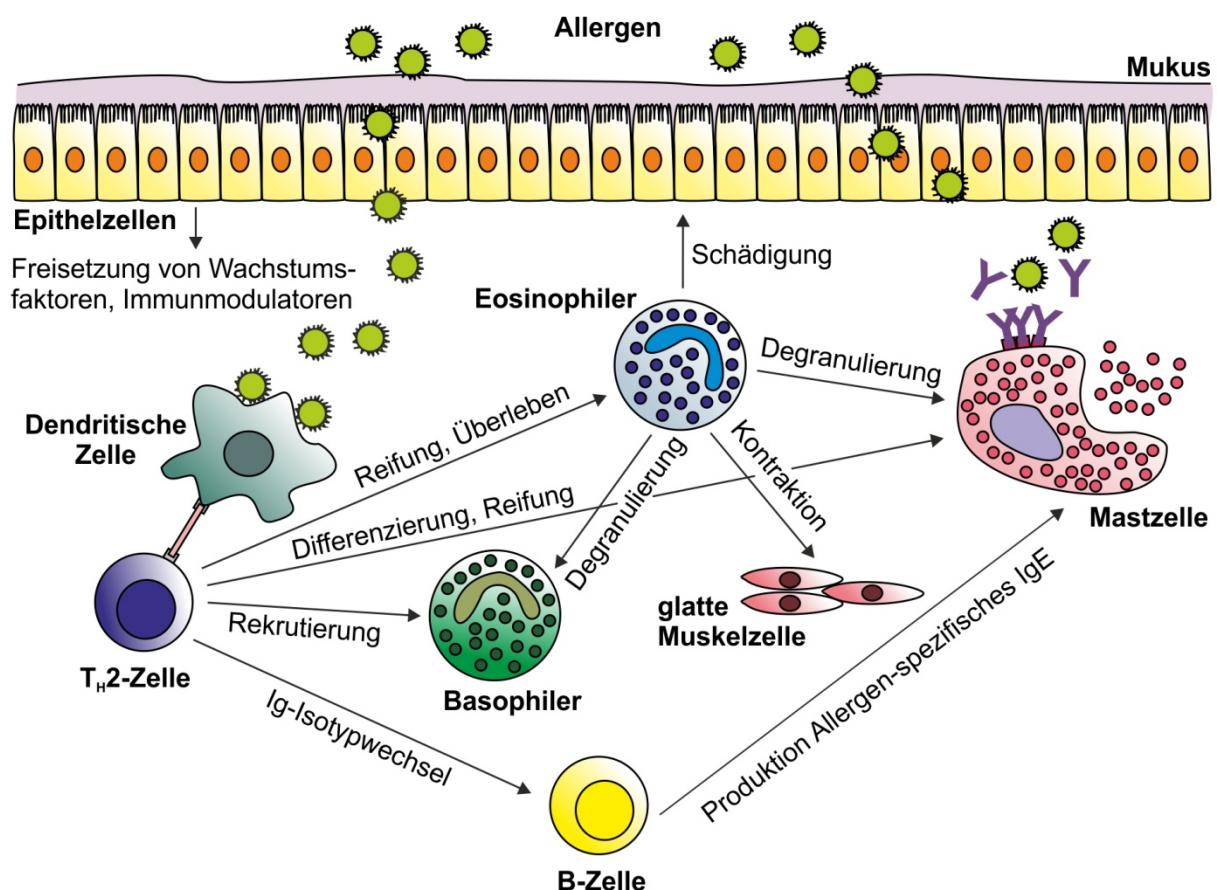


Abbildung 1: Die zellulären Mechanismen der allergischen Sensibilisierung

Dargestellt sind die für die Sensibilisierungsreaktion wichtigen Zellen und deren Interaktionen. Nach Wenzel, 2012⁶.

Zusätzlich setzen T_H2-Zellen weitere Zytokine frei, die die allergische Entzündung weiter fördern können, indem sie Einfluss auf andere Asthma-relevante Zelltypen nehmen. Beispiele hierfür sind das Überleben von weiteren T_H2-Zellen, die Differenzierung und Reifung von Mastzellen, die Rekrutierung von Basophilen und die Reifung und das Überleben von Eosinophilen⁴. Hierbei sind Eosinophile die Quelle einer großen Anzahl inflammatorischer Mediatoren, die das Atemwegsepithel schädigen und die Degranulierung von Basophilen und Mastzellen sowie die Kontraktion der glatten Atemwegsmuskulatur induzieren können⁷.

1.1.1.2 Asthmatischer Anfall und chronische Entzündung

Ein asthmatischer Anfall kann durch verschiedene Faktoren ausgelöst werden, die in den Atemwegen entweder eine Entzündungsantwort oder Bronchospasmen, d.h. Krämpfe der glatten Bronchialmuskulatur, induzieren. Zu diesen Initiatoren asthmatischer Anfälle gehören Allergene, Luftverschmutzung, Atemwegsinfektionen, körperliche Anstrengung oder Medikamente⁸. Beim allergischen Asthma setzen Mastzellen infolge ihrer durch die Bindung von Allergenen aktivierten IgE-Rezeptor-Komplexe vor- und neusynthetisierte Mediatoren wie Zytokine, Chemokine und Wachstumsfaktoren frei⁴. Diese Mediatoren induzieren die Kontraktion der glatten Bronchialmuskulatur, vermehrte Mukussekretion, die Erweiterung von Blutgefäßen, eine Verdickung der Atemwegswand und die Rekrutierung von Zellen des Immunsystems⁹. Wiederholte Allergen-Exposition und darauf folgende Entzündungsreaktionen führen schließlich zu einer chronischen Entzündung und zu einem *Remodeling* der Atemwege (Abbildung 2). Das *Remodeling* der Atemwege umfasst unter anderem strukturelle Veränderungen wie eine Verdickung der gesamten Atemwegswand und einen reduzierten Atemwegsdurchmesser. Dies führt zu einer Behinderung des Luftstromes. Durch vermehrte Mukusproduktion werden Teile der Atemwege blockiert und die Beseitigung von Partikeln erschwert⁹. Zugleich ist eine Verkürzung der glatten Bronchialmuskulatur zu beobachten, die die Atemwege zusätzlich verengt und die Masse der glatten Bronchialmuskulatur nimmt zu. In der Folge kommt es zu einer schweren Atemwegsobstruktion während eines asthmatischen Anfalls. Ist diese Atemwegsobstruktion nicht zumindest teilweise reversibel, ist ein respiratorisches Versagen infolge von ineffizientem Gasaustausch und der Ermüdung der Bronchialmuskulatur unumgänglich⁸.

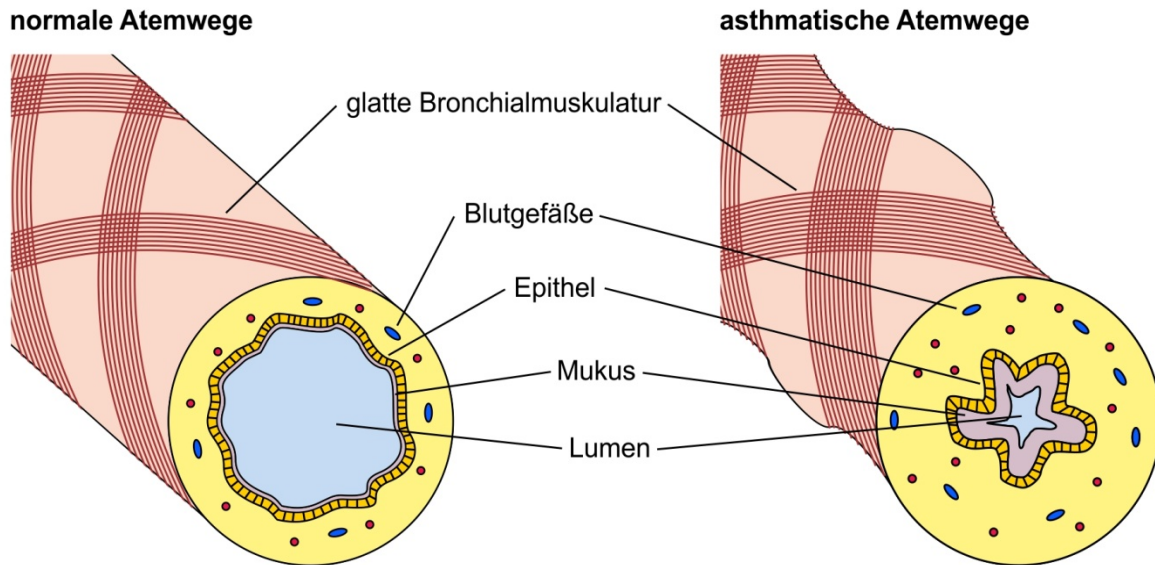


Abbildung 2: Die Anatomie asthmatischer Atemwege

Dargestellt sind die charakteristischen morphologischen Veränderungen der Atemwege von Asthmatikern: Verdickung der Atemwegswand, reduzierter Durchmesser der Atemwege, Verkürzung der glatten Bronchialmuskulatur, Zunahme der Masse der glatten Bronchialmuskulatur und erhöhte Mukus-Produktion. Nach National Heart Lung and Blood Institute, Internetpräsenz¹⁰.

1.1.2 Asthma-Pathogenese

Die Pathogenese von Asthma ist noch nicht umfassend geklärt, es sind jedoch einige Risikofaktoren bekannt. Hierzu gehört, mit einem Einflussfaktor von 50-60 %^{1,11}, die genetische Prädisposition: Kinder mit einem asthmatischen Elternteil haben ein etwa doppelt so großes Risiko, selbst Asthmatiker zu werden¹². Die starke Zunahme der Asthma-Prävalenz in den Industrieländern während der letzten Jahrzehnte deutet allerdings darauf hin, dass neben der Vererbung zusätzlich Umweltfaktoren bedeutsam für die Asthma-Pathogenese sind¹³. Es wird daher davon ausgegangen, dass bei der Initiierung und während des Krankheitsverlaufes eine Interaktion der genetischen Prädisposition mit verschiedenen Umweltfaktoren erfolgt¹⁴.

Zu diesen Umweltfaktoren gehören virale Infektionen, Allergene, Luftverschmutzung, Zigarettenrauch, Ernährung und Antibiotika¹⁵. Ein protektiver Effekt konnte hingegen für das Aufwachsen auf Bauernhöfen gezeigt werden¹⁵. Basierend auf dieser Beobachtung wurde, unter Einbeziehung weiterer epidemiologischer Daten, die Hygiene-Hypothese erstellt. Demnach führt eine verminderte mikrobielle Stimulation des sich in frühen Lebensjahren noch entwickelnden Immunsystems später zu einer inadäquaten Immunantwort gegenüber normalerweise nicht schädlichen Anti-

genen^{16,17}. In den letzten Jahren wurden die zugrunde liegenden epidemiologischen Daten im Rahmen der Mikrobiota-Hypothese jedoch alternativ interpretiert. Es wird nunmehr davon ausgegangen, dass in industrialisierten Ländern aufgrund von Antibiotika-Nutzung und typischer Ernährungsform Änderungen in der Zusammensetzung der gastrointestinalen Mikrobiota auftreten. Diese Änderungen können wiederum die mukosale immunologische Toleranzentwicklung behindern und damit zu einem Anstieg der Prävalenz allergischer Erkrankungen führen^{16,18}. Die Mikrobiota-Hypothese wird durch Daten aus epidemiologischen Erhebungen und Mausmodellen unterstützt. So konnte bei murinen Modellen gezeigt werden, dass die Verabreichung von Antibiotika nicht nur die intestinale Mikrobiota modifiziert, sondern auch die epitheliale Barrierefunktion beeinträchtigt, die T_H1 -Immunantwort vermindert und die allergische Antwort der Atemwege verstärkt. Epidemiologische Daten zeigen zudem, dass Änderungen der Mikrobiota-Zusammensetzung, im Speziellen eine Reduktion von Lactobacilli und Bifidobacteria, mit einem erhöhten Auftreten von Allergie und Asthma assoziiert sind¹⁸.

Zum besseren Verständnis der Beteiligung von genetischen Komponenten bei der Asthma-Pathogenese wurden bisher zwei unterschiedliche Ansätze verfolgt. Zum einen wurde die Hypothesen-basierte positionelle Klonierung von Kandidatengenen durchgeführt¹⁹. Bei den dabei ermittelten Asthma-Suszeptibilitätsgenen handelt es sich in erster Linie um Komponenten der allergischen Immunantwort²⁰. Ein alternativer Ansatz, der zu einem Umdenken in Bezug auf die Asthma-Pathogenese geführt hat, waren genomweite Assoziationsstudien (GWAS). Viele der bei diesen Studien entdeckten Asthma-Suszeptibilitätsgene stehen nicht mit der adaptiven Immunantwort, sondern mit Erkennungsmechanismen angeborener Immunzellen und der epithelialen Regenerierung in Zusammenhang^{1,19}. Die bisher gefundenen Asthma-Suszeptibilitätsgene können funktionell in mehrere Klassen eingeteilt werden: (1) die Erkennung von Umweltfaktoren, (2) das Atemwegsepithel (epitheliale Barrierefunktion und Signalweiterleitung vom Epithel zum Immunsystem als Reaktion auf die Exposition mit Umweltfaktoren), (3) die allergische Entzündungsantwort (Sensibilisierung, T_H -Zell-Differenzierung und -Effektormechanismen) und (4) das Atemwegs-*Remodeling*^{20,21}.

1.1.2.1 Das Asthma-Suszeptibilitäts-gen *ORMDL3*

Die erste, auf Asthma fokussierte GWAS identifizierte 2007 den Asthma-Suszeptibilitäts-Lokus *ORMDL3/GSDMB/GSDMA* (rs7216389) auf dem Chromosom 17q12-21.1²². Dieser Locus enthält die *gasdermin-like (GSDML)*-Gene und das Gen *orosomucoid1-like 3 (ORMDL3)*²². Aufgrund eines Einzelnukleotid-Polymorphismus (C/T) in diesem Locus wird *ORMDL3* verstärkt exprimiert^{23–25}. Es gibt zudem Hinweise, dass die Expression der *GSDML*-Gene ebenfalls beeinflusst ist²¹. Es wird angenommen, dass dieser Einzelnukleotid-Polymorphismus die Wahrscheinlichkeit des Auftretens von Asthma um etwa 20 % erhöht²⁴. Seit der Entdeckung des Asthma-Suszeptibilitäts-Lokus konnte die Assoziation in mehreren Studien und unterschiedlichen ethnischen Gruppen bestätigt werden^{25–44}. Neben der Assoziation von *ORMDL3* mit Asthma im Allgemeinen bestehen weitere Assoziationen von *ORMDL3* mit speziellen Komponenten der Asthma-Pathogenese: im Kindesalter diagnostiziertes Asthma, Zigarettenrauch ausgesetzte asthmatische Kinder⁴⁵, Asthma in Kombination mit respiratorischen Infektionen im Kindesalter⁴⁶ und Asthma in Verbindung mit der Responsivität gegenüber Corticosteroiden⁴² und Bronchodilatoren³⁹. *ORMDL3* ist ein etwa 15 kDa großes Transmembranprotein des Endoplasmatischen Retikulums (ER)⁴⁷. Zu der *ORMDL*-Familie gehören zusätzlich noch *ORMDL1* und *ORMDL2*, die jedoch auf anderen Chromosomen lokalisiert und wahrscheinlich nicht mit Asthma assoziiert sind⁴⁵. *ORMDL3* wird in verschiedenen Organen (Herz, Gehirn, Leber, Plazenta, Niere, Lunge, Dickdarm und Lymphknoten) sowie in unterschiedlichen Zelltypen (mononukleäre Lymphozyten und Epithelzellen) exprimiert²². Zum Zeitpunkt seiner Assoziation mit Asthma war wenig über die Funktionen von *ORMDL3* bekannt. Seither konnte gezeigt werden, dass *ORMDL3* in die Regulierung des Sphingolipid-Metabolismus^{24,48,49} und der *Unfolded Protein Response (UPR)*^{45,50} involviert ist.

Sphingolipide sind Lipide mit einem sehr breiten funktionellen Spektrum. Zum einen sind sie wichtige strukturelle Komponenten der Zellmembran, andererseits fungieren sie auch als intrazelluläre *second messenger*-Moleküle und als extrazelluläre Mediatoren⁵¹. So sind sie an der Regulation einer Vielzahl biologischer Prozesse beteiligt, z.B. der Zellproliferation und -differenzierung, der Signaltransduktion, der Apoptose^{28,52} und der Regulation der Immunantwort⁵³. Für verschiedene Sphingolipide konnte bereits eine Bedeutung für die Asthma-Pathogenese nachgewiesen werden. Klinische Daten zeigen zum Beispiel ein verstärktes Auftreten von Ceramiden in den

Atemwegen von Asthmatikern⁵⁴ und es konnte eine Modulation der Entwicklung von experimentellem allergischen Asthma durch Ceramide gezeigt werden⁵⁵. Ceramide werden vermehrt als Reaktion auf zellulären Stress wie Strahlung, Hitze oder oxidativen Stress und als Antwort auf Apoptose gebildet. Die Synthese erfolgt entweder *de novo* oder durch Sphingomyelinasen, die Sphingomyelin in Ceramid und Phosphorylcholin spalten⁵⁶. Die gebildeten Ceramide modulieren diverse zelluläre Prozesse, z.B. den Zellzyklusarrest, die Apoptose oder die Stressantwort⁵⁷. Zusätzlich verändern Ceramide die Zusammensetzung von Mikrodomänen in Membranen und fördern damit die transmembrane Signalweiterleitung und die Freisetzung von Vesikeln⁵⁸. Ein weiteres Sphingolipid, das mit Asthma assoziiert wird, ist Sphingosin-1-phosphat (S1P). S1P ist nach einer Antigen-Provokation in der bronchoalveolären Lavage (BAL) von Asthmatikern vermehrt nachzuweisen⁵³. Überdies ist S1P Modulator diverser Asthma-assoziiierter Prozesse, wie z.B. der Lymphozyten-Migration, der Stimulation unreifer DCs, der Chemotaxis und Degranulierung von Mastzellen sowie der Proliferation und Kontraktion der glatten Atemwegsmuskulatur^{52,53}. Untersuchungen bei der Hefe (*Saccharomyces cerevisiae*) und bei humanen Zellen zufolge nimmt ORMDL3 beim Sphingolipid-Metabolismus eine inhibierende Funktion wahr, indem es mit dem ersten Enzym der Sphingolipid-Synthese, der Serin-Palmitoyltransferase, einen Komplex bildet und dessen Aktivität als Antwort auf das zelluläre Ceramid-Vorkommen hemmt^{24,48,49}.

Bei der Hefe koordinieren die ORMDL-Proteine darüber hinaus die Lipid-Homöostase mit der UPR⁵⁹. Die UPR ist ein zellulärer Stressbewältigungs-Mechanismus des ER. ER-Stress tritt infolge einer Akkumulierung falsch oder nicht gefalteter Proteine in dem zellulären Kompartiment auf⁶⁰. Diese Akkumulierung kann das Resultat vieler verschiedener genetischer oder Umweltfaktoren sein (z.B. bakterielle und virale Infektionen, Störungen des Metabolismus oder der Lipid-Homöostase, Medikamente, Toxine, Hypoxie, Entzündungsreaktionen, Nährstoff- und Energieüberschuss oder -mangel, Störungen bei der Calcium-Homöostase oder reduzierende Bedingungen⁶⁰⁻⁶²). Störungen der Proteinfaltung werden mit Hilfe von drei Sensoren detektiert (Abbildung 3): *Inositol-requiring enzyme-1* (IRE1), *Eukaryotic translation initiation factor 2-alpha kinase 3* (PERK) und *Activating transcription factor 6* (ATF6). Diese sind normalerweise mit dem Chaperon-Protein *Heat shock 70kDa protein 5* (BiP) assoziiert, das bei Anwesenheit falsch oder nicht gefalteter Proteine die Assoziation löst⁶⁰. Hierauf folgen im Wesentlichen zwei Mechanismen zur Bewältigung des ER-Stress.

(1) Um einer weiteren Akkumulation falsch gefalteter Proteine im ER entgegenzuwirken, werden Proteinsynthese und -translokation in das ER gehemmt. (2) Zugleich wird die Kapazität der Proteinfaltungs- und -degradierungs-Maschinerie des ER erhöht, indem die Expression von UPR-Zielgenen (Chaperon-Proteine und Proteine der ER-assoziierten Degradierung (ERAD)) aktiviert wird. Kann der ER-Stress durch diese Prozesse nicht bewältigt werden, wird die Apoptose eingeleitet⁶³.

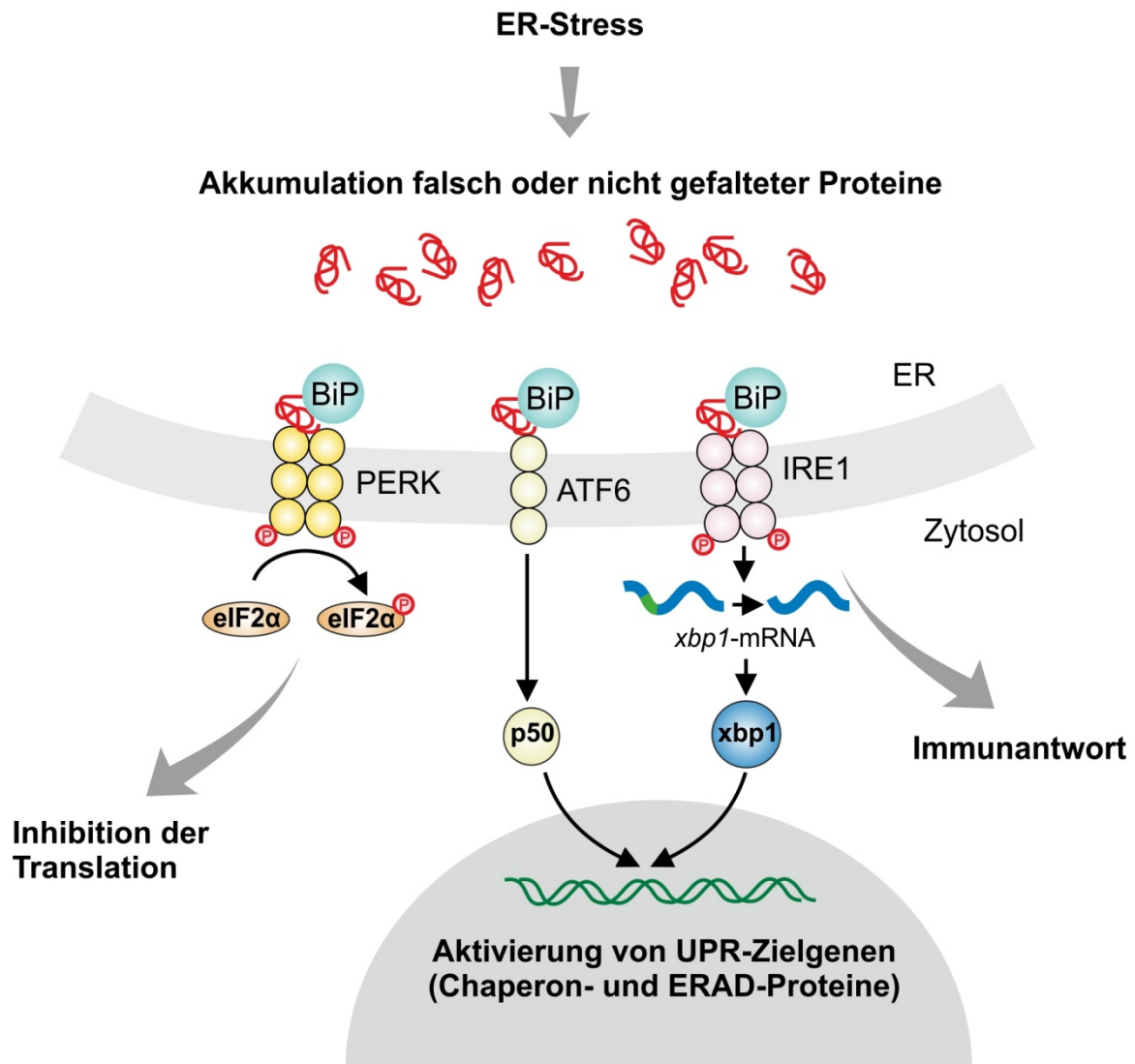


Abbildung 3: Die Unfolded Protein Response

Dargestellt ist die UPR, die durch diverse genetische und Umweltfaktoren aktiviert werden kann. Diese Faktoren können Störungen der Proteinfaltung induzieren, die durch das Chaperon-Protein BiP detektiert werden. BiP setzt daraufhin die drei Sensoren PERK, ATF6 und IRE1 frei. PERK wird autophosphoryliert und phosphoryliert *Eukaryotic Initiation Factor 2α* (eIF2α), als Folge wird die gesamte Translation gehemmt. Die Aktivierung von IRE1 induziert das Spleißen der *x-box binding protein 1* (*xbp1*)-mRNA. Die gespleißte Form der *xbp1*-mRNA sowie die Aktivierung von ATF6 führen zu der Transkription von UPR-Zielgenen, welche die Faltung und Degradierung von Proteinen unterstützen. IRE1 interagiert zudem mit den JNK-, ERK, und NF-κB-Signalwegen des Immunsystems^{60,63}. Nach Cyr et al., 2009⁶⁴.

Neben den genannten Mechanismen besteht eine Interaktion der UPR mit dem Immunsystem: ER-Stress kann zusätzlich eine Aktivierung der *c-Jun N-terminal kinase* (JNK)-, *Extracellular signal-regulated kinase* (ERK)-, und *Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells* (NF-κB)-Signalwege induzieren, die wiederum die Expression vieler Gene regulieren, die an Entzündungsprozessen beteiligt sind⁶⁵. Es konnte gezeigt werden, dass ORMDL3 die Aktivierung der UPR fördert^{45,50}. Bei der Hefe und bei *Human Embryonic Kidney* (HEK)293-Zellen erhöht eine Reduzierung der Genexpression von ORMDL-Proteinen die Empfindlichkeit gegenüber ER-Stress⁴⁷.

Über die funktionelle Relevanz von *ORMDL3* für die Asthma-Pathogenese ist jedoch weiterhin wenig bekannt. In diesem Kontext wurde eine Modulation der T-Zell-Aktivierung in Form einer Inhibition des Calcium-Einstromes über die äußere mitochondriale Membran durch *ORMDL3* beschrieben⁶⁶. Ebenso konnte die *ORMDL3*-Expression in *Normal Human Bronchial Epithelial* (NHLE)-Zellen durch Stimulation mit Polyinosin:Polycytidyl-Säure (Poly I:C), einem synthetischen Analog der doppelsträngigen Ribonukleinsäure (RNA) von Viren, induziert werden²⁹. Zusätzlich aktivierte eine Überexpression von *ORMDL3* die Transkription von antiviralen Oligoadenylat-Synthetase-Genen⁴⁵. Vor diesem Hintergrund ist eine Funktion von *ORMDL3* während einer viralen Infektion denkbar. Außerdem konnte die *ORMDL3*-Expression *Signal transducer and activator of transcription* (STAT)6-abhängig durch Stimulation mit Allergenen und T_H2-Zytokinen in der murinen Lunge induziert werden, insbesondere in Epithelzellen. Bei der humanen Zelllinie A549 wurde die *ORMDL3*-Expression durch Stimulation mit Zigarettenrauch-enthaltendem Medium hochreguliert. Ferner induzierte Lipopolysaccharid (LPS) die *ORMDL3*-Expression bei der murinen RAW 264.7-Zelllinie. Eine Überexpression von *ORMDL* bei NHLE-Zellen induziert zudem die Expression verschiedener, mit der Asthma-Pathogenese assoziierter Gene, die beispielsweise für Metalloproteasen und Chemokine kodieren⁴⁵.

Zusätzlich besteht eine Assoziation von *ORMDL3* mit Autoimmunerkrankungen wie den chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen (IBD) Colitis ulcerosa und Morbus Crohn, der Primär Biliären Leberzirrhose, des Typ-1-Diabetes und des Morbus Bechterew^{50,67,68}. Morbus Bechterew ist eine chronisch-entzündliche Erkrankung der Gelenke der Wirbelsäule⁶⁹ mit einer starken genetischen Komponente⁷⁰. Beim Typ-1-Diabetes werden die Insulin-produzierenden Betazellen der Bauchspeicheldrüse

Tabelle 1: Gemeinsamkeiten und Unterschiede der mit *ORMDL3*-Polymorphismen assoziierten Krankheiten Asthma und Morbus Crohn

ASTHMA	MORBUS CROHN
chronisch-entzündliche Erkrankung der Atemwege ³	chronisch-entzündliche Erkrankung des Darmes ⁷¹
inadäquate Immunantwort genetisch susceptibler Individuen gegenüber von Umweltfaktoren (Allergenen) ⁷²	inadäquate Immunantwort genetisch susceptibler Individuen gegenüber der Mikrobiota ⁴⁷
Hygiene- und Mikrobiota-Hypothesen ¹⁶	Hygiene- und Mikrobiota-Hypothesen ⁷³
Verlagerung der T_H-Zell-Balance: T _H 2-Dominanz ⁷⁴	Verlagerung der T_H-Zell-Balance: T _H 1-Dominanz ⁷³
Barrierestörung des respiratorischen Epithels mit Apoptose von Epithelzellen ⁷⁵	Barrierestörung des intestinalen Epithels mit Apoptose von Epithelzellen ⁷⁶
Risikofaktor: Zigarettenrauch ⁷⁷	Risikofaktor: Zigarettenrauch ⁷⁸

Dargestellt ist ein Vergleich von unterschiedlichen Pathogenesefaktoren der Erkrankungen Asthma und Morbus Crohn. Gemeinsamkeiten sind in fetter Schriftart gekennzeichnet.

zerstört⁷⁹. Im Zusammenhang mit der Typ-1-Diabetes-Pathogenese werden die Hygiene- und die Mikrobiota-Hypothesen sowie eine Barrierestörung des intestinalen Epithels diskutiert⁸⁰. Des Weiteren ist eine Verlagerung der T_H-Zell-Balance mit T_H1-Dominanz zu beobachten⁸¹. Primär Biliäre Leberzirrhose ist eine Autoimmunerkrankung der Leber, bei der die biliären Epithelzellen der kleinen Gallengänge zerstört werden⁸². Es wird angenommen, dass ein Defekt bei der immunologischen Toleranz als Folge der Stimulation mit einem Umweltfaktor oder einer Infektion Grundlage der Pathogenese ist⁸³. Patienten mit Colitis ulcerosa und Morbus Crohn haben einen chronisch entzündeten Darm. Beim Morbus Crohn ist die Darmschleimhaut des gesamten Verdauungstraktes betroffen, Colitis ulcerosa ist hingegen auf die Schleimhaut des Dickdarmes beschränkt⁸⁴. Gemeinsam sind diesen mit dem *ORMDL3*-Polymorphismus assoziierten Krankheiten demnach ein fehlgeleitetes Immunsystem, sowie oft eine Störung der Mikrobiota und der epithelialen Barriere. Die Ähnlichkeit der Krankheiten wird insbesondere im Falle von Asthma und Morbus Crohn deutlich (Tabelle 1). Bei beiden Krankheiten reagiert das Immunsystem auf Komponenten, denen gegenüber es bei gesunden Personen tolerant ist. Diese Immunantwort ist durch eine Verlagerung der T_H-Zell-Balance geprägt und führt

schließlich zu einer chronischen Entzündung. Zu den Grundlagen der Pathogenese beider Erkrankungen zählen neben der genetischen Komponente unter anderem wahrscheinlich eine gestörte Mikrobiota und eine Barriestörung des Epithels. Außerdem bildet Zigarettenrauch einen zusätzlichen Risikofaktor für beide Krankheiten.

1.1.2.2 Die Asthma-Suszeptibilitätsgene *STAT3* und *STAT6* und der JAK/STAT-Signalweg bei *Drosophila*

STAT-Proteine sind Transkriptionsfaktoren, die durch Zytokine und Wachstumsfaktoren aktiviert werden und wichtig für die Regulation der Entwicklung und des Immunsystems sind^{85–91}. Beim Menschen wurden sieben STAT-Proteine gefunden; STAT1, 2, 3, 4, 5a, 5b und 6⁹². Polymorphismen in *STAT3*⁹³ und *STAT6*⁹⁴ sind mit der Entwicklung von Asthma assoziiert. Sowohl für STAT3 als auch für STAT6 konnte mit Hilfe von Maus-Modellen eine Bedeutung für experimentell induziertes Asthma nachgewiesen werden. So zeigte sich, dass epitheliales STAT3 beim murinen Modell essentiell für die Entwicklung pulmonaler Eosinophilie und für die Akkumulierung von T_H2-Zellen in der Lunge ist⁹⁵. Darüber hinaus ist STAT3 an der Expression von Asthma-relevanten Zytokinen, Chemokinen und Adhäsionsmolekülen beteiligt⁹⁰. STAT6 ist essentiell für die Entwicklung von T_H2-Zellen sowie für den Ig-Isotyp-Wechsel von B-Zellen⁹⁶. Es konnte aber gezeigt werden, dass *STAT6* hauptsächlich im asthmatischen Bronchialepithel exprimiert wird^{97,98}. Welche Auswirkungen die Aktivierung des Januskinase (JAK)/STAT-Signalweges auf das Bronchialepithel hat, ist allerdings bisher noch nicht ausreichend bekannt. Einige Untersuchungen deuten jedoch an, dass STAT6 im Atemwegsepithel ein Modulator der IL-13 vermittelten Atemwegshyperreagibilität und Mukus-Produktion ist⁹⁶.

Der JAK/STAT-Signalweg ist evolutionär stark konserviert und bei *Drosophila* wurde bisher nur ein STAT- (STAT92E) und ein JAK-Protein (Hopscotch)⁹⁹ gefunden. Dieses im Vergleich zu Säugetieren reduzierte Auftreten von Mitgliedern bestimmter Genfamilien ist ein Phänomen, das in *Drosophila* des Öfteren beobachtet werden kann¹¹. Die verwandten Gene der Familien verhalten sich oft substitutiv, d.h. bei der Defizienz eines Genes können dessen Funktionen von anderen Genen der Familie übernommen werden. Daher ergeben sich hierdurch methodische Vorteile bei der Nutzung von *Drosophila* als Modellorganismus.

Der Rezeptor des JAK/STAT-Signalweges, kodiert von *domeless*, kann durch die Liganden Unpaired (UPD), UPD2 und UPD3 aktiviert werden. Daraufhin phosphorylieren die zytoplasmatisch mit Domeless assoziierten Hopscotch-Moleküle den Rezeptor und sich gegenseitig. Anschließend wird das zytosolische STAT92E an den Rezeptor rekrutiert und ebenfalls durch die Hopscotch-Proteine phosphoryliert. Die so aktivierten STAT92E-Moleküle dimerisieren und translozieren in den Zellkern, wo sie die Transkription von Zielgenen aktivieren¹⁰⁰ (Abbildung 4).

In *Drosophila* reguliert der JAK/STAT-Signalweg viele Entwicklungsprozesse (Geschlechtsdeterminierung, Stammzellfunktionen, Oogenese, Migration von Grenzzenen, Segmentierung des Embryos, Entwicklung von Augen, Darm und Tracheen, Hämatopoese) sowie die Immunantwort (epitheliale Erneuerung nach bakterieller Infektion, Produktion von antimikrobiellen Peptiden)^{100,101}.

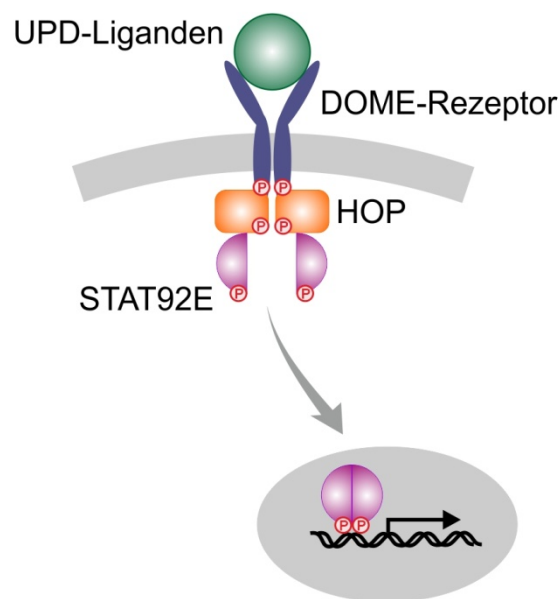


Abbildung 4: Der JAK/STAT-Signalweg bei *Drosophila melanogaster*

Dargestellt ist der JAK/STAT-Signalweg bei *Drosophila*. Eine Aktivierung des Signalweges erfolgt durch Bindung der UPD-Liganden an den Rezeptor DOME. Dies führt zu einer Phosphorylierung des Rezeptors sowie der assoziierten HOP-Moleküle. STAT92E-Transkriptionsfaktoren werden ebenfalls phosphoryliert, dimerisieren, translozieren in den Zellkern und aktivieren dort die Transkription von Zielgenen. Verändert nach Singh SR *et al.*, 2005¹⁰².

1.1.2.3 Die Bedeutung des Atemwegsepithels für die Asthma-Pathogenese

In der Vergangenheit stand insbesondere die allergische Immunantwort im Vordergrund der Asthmaforschung. Klinische Studien zu Therapieansätzen, die den Fokus auf diesen Aspekt der Asthma-Pathogenese legten, zeigten jedoch bisher keine positiven Ergebnisse^{6,74,103,104}. Hinzu kommt die Tatsache, dass, obwohl 40 % der Bevölkerung in industrialisierten Ländern atopisch ist, lediglich 7-11 % an Asthma erkranken. Die Atopie, d.h. das Auftreten Allergen-spezifischer IgE-Antikörper, ist somit nicht ausreichend für die Entwicklung von Asthma, sondern vielmehr ein weiterer Risikofaktor¹⁰⁵. Bei fast allen Asthmatikern können hingegen strukturelle Veränderungen der Atemwegswand beobachtet werden. Diese wurden zunächst als Resultat der chronischen Entzündung der Atemwege betrachtet¹⁰⁶, jedoch konnte gezeigt werden, dass dieses *Remodeling* der Atemwege bei jungen Kindern bereits bis zu vier Jahre vor dem Auftreten von klinischen Asthma-Symptomen vorhanden ist¹³. Der Prozess des *Remodeling* scheint demnach dem Entzündungsprozess vorgeschaltet zu sein. Aus diesem Grund besteht nunmehr die Hypothese, dass statt der allergischen Immunantwort ein strukturell und funktionell abnormes Epithel das zentrale Element bei der Asthma-Pathogenese ist¹⁰³. Unterstützt wird diese Hypothese durch verschiedene physiologische Zusammenhänge. An der Grenze zur Umwelt lokalisiert befindet sich das Epithel in einer einzigartigen Schlüsselposition bei der Erkennung und Weiterleitung von Umwelteinflüssen¹³. Zudem wird die Mehrheit der mittels GWAS gefundenen Asthma-Suszeptibilitätsgene mit den Erkennungs- und Signalweiterleitungsmechanismen des Epithels und dessen Barrierefunktion assoziiert (s. Abschnitt 1.1.2). Bei Asthmatikern ist die epitheliale Barrierefunktion reduziert und somit ist ein verstärktes Eindringen von Allergenen, Mikroorganismen und Toxinen möglich¹⁰⁷. Neben einer beeinträchtigten *Tight Junction* (TJ)-Struktur¹⁰⁵ ist die Expression der Zellverbindungsproteine E-Cadherin, *Zonula Occludens* (ZO)-1 und Claudin-3 vermindert¹⁰⁸, die Permeabilität des Epithels erhöht¹⁰⁸ und der trans-epitheliale Widerstand entsprechend reduziert⁷⁴.

Das Epithel hat nicht nur die Fähigkeit, über Mustererkennungsrezeptoren (PRRs) Mikroben und Allergene zu erkennen, diese Erkennung ist im Falle von Hausstaubmilben auch essentiell für die experimentelle allergische Atemwegsentzündung¹⁰⁹.

Darüber hinaus setzt das asthmatische Epithel als Reaktion auf erkannte Substanzen verstärkt proinflammatorische Mediatoren frei¹⁰⁷ und interagiert so mit anderen Zellen des Immunsystems. Diese Wechselbeziehungen können zum Beispiel durch CC-

Chemokin-Ligand 20 (CCL20) vermittelt werden, der Monozyten und unreife DCs anlockt¹⁰⁶. Vom Epithel freigesetzte *Thymic stromal lymphopoietin* (TSLP), *Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor* (GM-CSF), Interleukin (IL)-25 und IL-33 vermitteln eine T_H-Zell-Polarisierung durch DCs¹⁰⁶. Ferner werden vom Epithel Zytokine freigesetzt, die Basophile, Mastzellen, Eosinophile oder B-Zellen aktivieren können¹⁰⁶.

Des Weiteren ist die antirhinovirale Antwort des Epithels reduziert¹⁰³ und sein Stress-Status erhöht, erkennbar an der verstärkten Expression von proinflammatorischen Transkriptionsfaktoren wie NF- κ B, *Jun proto-oncogene* (AP-1), STAT1 und STAT6 sowie von Hitzeschock-Proteinen^{110,111}.

Ein weiteres Merkmal des asthmatischen Epithels ist sein abnormer Reparaturstatus. Das Epithel zeigt eine erhöhte Suszeptibilität gegenüber Verletzungen und verringerte Erneuerungsprozesse¹⁰⁵. Aufgrund gestörter Reparaturmechanismen wird davon ausgegangen, dass das Epithel sich in einem chronischen Erneuerungszustand befindet, der durch die Sezernierung von Wachstumsfaktoren (z.B. *Transforming growth factor* (TGF)- β und *Epidermal growth factor* (EGF)¹¹²) gekennzeichnet ist, die wiederum das *Remodeling* der Atemwege fördern⁷⁴.

Aus vorgenannten Gründen wird nunmehr davon ausgegangen, dass bei der Asthma-Pathogenese ein strukturell und funktionell beeinträchtigt Epithel abnorm auf Umweltfaktoren wie Viren, Allergene oder Umweltverschmutzung reagiert und damit eine Mikroumgebung entsteht, welche die allergische Sensibilisierung ermöglicht und Entzündungsreaktionen fördert^{103,113}.

1.2 *Drosophila melanogaster* als Modellorganismus bei der Asthma-Forschung

Zur experimentellen Untersuchung verschiedener Aspekte der Asthma-Pathogenese wurden bisher vorzugsweise Mausmodelle verwendet, in denen, z.B. mit Hilfe von Ovalbumin oder Hausstaubmilben, ein Asthma-ähnlicher Phänotyp induziert werden kann. Da bei der Maus, wie auch beim Menschen, das angeborene und das adaptive Immunsystem jedoch komplex interagieren, sind die angeborenen epithelialen Mechanismen schwer isoliert zu betrachten¹⁹.

In der vorliegenden Dissertation wurde aus diesem Grund die Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* als alternatives Modell zur Untersuchung von Asthma-Suszeptibilitäts-genen im Atemwegsepithel verwendet. *Drosophila* ist der älteste Modellorganismus und im Genom der Fruchtfliege finden sich Homologe für 60 % der humanen, mit verschiedenen Krankheiten assoziierten, Gene¹⁹. Zu den Krankheiten, für die *Drosophila* als Modellorganismus dient, gehören zum Beispiel Entwicklungsstörungen wie Blindheit oder Taubheit, neurodegenerative Erkrankungen, Tumore, Herzkrankheiten und immunologische Krankheiten¹⁴. Zur Untersuchung der Asthma-Pathogenese stellt *Drosophila* ein unkonventionelles Modell dar, da die Fruchtfliege weder über klassische asthmatische Symptome wie Keuchen oder Husten verfügt, noch, aufgrund des fehlenden adaptiven Immunsystems, eine allergische Immunantwort besitzt¹⁹. Die Atemwege von *Drosophila*, die Tracheen, bestehen aus hierarchisch organisierten, miteinander verbundenen und blind endenden Schläuchen, die ausschließlich von Epithelzellen gebildet werden. Im Vergleich zu Säugetieren kann unter Verwendung des *Drosophila*-Asthma-Modells demnach der Fokus gezielt auf das Atemwegsepithel, ohne die Einwirkung des adaptiven Immunsystems, gerichtet werden.

Bei der Verwendung von *Drosophila* als Modell für Asthma müssen allerdings einige Faktoren berücksichtigt werden. Die Tracheen sind der menschlichen Lunge nicht homolog, zeigen jedoch große physiologische Ähnlichkeiten¹¹. Auch funktionell bestehen Unterschiede, denn die trachealen Epithelzellen besitzen keinen ciliären Transport und können keine Zellen aus der Hämolymphe rekrutieren¹¹. Im asthmatischen Epithel sind bestimmte morphologische Charakteristika zu finden, beispielsweise veränderte Zellverbindungen, das Ablösen von Epithelzellen, erhöhte Mukusproduktion, Meta- und Hyperplasie von Epithelzellen, die Verdickung der Basallamina und eine veränderte Zusammensetzung der Extrazellulären Matrix (ECM)¹¹¹. In den

Tracheen von *Drosophila* ist, als Reaktion auf eine andauernde starke Aktivierung des Immunsystems, ein ähnlicher Phänotyp zu beobachten. Das Epithel wird meta- und hyperplastisch und verdickt sich, begleitend proliferieren die Epithelzellen¹¹⁵. Zudem reagiert *Drosophila* auf die Stimulation mit dem Hausstaubmilben-Allergen Der p 1 mit einer Immunantwort¹¹⁶.

Daraus folgend ist *Drosophila melanogaster* ein geeigneter Modellorganismus zur Untersuchung von molekularen Grundlagen des Atemwegs-*Remodeling* sowie der funktionellen Relevanz von Suszeptibilitätsgenen für die Asthma-Pathogenese im Atemwegsepithel.

Die Verwendung des *Drosophila*-Asthma-Modells hat darüber hinaus methodische Vorteile. Die Lebensdauer von Mäusen ist verhältnismäßig lang (etwa 2 Jahre¹¹⁷), die genetische Manipulation aufwändig, die Haltung teuer und die Anzahl der Versuchstiere ist aus ethischen Gründen in den meisten Ländern gesetzlich limitiert (in Deutschland durch das Tierschutzgesetz). *Drosophila* besitzt bei 25 °C eine mittlere Lebensdauer von 45-60 Tagen¹¹⁸, die Haltung ist günstig und die Anzahl der Versuchstiere gesetzlich unbegrenzt¹¹⁹. Die genetische Manipulation der Fruchtfliege wurde durch die Entwicklung des GAL4/UAS-Systems¹²⁰ wesentlich erleichtert. Dieses System basiert auf dem Hefe-Transkriptionsfaktor GAL4 und seiner entsprechenden DNA-Binderegion, der *Upstream Activation Sequence* (UAS). Diese Komponenten werden auf zwei verschiedene Fliegenlinien aufgeteilt. Bei einer Fliegenlinie wird die kodierende Sequenz des GAL4-Gens unter die transkriptionelle Kontrolle eines ausgewählten Promotors gestellt, z.B. für ein gewebespezifisches Protein. Diese sogenannte Treiber-Linie bestimmt den Ort der Expression. Bei einer weiteren Fliegenlinie, der Effektor-Linie, wird die Expression eines ausgesuchten Genes unter die Kontrolle des UAS-Elementes gestellt. Durch die Kreuzung der beiden Fliegenlinien erfolgt die Expression dieses Genes unter der Kontrolle des verwendeten Promotors in der gesamten F1-Generation¹¹. Eine Vielzahl von Treiber- und Effektorlinien sind kommerziell erhältlich, wodurch sich sehr viele Kombinationsmöglichkeiten für eine genetische Manipulation ergeben.

1.3 Zielsetzung

Asthma ist eine chronisch-entzündliche Erkrankung der Atemwege, deren Pathogenese noch weitestgehend unverstanden ist. Sowohl Umweltfaktoren als auch eine genetische Prädisposition sind bei der Entstehung von Asthma von Bedeutung. Die meisten Asthma-assoziierten Gene lassen sich funktionell den bekannten zellulären Komponenten von Asthma zuordnen. Es gibt jedoch auch andere Asthma-Suszeptibilitätsgene, zu denen wenig bekannt ist und deren Relevanz für die Asthma-Pathogenese noch unklar ist. Ein Beispiel hierfür ist *ORMDL3*. Andererseits gibt es auch Gene wie *STAT3* und *STAT6*, für die bereits eine starke Relevanz für die allergische Immunantwort gezeigt werden konnte. Die Relevanz von *STAT3* und *STAT6* im asthmatischen Epithel ist allerdings noch unzureichend untersucht.

Asthma wird traditionell als eine Erkrankung des adaptiven Immunsystems angesehen. In den letzten Jahren hat sich dieser Fokus verschoben und das Epithel ist in den Mittelpunkt der Asthma-Pathogenese gerückt. Es wird davon ausgegangen, dass das asthmatische Epithel infolge einer abnormen Antwort auf Umweltfaktoren eine Mikroumgebung schafft, die Entzündungsreaktionen fördert und eine allergische Sensibilisierung ermöglicht. Basierend auf dieser Hypothese sollte ein *Drosophila*-Asthmamodell zu Untersuchungen der Relevanz von Asthma-Suszeptibilitätsgenen im Atemwegsepithel genutzt werden. Dieses Modell hat zwei wesentliche Vorteile. Zum einen ist ein Fokus auf das Atemwegsepithel ohne Einflüsse einer adaptiven Immunantwort möglich. Zum anderen kann das *Drosophila*-Modell als Brücke zu Mausmodellen fungieren. Aufgrund der kurzen Lebensdauer und einfachen genetischen Manipulation ist eine schnelle Erstellung von genetisch manipulierten Tieren möglich, an die sich wiederum eine rasche Analyse anschließt. So können noch während der Fertigstellung von genetisch veränderten Mäusen bereits Hinweise für die Funktionen der Asthma-Suszeptibilitätsgene in *Drosophila* gesammelt werden, die anschließend in den Mausmodellen auf ihre evolutionäre Konservierung überprüft werden können. Dies ermöglicht eine Reduktion der Anzahl der Versuchstiere sowie von Zeit und Kosten bei den Mausmodellen.

Ziel der vorliegenden Dissertation war es daher, die Relevanz der Asthma-Suszeptibilitätsgene *ORMDL3*, *STAT3* und *STAT6* im Atemwegsepithel des Modellorganismus *Drosophila melanogaster* festzustellen.

Hierbei ergeben sich im Wesentlichen die nachfolgend aufgelisteten Fragen.

Zur Funktion des *Drosophila*-Homologs des humanen ORMDL3, ORMDL, im Atemwegsepithel von *Drosophila melanogaster*:

- Hat eine Deregulierung von *ormdl* Änderungen von Morphologie oder Molekularbiologie der Tracheen zur Folge und sind diese Änderungen relevant für die Asthma-Pathogenese?
- Beeinflusst ORMDL die epitheliale Integration von Umweltstressfaktoren?

Zur Funktionen von ORMDL im Darm von *Drosophila melanogaster*:

- Hat ORMDL im Darm ähnliche Funktionen wie im Atemwegsepithel?

Zu den Auswirkungen einer Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges auf das Atemwegsepithel von *Drosophila melanogaster*:

- Hat eine Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges Änderungen von Morphologie oder Molekularbiologie der Tracheen zur Folge und sind diese Änderungen relevant für die Asthma-Pathogenese?

2 Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Geräte

Absaugsystem VACUSAFE	Integra, Fernwald, Deutschland
Agarose-Gelkammer	PeqLab, Erlangen, Deutschland
Autoklav	Westima Sauter, Köln, Deutschland
Bench Heraeus HS 18	Heraeus, Hanau, Deutschland
Bench HERASAFE KS 18	Heraeus, Hanau, Deutschland
Binokular 475200-9901	Zeiss, Oberkochen, Deutschland
BioPhotometer	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Brutschrank VT-5042 EK	Heraeus, Hanau, Deutschland
Fluoreszenzmikroskop SZX16	Olympus, Hamburg, Deutschland
Geldokumentationsanlage ChemiDoc 2000	BioRad Laboratories, München, Deutschland
GenePixTM4000B Scanner	Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA
Homogenisator Kontes Pellet Pestle Motor	VWR, Radnor, PA, USA
Hybridisierungs-Wechselblock slides	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Konfokales Laserscanmikroskop TCS SP5	Leica Microsystems, Wetzlar, Deutschland
Lichtquelle KL 1500 LED plus	Schott, Mainz, Deutschland
LightCycler 480	Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland
Luftdichte Kammer	Dissertation von Ahmed Abdelsadik ¹²¹
Nanodrop1000	Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA
PCR-Maschine Mastercycler gradient	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
pH-Meter	Schott, Mainz, Deutschland
Plattenschüttler Titramax 100	Heidolph, Schwabach, Deutschland
Rolleninkubator 4020	GFL, Burgwedel, Deutschland
Sauerstoff-Messgerät GOX 100T	Greisinger electronic, Regenstauf, Deutschland
Schüttler KM-2	Edmund Bühler, Hechingen, Deutschland
Thermoblock Techne DRI-BLOCK DB-2A	Bibby Scientific, Stone, UK
Thermoblock Techne DRI-BLOCK DB-2D	Bibby Scientific, Stone, UK
Thermo-Magnetrührer VMS-C4	VWR, Radnor, PA, USA
Thermomixer 5436	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Thermomixer compact	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Thermoschrank	Aqualytic, Dortmund, Deutschland
Vortexer Heidolph REAX top	Heidolph, Schwabach, Deutschland
Vortexer Vortex Genie 2	Bender & Hobein, Gera, Deutschland
Waage 1507	Sartorius, Göttingen, Deutschland
Zentrifuge 5415C	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Zentrifuge 5430 R	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Zentrifuge miniSpin	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Zentrifuge Rotana 46 RC	Hettich, Tuttlingen, Deutschland
Zentrifuge SIGMA 2-6E	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA

2.1.2 Fliegenstämme

PPK4-Gal4	Michael Welsh (University of Iowa, Iowa, IA, USA)
PPK4-Gal4Gal80	Christina Wagner (Forschungszentrum Borstel (FZB), Borstel, Deutschland)
NP1-Gal4	Dominique Ferrandon (Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Strasbourg, Frankreich)
UAS-ORMDL	Diese Fliegenlinie wurde im Rahmen dieser Dissertation erstellt.
UAS-ORMDL RNAi	Vienna <i>Drosophila</i> RNAi Center (VDRC, Wien, Österreich) (ID 101436)
w ¹¹¹⁸	Henrike Scholz (Universität Köln, Köln, Deutschland)
UAS-DOME ^{CA}	Norbert Perrimon (Howard Hughes Medical Institute, Chevy Chase, MD USA)
UAS-N ^{intra}	Norbert Perrimon (Howard Hughes Medical Institute, Chevy Chase, MD USA)
UAS-EGFR ^{CA}	Bloomington <i>Drosophila</i> Stock Center (Indiana University, Bloomington, IN, USA) (ID 9534)
UAS-MAD-RNAi	Vienna <i>Drosophila</i> RNAi Center (VDRC, Wien, Österreich) (ID 12635)
UAS-ARM-RNAi	Vienna <i>Drosophila</i> RNAi Center (VDRC, Wien, Österreich) (ID 7767)
UAS-ARM ^{CA}	Bloomington <i>Drosophila</i> Stock Center (Indiana University, Bloomington, IN, USA) (ID 4782)
Canton-S	Bloomington <i>Drosophila</i> Stock Center (Indiana University, Bloomington, IN, USA)

2.1.3 Chemikalien und Substanzen

4',6-Diamidin-2-phenylindol (DAPI)	Life Technologies, Carlsbad, CA, USA
5-(3-aminoallyl)-Uridintriphosphat (UTP)	Life Technologies, Carlsbad, CA, USA
Agar-Agar	Roth, Karlsruhe, Deutschland
Agarose	Roth, Karlsruhe, Deutschland
Alexa Fluor 555	Life Technologies, Carlsbad, CA, USA
Alexa Fluor 647	Life Technologies, Carlsbad, CA, USA
Ampicillin	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
<i>Aqua ad iniectabilia</i>	Braun, Melsungen, Deutschland
Bierhefe	Resana, Berlin, Deutschland
Borsäure	Roth, Karlsruhe, Deutschland
Bromphenolblau	Serva, Heidelberg, Deutschland
Desoxynukleosidtriphosphate (dNTPs)	Life Technologies, Carlsbad, CA, USA
Dimethylsulfoxid (DMSO)	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
Dinatriumhydrogenphosphat (Na ₂ HPO ₄)	Merck, Whitehouse Station, NJ, USA

Ethanol	Merck, Whitehouse Station, NJ, USA
Ethidiumbromid	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
Ethylendiamintetraacetat (EDTA)	Roth, Karlsruhe, Deutschland
FastDigest <i>AatII</i>	Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA
FastDigest <i>EcoRI</i>	Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA
FastDigest <i>NcoI</i>	Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA
FastDigest <i>SacI</i>	Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA
FastDigest <i>Sall</i>	Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA
FastDigest <i>XbaI</i>	Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA
Glucose	Roth, Karlsruhe, Deutschland
Glycerin	Serva, Heidelberg, Deutschland
Hefeextrakt	Roth, Karlsruhe, Deutschland
Hefe-Transfer-RNA (tRNA)	Life Technologies, Carlsbad, CA, USA
Hybridisierungspuffer DIG Easy Hyb	Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland
ibidi Mounting Medium	ibidi, Martinsried, Deutschland
Immersionsöl	Leica Microsystems, Wetzlar, Deutschland
Kaliumchlorid (KCl)	Roth, Karlsruhe, Deutschland
Kaliumdihydrogenphosphat (KH ₂ PO ₄)	Roth, Karlsruhe, Deutschland
Lachssperma-Desoxyribonukleinsäure (DNA)	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
LightCycler 480 SYBR Green I Master	Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland
LightCycler 480 Wasser (H ₂ O)	Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland
Maismehl	Ethno-Versand, Ebermannsdorf, Deutschland
Melasse	Honig Reinmuth, Mosbach, Deutschland
Methyl-4-hydroxybenzoat	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
NaCl-Natriumcitrat (SSC)-Puffer	AppliChem, Darmstadt, Deutschland
Natriumacetat	Merck, Whitehouse Station, NJ, USA
Natriumchlorid (NaCl)	Roth, Karlsruhe, Deutschland
Natrium-Dextransulfat (DSS), M _r ~40,000	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
Natriumdihydrogenphosphat (NaH ₂ PO ₄)	Merck, Whitehouse Station, NJ, USA
Natriumhydrogencarbonat (NaHCO ₃)	Biochemika Fluka, Buchs, Schweiz
Normales Ziegen Serum (NGS)	Life Technologies, Carlsbad, CA, USA
OneShot TOP10 Competent Cells	Life Technologies, Carlsbad, CA, USA
Paraformaldehyd (PFA)	Merck, Whitehouse Station, NJ, USA
PCR Master Mix	Promega, Fitchburg, WI, USA
Propionsäure	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
<i>Pyrococcus furiosus</i> (Pfu)-DNA-Polymerase	Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA
RNaseOUT Rec. Ribonuclease Inhibitor	Life Technologies, Carlsbad, CA, USA
SuperScript III Reverse Transcriptase	Life Technologies, Carlsbad, CA, USA

T4 DNA-Ligase	Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA
TaKaRa LA Taq DNA-Polymerase	Clontech, Mountain View, CA, USA
Tris	Serva, Heidelberg, Deutschland
Triton-X-100	Serva, Heidelberg, Deutschland
Trypton	Roth, Karlsruhe, Deutschland
Trypton-Agar	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
Xylencyanol	Merck, Whitehouse Station, NJ, USA
Zuckerrübensirup	Grafschafter, Meckenheim, Deutschland

2.1.4 Kits

RNeasy Plant Mini Kit	Qiagen, Hilden, Deutschland
GeneJET PCR Purification Kit	Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA
PureLink HiPure Plasmid Filter Purification Kit	Life Technologies, Carlsbad, CA, USA
NucleoSpin RNA II Kit	Macherey-Nagel, Düren, Deutschland
QIAquick PCR Purification Kit	Qiagen, Hilden, Deutschland
MEGAscript T7 Kit	Life Technologies, Carlsbad, CA, USA
Pierce BCA Protein Assay Kit	Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA

2.1.5 Antikörper

anti-Coracle (C615.1, Überstand)	Developmental Studies Hybridoma Bank, Iowa, IA, USA
anti-Armadillo (N2 7A1, Überstand)	Developmental Studies Hybridoma Bank, Iowa, IA, USA
AlexaFluor 488 goat anti-mouse IgG	Life Technologies, Carlsbad, CA, USA

2.1.6 Primer

Die verwendeten Primer wurden von Life Technologies (Carlsbad, CA, USA) bzw. biomers.net (Ulm, Deutschland) (Mikroarray-Oligos) bezogen.

2.1.6.1 Primer für die Klonierung

ormdl <i>sense</i> -Primer	gagaattcaacatgacgtccattgctggaggc
ormdl <i>antisense</i> -Primer	gagagtcgactagtagtactgttaatgtgaacagc
pUASTattB <i>sense</i> -Primer	gcaaataaacaagcgcagctgaaca
pUASTattB <i>antisense</i> -Primer	ggcattccaccactgctcca

2.1.6.2 cDNA-Synthese-Primer

Oligo(dT) 12	ttttttttttt
Oligo(dT) 15	ttttttttttttt
Oligo(dT) 18	ttttttttttttttt

2.1.6.3 Mikroarray-Primer

Mikroarray-Oligo1	cagcggccgcagatttaggtgacactatagargrg
Mikroarray-Oligo2	Biot-gagagaggatccaagtactaatacgcactcactataggaga(t) ²⁵ a/c/g/
Mikroarray-Oligo3	gacgcctgcaggcgatgaatttagg
Mikroarray-Oligo4	gagagaggatccaagtactaatacgcactcactatagg

2.1.6.4 Quantitative *Real-Time* PCR (qRT-PCR)-Primer

Primername	<i>sense</i> -Primer	<i>antisense</i> -Primer
ac	ggcagcgaaaatcactctgt	tccattaaaggcccgaagatg
amun	cacaaacggcaacagcagca	agctgcgttgttcttggcct
ash2	gacggggaacgtggttact	ctccgtcgggcatctcttcg
CG3071	agggccatgtcaagctattc	gtcccttgaacaaacgcaag
cora	gctcttcgtgcacagcacat	ttgtcgtcgtcgtcgtcgtt
dad	cagatccactcgggtggcc	cagatccactcgggtggcc
ddc	caactcctgcgccttcgact	atgcccttcatcagggtggcg
dhpr	gtggcaaaggagccttgggt	acccaactagcatcgcgtgg
dl	tcaacaccggcgagggttgg	tggcagggttgcacatcggc
en	ggtgtactgcacccgctac	ttgtcctttggctgtttgg
fz	tcggcgcgggtatgtgaaaa	ggtattctccgccacgcaca
henna	gctagcttccctgggagcac	ccccgtaggaggacagcaga
hsc3	cgaggagaagaaggaaaagga	cgccggttctgtacacacc
inos	accgactacgattaccagacatc	cccgtccgatcttcagc
mp1	ccgagtggtgggtgtaacg	cacgttaccgggcttcgtgt
mp2	cgtggataacaggggacggc	ttccgtttccaccgaccaa
nemo	tgttctttcagctctggacattc	gcagctccgttatcacatagatt
numb	ctgcgaggaggcactcaagg	tggctcgtcgtccaccact
pale	tgcgccacgttaactcacca	catgtgaccagcagctcgt
pnr	tggaggccatcaaggagtgc	caggctgagcgagggttga
ppo1	gttttgcggatgtgggtggc	tgcaggcatcgttgggtgtt
ppo2	ctggtgcaaagggtctg	accaattgctggatcaatcct
ppo3	catccatcagggtactcgttt	ggatgtcgtatgcccttagc
punch	aaccgcgtggagtagcagtg	atcttctgcacgccacgcat
rpl13	cgtggtttcaccctggag	tggcttggcgaagtgg
salm	gatacaatttggtacagtgaaatag	ctgatcgtcaccgatgtcttt
sp10	aacgggaagtcggaacactt	atctcctcgaagcccaaac
spe	tgatcgcatttctgggggca	gagttgagcaatgcaccgcc
sph9	tgataatcagtgcggtgagtc	gcaaagtgggtgggtca
spi	ccgcgctcttcgatctcctc	aatattggcctgggctgg
xbp1	cgtcgcctggaccatcta	ccacacggttcttagcttctt
xbp1s	ggcagagggccacaactttcca	accttgatctgccgagggt

2.1.7 Weitere Materialien

Zigaretten 3R4F	University of Kentucky, Lexington, KY, USA
Deckgläser	Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA
<i>Drosophila</i> OLIGO 14k_version1 gene chip	Canadian <i>Drosophila</i> Microarray Centre, Toronto, Kanada

<i>Drosophila</i> -Kulturröhrchen	Greiner Bio-One, Kremsmünster, Österreich
<i>Drosophila</i> -Kulturstopfen	<i>Drosophila</i> -Center, Retzstadt, Deutschland
Federstahlpinzette	Ehlert & Partner, Niederkassel, Deutschland
Gazin	Lohmann & Rauscher, Neuwied, Deutschland
LightCycler 480 Multiwell Plate 96	Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland
Objektträger	Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA
pUASTattB-Vektor	Addgene, Cambridge, MA, USA
Uhrmacher-Pinzette	Dumont, Montignez, Schweiz
Whatman-Papier	GE Healthcare, Chalfont St Giles, UK

2.1.8 Puffer und Medien

0,1 M Natriumphosphat	180 ml 0,2 M Na ₂ HPO ₄ , 70 ml 0,2 M NaH ₂ PO ₄ , 250 ml H ₂ O, pH 7,2
Agarose-Gel	Agarose in TBE-Puffer aufkochen und mit 10 µl Ethidiumbromid in Gelkammer gießen
Blockierungspuffer	0,1 M Natriumphosphat, 0,3 % Triton X-100, 5 % Hitze-inaktiviertes NGS
<i>Drosophila</i> -Kulturmedium	30 g Glucose, 15 g Agar-Agar, 94 g Maismehl und 94 g Bierhefe in 1500 ml H ₂ O lösen, 45 g Melasse und 45 g Zuckerrübensirup unterrühren. Auf 70-90 °C erwärmen und 10-20 min rühren. 15 min autoklavieren. Unter Rühren auf 50-60 °C abkühlen lassen. 45 ml 10 % Methyl-4-hydroxybenzoat in 70 % Ethanol und 15 ml 10 % Propionsäure hinzufügen. 2-3 cm hoch in Fliegenröhrchen füllen, bei 4 °C lagern.
Ladepuffer	0,25 % Bromphenolblau, 0,25 % Xylencyanol, 0,3 % Glycerin
<i>Lysogeny Broth</i> (LB)-Medium	10 g Trypton, 5 g Hefeextrakt, 10 g NaCl, ad. 1 l <i>Aqua ad iniectionabilia</i> , pH 7, autoklaviert, Lagerung bei 4 °C
LB-Platten	10 g Trypton, 5 g Hefeextrakt, 10 g NaCl, 15 g Bacto-Agar, ad. 1 l <i>Aqua ad iniectionabilia</i> (pH 7), autoklaviert, Lagerung bei 4 °C, Antibiotika: Ampicillin (0,1 mg/ml) oder Kanamycin (0,05 mg/ml)
Phosphatgepufferte Salzlösung (PBS)	137 mM NaCl, 3 mM KCl, 8 mM Na ₂ HPO ₄ , 1,5 mM KH ₂ PO ₄

TBE-Puffer	89 mM Tris, 89 mM Borsäure, 1 mM EDTA, pH 8,0
Waschpuffer	0,1 M Natriumphosphat, 0,3 % Triton X-100

2.1.9 Software

Geneious	Biomatters, Auckland, Neuseeland
geNorm	Ghent University, Gent, Belgien
GenePix Pro 6	Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA
Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID ^{122,123})	National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID), Bethesda, MD, USA
GraphPad InStat 3	GraphPad Software, La Jolla, CA, USA
Acuity 4.0	Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA
LCS480 1.5.0.39	Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland
GraphPad Prism 5.03/6.00	GraphPad Software, La Jolla, CA, USA

2.2 Methoden

2.2.1 Erzeugung der Fliegenlinie UAS-ORMDL

Zur Erzeugung der Fliegenlinie UAS-ORMDL wurde zunächst eine Klonierung der kodierenden Sequenz des *ormdl*-Genes in den pUASTattB-Vektor vorgenommen (Plasmidkarte pUASTattB/*ormdl* s. Anhang). Hierfür wurde mit Hilfe des RNeasy Plant Mini Kits die Gesamt-RNA aus drei Fliegen des Stammes Canton-S isoliert. Anschließend wurde die RNA in komplementäre DNA (cDNA) umgeschrieben (s. Abschnitt 2.2.4.4). Die kodierende Sequenz des *ormdl*-Genes wurde nun mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) amplifiziert. Hierbei wurden die Restriktionsschnittstellen *EcoRI* (*sense*-Primer) und *Sall* (*antisense*-Primer) dem Amplikon hinzugefügt. Folgender Ansatz wurde verwendet:

5 µl cDNA
 1 µl 10 µM *ormdl sense*-Primer
 1 µl 10 µM *ormdl antisense*-Primer
 5 µl dNTPs (Adenosintriphosphat (ATP), Guanosintriphosphat (GTP), Cytidintriphosphat (CTP), UTP, je 2,5 mM)
 0,8 µl Pfu-Polymerase (2,5 U/µl)
 5 µl Pfu-Reaktionspuffer mit MgSO₄
 32,2 µl H₂O

Zur Amplifikation wurde das folgende PCR-Programm genutzt:

95 °C 3 min	initiale Denaturierung
35 Zyklen:	
95 °C 30 s	Denaturierung
55 °C 30 s	Primeranlagerung
72 °C 60 s	Extension
72 °C 10 min	finale Extension

Das PCR-Produkt wurde anschließend unter Verwendung des GeneJET PCR Purification Kits nach Herstellerangaben aufgereinigt. Es folgte der Verdau des PCR-Produktes sowie des pUASTattB-Vektors mit den Restriktionsenzymen FastDigest *EcoRI* und *Sall* nach Herstellerangaben. Im Anschluss an eine erneute Aufreinigung mit dem GeneJET PCR Purification Kit wurde die Ligation von PCR-Produkt und Vektor unter Verwendung der T4 DNA-Ligase nach Herstellerangaben durchgeführt. Mit dem ligierten Vektor wurden nach Herstellerangaben kompetente Bakterien (OneShot TOP10 Competent Cells) transformiert. Die Bakterien wurden auf LB-Platten mit Ampicillin ausplattiert und über Nacht bei 37 °C inkubiert. Einzelne Bakterien-Kolonien wurden anschließend in je 10 µl LB-Medium mit 100 µg/ml Ampicillin resuspendiert. 1 µl der Suspension wurde in einer Kolonie-PCR-Reaktion eingesetzt, für die folgender Ansatz gewählt wurde:

1 µl Kolonie in LB-Medium
12,5 µl PCR Master Mix
1 µl 10 µM pUASTattB <i>sense</i> -Primer
1 µl 10 µM pUASTattB <i>antisense</i> -Primer
9,5 µl H ₂ O

Zur Amplifikation wurde das folgende PCR-Programm genutzt:

95 °C 3 min	initiale Denaturierung
35 Zyklen:	
95 °C 30 s	Denaturierung
56 °C 40 s	Primeranlagerung
72 °C 40 s	Extension
72 °C 4 min	finale Extension

Der Erfolg der Insertion wurde unter Verwendung der Agarose-Gelelektrophorese überprüft. Hierfür wurde der PCR-Ansatz gemeinsam mit Ladepuffer auf ein 1 %iges Agarose-Gel aufgetragen und etwa 40 min bei 120 V/180 mA aufgetrennt. Bakterienklone, die das korrekte Plasmid enthielten, wurden über Nacht in 250 ml LB-Medium

angezogen und die Plasmide am folgenden Tag unter Verwendung des PureLink HiPure Plasmid Filter Purification Kits nach Herstellerangaben isoliert. Abschließend wurden unter Verwendung von FastDigest-Enzymen drei verschiedene Kontroll-Restriktionsverdauansätze (1. *EcoRI*+*XbaI*, 2. *AatII*+*SacI*, 3. *NcoI*) durchgeführt. Das durch den Verdau entstandene Banden-Muster wurde auf einem 0,7 %igen Agarose-Gel überprüft. Die genetische Insertion des Plasmids in *Drosophila*-Embryonen wurde durch die Firma Best Gene Inc (Chino Hills, CA, USA) ausgeführt.

2.2.2 Stammhaltung

Die Fliegen wurden in mit *Drosophila*-Kulturmedium gefüllten *Drosophila*-Kulturröhrchen gehalten, die mit *Drosophila*-Kulturstopfen verschlossen waren. Die Haltung erfolgte zu normalisierten Bedingungen in Thermoschränken bei 21 °C. Die Fliegen wurden alle 1-3 Wochen unter Verwendung von Kohlenstoffdioxid betäubt und zur Eiablage für 48 h in neue Röhrchen gesetzt.

2.2.3 Behandlung der Larven und Fliegen

2.2.3.1 Genetische Manipulation

Zur genetischen Manipulation der Fliegen wurden das Gal4/UAS-System sowie dessen Erweiterung, das Gal4Gal80/UAS-System, verwendet. Das Gal4/UAS-System wurde in Abschnitt 1.2 beschrieben. beim Gal4Gal80/UAS-System existiert zusätzlich das temperatursensitive Gal80-Protein, das Gal4 bei Temperaturen unter 19 °C inhibiert¹²⁴.

Für die Kreuzungen wurden zwischen 5 und 15 weibliche Jungfrauen des Treiber- oder Effektorstammes im Verhältnis 1:2-1:3 mit männlichen Fliegen des entsprechend zu kreuzenden Fliegenstammes in einem Röhrchen gehalten. Gal4/UAS-Kreuzungen wurden bei 21 °C gehalten und dreimal wöchentlich in neue *Drosophila*-Kulturröhrchen umgesetzt. Gal4Gal80/UAS-Kreuzungen wurden bei 17 °C gehalten und zweimal wöchentlich umgesetzt. Zur Aktivierung der Genexpression in Gal4Gal80/UAS-Kreuzungen erfolgte eine Erhöhung der Temperatur auf 30 °C.

2.2.3.2 Zigarettenrauch

Zur Synchronisierung des Alters wurden Fliegen verwendet, die innerhalb von 24 Stunden geschlüpft waren. Um den Einfluss von Entwicklungseffekten des Juvenilstadiums einzuschränken, wurde der Versuch begonnen, nachdem die Fliegen 6 Tage gealtert waren. Ferner wurden ausschließlich männliche Fliegen verwendet. Die Fliegen befanden sich in Fliegenröhrchen, die mit Gaze verschlossen wurden. Die Haltung erfolgte in einer luftdichten Kammer, bei der eine Öffnung unverschlossen war. So wurde einerseits die Sauerstoffversorgung gesichert, andererseits aber auch im Anschluss an die tägliche Behandlung der Zigarettenrauch räumlich eingegrenzt. Die Fliegen wurden täglich dem Rauch einer 3R4F-Zigarette ausgesetzt. Hierfür wurden die Öffnungen verschlossen und unter Verwendung einer Wasserstrahlpumpe ein leichter Unterdruck erzeugt. Dieser zog an der Zigarette und leitete den Zigarettenrauch durch die luftdichte Kammer (Abbildung 5). Anschließend wurden die Öffnungen der luftdichten Kammer erneut geöffnet.

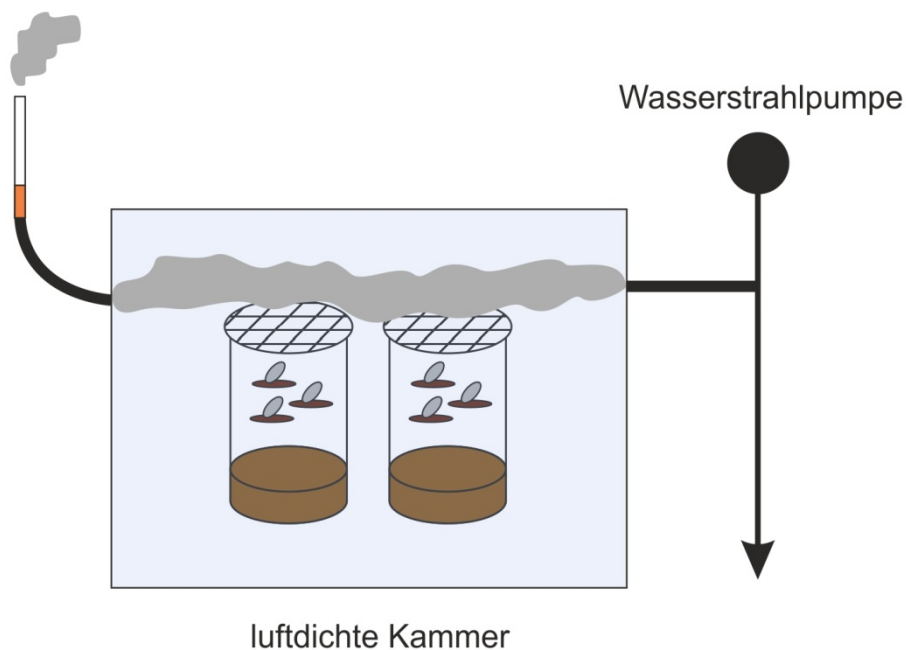


Abbildung 5: Versuchsaufbau zur Behandlung der Fliegen mit Zigarettenrauch

Dargestellt ist der Aufbau der Apparatur zur Behandlung von Fliegen mit Zigarettenrauch. Die Fliegen wurden in mit Gaze verschlossenen Fliegenröhrchen in einer luftdichten Kammer gehalten, bei der zur Sicherung der Sauerstoffversorgung eine Öffnung unverschlossen war. Zur Behandlung mit Zigarettenrauch wurden die Öffnungen verschlossen und unter Verwendung einer Wasserstrahlpumpe ein leichter Unterdruck erzeugt, der an der Zigarette zog und den Zigarettenrauch durch die Kammer leitete.

2.2.3.3 Hypoxie

L3-Larven wurden in frisches Medium überführt, das zuvor mit einem Spatel aufgelockert wurde. Im Anschluss an eine kurze Ruhephase von 15-30 min wurden die Larven mit den *Drosophila*-Kulturröhrchen in eine luftdichte Kammer gestellt. Der Sauerstoffgehalt wurde auf 4-5 % verringert, indem Stickstoff eingeleitet wurde. Der Sauerstoffgehalt wurde mit einem Sauerstoff-Messgerät überprüft.

2.2.3.4 Natrium-Dextransulfat (DSS)

Zur Synchronisierung des Alters wurden Fliegen verwendet, die innerhalb von 24 Stunden geschlüpft waren. Zudem wurden 6 Tage alte Fliegen verwendet, um den Einfluss von Entwicklungseffekten des Juvenilstadiums zu vermindern. Des Weiteren wurden ausschließlich männliche Fliegen verwendet. Zur oralen Verabreichung von DSS wurden die Fliegen in leere Fliegenröhrchen ohne *Drosophila*-Kulturmedium gehalten. In diesem Röhrchen befand sich ein Stück Whatman-Papier (1,5 x 4 cm, autoklaviert) mit 500 µl Lösung, das täglich gewechselt wurde. Zur oralen Verabreichung von DSS wurden 3 % DSS in 5 %iger Glucose-Lösung gelöst. Als Kontrolle diente eine 5 %ige Glucose-Lösung.

2.2.4 Analyse der Larven und Fliegen

2.2.4.1 Immunhistochemie und Konfokale Laserscanmikroskopie

Larven im L3-Stadium wurden in PBS unter Verwendung von Uhrmacher-Pinzetten seitlich geöffnet. Anschließend erfolgte die Fixierung in 3 % PFA für 15 min. Im Anschluss an drei fünfminütige Waschschriffe mit Waschpuffer wurde mit dem ersten Antikörper in Blockierungspuffer über Nacht inkubiert. Der anti-Coracle-Antikörper wurde in einer Konzentration von 190 ng Ig/ml, der anti-Armadillo-Antikörper in einer Konzentration von 300 ng Ig/ml eingesetzt. Nach drei fünfminütigen Waschschriffen mit Waschpuffer erfolgte die Inkubation mit dem sekundären, fluoreszenzmarkierten Antikörper, ebenfalls in Blockierungspuffer und über Nacht. In Anschluss an eine Inkubation mit 62,5 µg/µl DAPI und drei fünfminütige Waschschriffe mit Waschpuffer wurden die Tracheen für die konfokale Laserscanmikroskopie vorbereitet, indem sie unter Verwendung von Uhrmacher-Pinzetten isoliert, auf einem Objektträger in ibidi Mounting Medium aufgenommen und mit einem Deckglas bedeckt wurden. Die Analyse der Fluoreszenzsignale wurde an einem Konfokalen Laserscanmikroskop TCS SP5 mit einem 63x/1,4 Öl-Objektiv durchgeführt. Hierbei wurde Immersionsöl ver-

wendet. Zur Aufnahme von DAPI-gefärbten Strukturen erfolgte die Anregung bei einer Absorptionswellenlänge von 405 nm und die Aufnahme der Emission bei 415-480 nm. Die mit dem fluoreszenzmarkierten Antikörper gefärbten Strukturen wurden mit einer Absorptionswellenlänge von 488 nm angeregt und bei 495-530 nm aufgenommen. Die obere Grenze von 530 nm wurde gewählt, da ab dieser Wellenlänge eine Autofluoreszenz des *Drosophila*-Gewebes detektiert werden konnte.

2.2.4.2 Mikroskopie

Für die Mikroskopie wurden Larven in PBS gewaschen und anschließend auf einem Objektträger unter Verwendung von Eis betäubt. Zur Dokumentation wurde das Fluoreszenzmikroskop SZX16 verwendet.

2.2.4.3 Isolierung der Gesamt-RNA

Zur Isolierung der Gesamt-RNA wurden die Larven zunächst in PBS gewaschen. Anschließend wurden die entsprechenden Organe (mindestens 30 Tracheen bzw. mindestens 10 Därme) mit Uhrmacher-Pinzetten in Glasschälchen isoliert und in eiskaltem Lysepuffer des NucleoSpin RNA II Kits aufgenommen. Nach der Homogenisierung der Organe mit dem Kontes Pellet Pestle Motor-Homogenisator erfolgte die Isolierung der Gesamt-RNA mit Hilfe des NucleoSpin RNA II Kits gemäß Herstellerangaben. Die Menge der isolierten Gesamt-RNA wurde photometrisch unter Verwendung des BioPhotometers bestimmt.

2.2.4.4 Reverse Transkription

Zur reversen Transkription der isolierten Gesamt-RNA in cDNA wurde die RNA zunächst in H₂O verdünnt, so dass für die Synthese jeweils 500 ng RNA eingesetzt wurden. Das Volumen dieses Ansatzes betrug 11 µl. Anschließend wurden je 1 µl Oligo(dT)₁₂₋₁₈ (0,5 mg/ml) und Desoxynukleosidtriphosphate (dNTP) (ATP, GTP, CTP, UTP, je 2,5 mM) zu den Proben gegeben. Die cDNA-Synthese wurde mittels SuperScript III Reverse Transcriptase und RNaseOUT gemäß Herstellerangaben durchgeführt.

2.2.4.5 qRT-PCR-Analysen

Die mRNA-Expression wurde unter Verwendung des LightCycler 480-Systems analysiert. Hierfür wurde der folgende Ansatz pro *well* gewählt:

2 µl cDNA
 0,6 µl Primer-Mix (*sense* und *antisense*, jeweils 10 µM)
 2,4 µl LightCycler 480 H₂O
 5 µl LightCycler 480 SYBR Green I Master Mix

Die Schritte der qRT-PCR wurden weitestgehend gemäß Protokoll des Herstellers durchgeführt. Abweichend war, dass eine *Touchdown*-PCR durchgeführt wurde, bei der die Anlagerungstemperatur mit jedem Zyklus um 0,5 °C erniedrigt wurde. Als Rahmen hierfür wurde 63-58 °C gewählt. Folgendes PCR-Programm wurde verwendet.

95 °C 10 min	initiale Denaturierung
55 Zyklen Amplifikation:	
95 °C 10 s	Denaturierung
63-58 °C 10 s	Primeranlagerung
72 °C 10 s	Extension
78 °C 1 s	Fluoreszenzaufnahme
Schmelzkurven-Analyse: 95-65 °C, kontinuierliche Aufnahme	

Die verwendeten *Primer* und deren Sequenzen sind in Tabelle 2 dargestellt. Das Design der Primer wurde unter Verwendung der Geneious-Software durchgeführt.

2.2.4.6 Mikroarray-Analysen

Für die Mikroarray-Analyse wurde die aus den Proben isolierte Gesamt-RNA wie in Abschnitt 2.2.4.4 in cDNA umgeschrieben. Anstelle von Oligo(dT)₁₂₋₁₈ wurden hierbei die Oligonukleotide MikroarrayOligo1 und MikroarrayOligo2 (je 10 µM) verwendet. Die cDNA wurde anschließend in einer PCR amplifiziert, für die folgender Ansatz gewählt wurde:

6 µl cDNA
 15 µl 10x LA PCR Buffer II
 15 µl 25 mM MgCl₂
 24 µl dNTPs (ATP, GTP, CTP, UTP, je 2,5 mM)
 3,8 µl 10 µM MikroarrayOligo3
 3,8 µl 10 µM MikroarrayOligo4
 1,5 µl LA Taq (5 U/µl)
 81 µl H₂O

Zur Amplifikation wurde das folgende PCR-Programm genutzt:

95 °C 1 min	initiale Denaturierung
28 Zyklen:	
95 °C 20 s	Denaturierung
55 °C 20 s	Primeranlagerung
72 °C 2 min 30 s + 5 s pro Zyklus	Extension
72 °C 5 min	finale Extension

Die amplifizierte cDNA wurde unter Verwendung des QIAquick PCR Purification Kits gemäß Angaben des Herstellers aufgereinigt. Die Qualität der cDNA wurde anhand der Auftrennung in einem 1 %igen Agarose-Gel analysiert. Es folgte die Umschreibung der cDNA in cRNA. Hierfür wurde das MEGAscript T7 Kit verwendet. Folgender Ansatz wurde für 14-16 h bei 37 °C inkubiert:

4 µl 75 mM ATP
4 µl 75 mM GTP
4 µl 75 mM CTP
2 µl 75 mM UTP
3 µl 50 mM 5-(3-aminoallyl)-UTP
4 µl 10x Puffer
4 µl T7-Enzymmix

Die synthetisierte cRNA wurde unter Verwendung des NucleoSpin RNA II Kits aufgereinigt. Hierfür wurden je 350 µl RA1-Puffer des Kits und 70 % Ethanol zu der Probe hinzugefügt. Diese Mischung wurde auf die RNA-bindende Säule des Kits gegeben, die anschließend 1 min bei 14000 1/min zentrifugiert wurde. Der Durchlauf wurde verworfen und die Säule dreimal mit RA3-Puffer des Kits gewaschen. Im Folgenden wurde die cRNA eluiert, indem 50 µl H₂O auf die Säule gegeben wurden. Nach einer Inkubation bei 65 °C für 1 min erfolgte die Zentrifugation für 1 min bei 14000 1/min. Anschließend wurde die eluierte cRNA präzipitiert. Hierfür wurden 10 µl 3 M Natriumacetat und 250 µl 96 % Ethanol zur Probe gegeben, diese gevortext und anschließend über Nacht bei -80 °C verwahrt. Nach einer Zentrifugation bei 14000 1/min und 4 °C für 60 min wurde der Überstand verworfen. Es folgten zwei Waschschrte, bei denen jeweils 250 µl 70 % Ethanol zum Pellet gegeben wurden, die Probe 10 min bei 14000 1/min zentrifugiert und der Überstand entfernt wurde. Das Pellet wurde im Anschluss getrocknet und in 6 µl H₂O aufgenommen. Die Konzentration der cRNA wurde photometrisch im BioPhotometer bestimmt. Die Qualität der cRNA wurde anhand der Auftrennung in einem 1 %igen Agarose-Gel analysiert.

Es folgte die Markierung der cRNA mit zwei verschiedenen Farbstoffen. Für Kontrollen wurde der Farbstoff AlexaFluor 647 verwendet. Der zweite Farbstoff war AlexaFluor 555. Zur Markierung der cRNA wurden 40 µg cRNA mit zwei Volumen 0,3 M NaHCO₃ (pH 9) und drei Volumen der in 20-40 µl DMSO gelösten Farbstoffe für 2 h abgedunkelt inkubiert. Die markierte cRNA wurde nach dem gleichen Protokoll wie zuvor die cRNA aufgereinigt und präzipitiert, wobei der Präzipitationsschritt auf 2 h bei -80 °C beschränkt wurde. Qualität und Konzentration der markierten cRNA wurden photometrisch im Nanodrop1000 bestimmt.

200 pmol mit AlexaFluor 647 markierter cRNA und 400 pmol mit AlexaFluor 555 markierter cRNA wurden mit H₂O auf ein Gesamtvolumen von 6 µl ergänzt. Zu diesem Ansatz wurden 2 µl Lachssperma-DNA (100 mg/ml) und 2 µl Hefe-tRNA (10 mg/ml) sowie 395,6 µl Hybridisierungspuffer (DIG Easy Hyb) hinzugefügt. Es folgte die Denaturierung für 10 min bei 65 °C. Die Proben wurden anschließend auf einen *Drosophila* OLIGO 14k_version1 gene chip, der mit einer Abdeckfolie verschlossen war, appliziert. Die Hybridisierung wurde in einem Hybridisierungs-Wechselblock, dessen Einkerbungen zur Erhöhung der Feuchtigkeit mit Hybridisierungspuffer (DIG Easy Hyb) gefüllt waren, bei 42 °C und 200 1/min für 19 h durchgeführt. Die Abdeckung wurde entfernt, der Mikroarray verschiedenen Waschschritten unterzogen (60 min 1 x SSC, 2x 30 min 1 x SSC + 0,1 % Triton-X-100 bei 60 °C, 2x 30 min 0,1 x SSC + 0,1 % Triton-X-100 bei 37 °C, 30 s 0,1 x SSC, 10 s H₂O) und anschließend mit Stickstoffgas getrocknet. Das Einlesen des Mikroarrays erfolgte unter Verwendung des GenePixTM4000B-Scanners.

2.2.4.7 Lipid-Analysen

Die Lipid-Analysen wurden in Kooperation mit Nicole Zehethofer und PD Dr. Buko Lindner vom FZB durchgeführt. Für Darm-Proben wurden die Larven zunächst 4 h in 10 %iger Glucose-Lösung inkubiert, um den Darminhalt, der die spätere Analyse verfälschen könnte, auszutauschen. Anschließend wurden 15 Därme pro Probe in 10 %iger Glucose-Lösung isoliert. Für Tracheen-Proben wurden die Larven kurz in H₂O gewaschen und die Tracheen anschließend ebenfalls in H₂O isoliert. Es wurden 60 Tracheen pro Probe verwendet. Sowohl bei der Isolierung der Därme als auch bei der Isolierung der Tracheen wurde für jede Larve frische Glucoselösung bzw. frisches H₂O verwendet. Es folgte die Homogenisierung mit dem Kontes Pellet Pestle Motor-Homogenisator. Die Proteingesamtmenge wurde unter Verwendung des

Pierce BCA Protein Assay Kits bestimmt und anschließend wurden alle Proben mit H₂O auf eine identische Proteingesamtmenge sowie auf ein identisches Gesamtvolumen eingestellt. Die so vorbereiteten Proben wurden Nicole Zehethofer und PD Dr. Buko Lindner übergeben, die die Lipide mit Hilfe der Bligh-Dyer-Methode¹²⁵ isolierten und anschließend unter Verwendung der *Normal-Phase High Performance Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (NP-HPLC-MS) auftrennten.

2.2.5 Bioinformatik

2.2.5.1 Vergleich von Überlebensraten

Der Signifikanz der Unterschiede zwischen Überlebenskurven wurde unter Verwendung der GraphPad Prism 5.03-Software analysiert. Die Überlebenskurven wurden hierbei mit dem Gehan-Breslow-Wilcoxon-Test verglichen. Unterschiede mit $p < 0,05$ wurden als signifikant angenommen.

2.2.5.2 Hypoxie-Empfindlichkeit

Zunächst wurde die Normalverteilung der Daten aus den Versuchen zur Hypoxie-Empfindlichkeit unter Verwendung der GraphPad InStat 3-Software bestätigt. Basierend hierauf wurde die Signifikanz der Unterschiede zwischen den unterschiedlichen genetischen Hintergründen mittels 2-way ANOVA in der GraphPad Prism 5.03-Software analysiert. Unterschiede mit $p < 0,05$ wurden als signifikant angenommen.

2.2.5.3 Lipid-Analysen

Die bioinformatische Auswertung der Lipid-Analysen wurde durch Nicole Zehethofer und PD Dr. Buko Lindner vom Forschungszentrum Borstel durchgeführt. Die Daten wurden mittels HyStar 3.2-, Bruker's Data Analysis 3.2- und LipID¹²⁶-Software prozessiert und analysiert. Die gemessenen relativen Lipid-Mengen wurden auf den relativen Anteil des Lipids PC 36:2 normalisiert und die Signifikanz der Unterschiede zwischen den relativen Lipid-Mengen wurde unter Verwendung der GraphPad Prism 6.00-Software mittels des Mann-Whitney-Tests analysiert. Unterschiede mit $p < 0,05$ wurden als signifikant angenommen.

2.2.5.4 Mikroarray-Analysen

Die Signale auf den eingescannten Mikroarrays wurden zunächst unter Verwendung der GenePix Pro 6-Software manuell überprüft und gegebenenfalls korrigiert. Es

folgte die Analyse mit der Acuity 4.0-Software. Hierbei wurden Mikroarrays aus drei unabhängigen biologischen Replikaten normalisiert und diejenigen Gene bestimmt, die in mindestens zwei der drei unabhängigen biologischen Replikaten $\geq 1,5$ -fach hoch- oder herunterreguliert waren. Diese Gene sind im Anhang aufgeführt und wurden unter Verwendung der *Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery* (DAVID^{122,123}, National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID), USA) hinsichtlich der Anreicherung der Regulierung von mit bestimmten Signalwegen und Gen-Ontologie-Funktionsklassen assoziierten Genen überprüft. Die gefundenen Gen-Ontologie-Funktionsklassen wurden anschließend manuell in funktionelle Kategorien zusammengefasst.

2.2.5.5 qRT-PCR-Analysen

Zur Auswertung der qRT-PCR-Daten wurde die LCS480 1.5.0.39-Software verwendet. Es wurde eine relative Quantifizierung durchgeführt, bei der für jede Probe zusätzlich zum untersuchten Gen die Expression eines konstant exprimierten Referenzgenes bestimmt wurde. Dieses Gen (hier *rp13*) wurde unter mehreren Kandidaten mit Hilfe der geNorm-Software ausgewählt. Des Weiteren wurde stets ein Kalibrator mitgeführt, um die Läufe untereinander zu normalisieren. Um Unterschiede in den Primer-Effizienzen zu berücksichtigen, wurde deren Effizienz bestimmt und mittels der LCS480 1.5.0.39-Software jeweils angeglichen. Zur Vermeidung von falsch-positiven Effekten durch Verunreinigungen mit genomischer DNA wurde die Spezifität der gebildeten Produkte überprüft. Dies erfolgte durch die Verwendung Intron-überspannender Primer für das Referenzgen *rp13* (und soweit möglich auch für weitere Gene). Über eine Schmelzkurven-Analyse konnten auf diese Weise abweichende Produkte identifiziert werden. Alle Ergebnisse der qRT-PCR sind als Mittelwerte und deren Standardfehler (SEM) dargestellt. Die statistische Auswertung wurde unter Verwendung der GraphPad Prism 5.03-Software durchgeführt. Zur Bestimmung der Signifikanz der Unterschiede wurden die Daten zunächst unter Verwendung der Funktion $y = \log(y+0,5)$ transformiert und anschließend mittels 2-sample 2-sided t-Test analysiert. Unterschiede mit $p < 0,05$ wurden als signifikant angenommen.

3 Ergebnisse

Ziel der vorliegenden Dissertation war es, die Relevanz der Asthma-Suszeptibilitäts-gene *ORMDL3*, *STAT3* und *STAT6* mit Hilfe des Modellorganismus *Drosophila melanogaster* festzustellen.

3.1 Die funktionelle Relevanz von *ORMDL* in den Atemwegen von *Drosophila melanogaster*

Das Homolog des Asthma-Suszeptibilitätsgens *ORMDL3* bei *Drosophila* ist *ormdl*, der in diesem Fall einzige Vertreter der *ORMDL*-Proteine. Bei Säugetieren gibt es zusätzlich *ORMDL1* und *ORMDL2*.

Aufgrund des Asthma assoziierten Einzelnukleotid-Polymorphismus von *ORMDL3* wird das Gen verstärkt exprimiert²³⁻²⁵. Daher sollte insbesondere die funktionelle Relevanz einer *ormdl*-Überexpression im Atemwegsepithel von *Drosophila* untersucht werden. Hierfür wurde eine UAS-*ORMDL*-Fliegenlinie erstellt (Abschnitt 2.2.1), die anschließend zur Überexpression von *ormdl* in verschiedenen Geweben verwendet werden konnte.

3.1.1 *Ormdl*-Überexpression erhöht die Stressantwort des Atemwegsepithels

3.1.1.1 *Ormdl*-Überexpression in den adulten Tracheen verstärkt die Morbidität infolge von Zigarettenrauch

Neben der generellen Assoziation von *ORMDL3*²³⁻²⁵ mit Asthma besteht eine Asthma-relevante Assoziation des Gens mit Zigarettenrauch⁴⁵. Da Zigarettenrauch zudem einen der wichtigsten Risikofaktoren für die Entwicklung von Asthma darstellt¹⁵, sollte der Einfluss einer Überexpression von *ormdl* in den Atemwegen (Tracheen) auf die Morbidität infolge von Zigarettenrauch untersucht werden.

Hierfür wurden adulte Fliegen verwendet, in deren Atemwegen *ormdl* unter Verwendung des Tracheen-spezifischen PPK4-Gal4-Treibers überexprimiert wurde. Als Kontrolle dienten Fliegen, in denen anstelle des UAS-*ORMDL*-Konstrukts die Wildtyp-Linie *w*¹¹¹⁸ eingekreuzt wurde. Die Fliegen wurden unter Verwendung eines dafür etablierten Versuchsaufbaus (Abbildung 5) täglich dem Rauch einer Zigarette ausgesetzt. Die erhöhte Expression von *ormdl* in den Tracheen der Fliegen hatte starke Auswirkungen auf das Überleben der mit Rauch behandelten Fliegen (Abbildung 6). So wiesen diese Fliegen eine signifikant verkürzte Lebensdauer auf, wobei sich erste deutliche Auswirkungen der Behandlung mit Zigarettenrauch auf das Überleben bei

diesem Modell nach etwa 15 Tagen zeigten. Die verminderte Überlebensrate der PPK4-Gal4xUAS-ORMDL Fliegen war dabei ausschließlich im Zeitraum von 20 bis 40 Tagen zu beobachten.

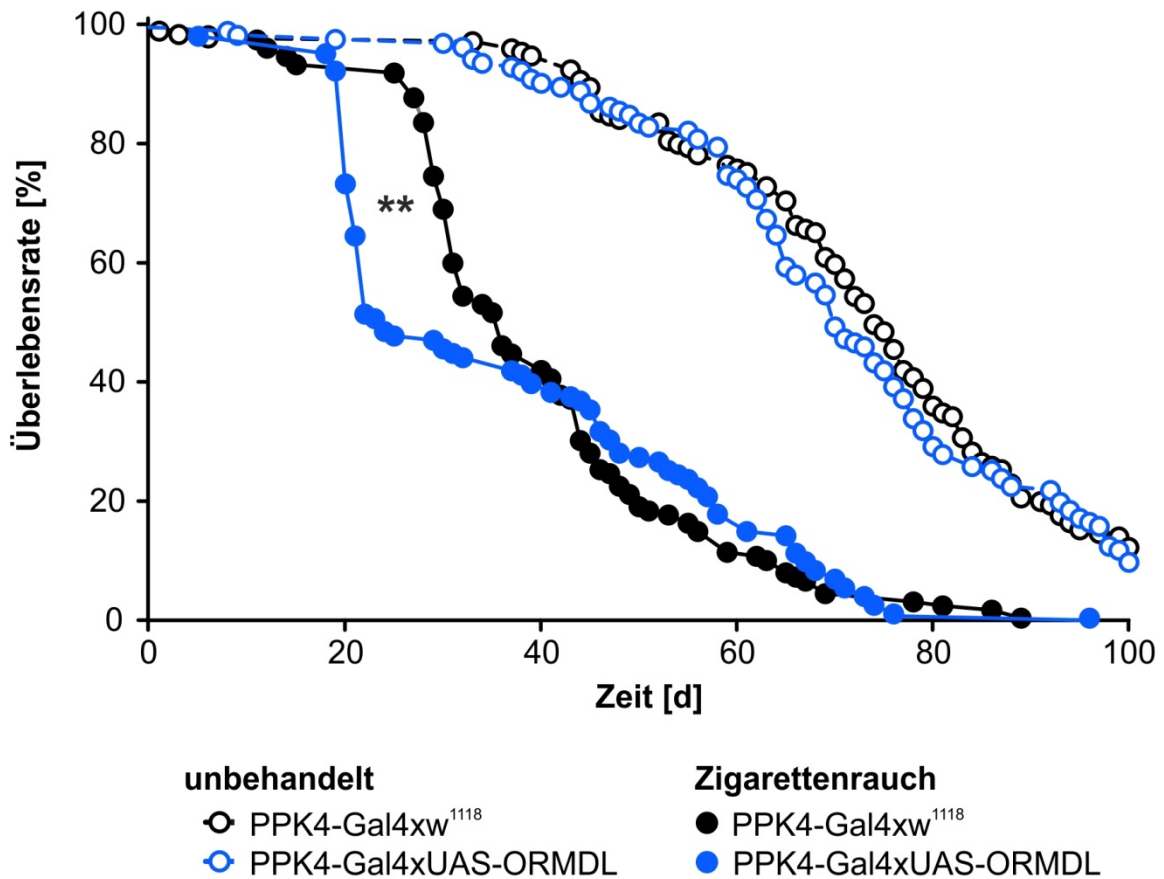


Abbildung 6: *Ormdl*-Überexpression in den adulten Tracheen verstärkt die Morbidität infolge von Zigarettenrauch

Dargestellt ist ein Vergleich der Überlebensraten von Kontroll-Fliegen (PPK4-Gal4xw¹¹¹⁸) und Fliegen mit erhöhter trachealer *ormdl*-Expression (PPK4-Gal4xUAS-ORMDL) ohne weitere Behandlung bzw. nach der Behandlung mit Zigarettenrauch. Unbehandelte Fliegen sind mit weiß gefüllten Symbolen dargestellt, mit Zigarettenrauch behandelte Fliegen mit farbig gefüllten Symbolen. Männliche Fliegen, die innerhalb eines Zeitraumes von 24 h geschlüpft waren, wurden ab einem Alter von 6 Tagen täglich dem Rauch einer Zigarette ausgesetzt. Daten aus drei unabhängigen Experimenten wurden zusammengefasst, hierbei gilt: PPK4-Gal4xw¹¹¹⁸, unbehandelt: n=171, PPK4-Gal4xUAS-ORMDL, unbehandelt: n=151, PPK4-Gal4xw¹¹¹⁸, mit Zigarettenrauch behandelt: n=143, PPK4-Gal4xUAS-ORMDL, mit Zigarettenrauch behandelt: n=136. Die Signifikanz der Unterschiede zwischen mit Zigarettenrauch behandelten Fliegen wurde unter Verwendung des Gehan-Breslow-Wilcoxon-Tests ermittelt. **:p<0,01.

3.1.1.2 *Ormdl*-Überexpression in den larvalen Tracheen verstärkt die Hypoxie-Antwort

Nachdem eine erhöhte *Ormdl*-Expression in den adulten Tracheen einen starken Effekt auf die Morbidität infolge von Zigarettenrauch zeigte, sollte anschließend der Einfluss von ORMDL hinsichtlich der Reaktion auf einen weiteren Stressfaktor, Hypoxie, untersucht werden. Dieser Stressfaktor hat Relevanz bei Asthma, denn dort ist die Antwort auf hypoxischen Stress verstärkt^{127,128}. Im verwendeten Versuchsaufbau wurde sich zunutze gemacht, dass *Drosophila* Larven, die unter Sauerstoffmangel leiden, dem Medium bereits nach Minuten entfliehen¹²⁹, während das Medium normalerweise von den Larven ausschließlich zur Einleitung der Verpuppung verlassen wird. Der prozentuale Anteil von Larven, die sich außerhalb des Mediums befinden, lässt daher Rückschlüsse auf die Empfindlichkeit gegenüber Sauerstoffmangel zu¹¹. Für diesen Versuch wurden die in Abschnitt 3.1.1.1 beschriebenen Kreuzungen verwendet. Die Larven wurden unter Nutzung einer luftdichten Kammer hypoxischen Bedingungen (4-5 % O₂) ausgesetzt und die Anzahl der Larven

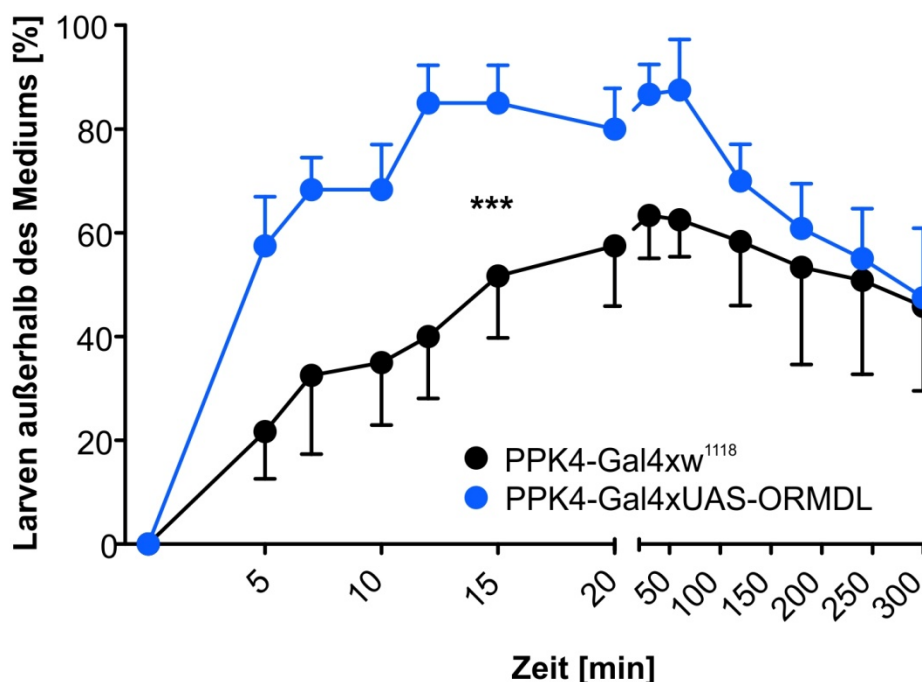


Abbildung 7: *Ormdl*-Überexpression in den larvalen Tracheen verstärkt die Hypoxie-Antwort
 Dargestellt ist ein Vergleich der Hypoxie-Antwort von Kontroll-Larven (PPK4-Gal4xw¹¹¹⁸) und Larven mit erhöhter trachealer *ormdl*-Expression (PPK4-Gal4xUAS-ORMDL). L3-Larven wurden in frisches, aufgelockertes *Drosophila*-Kulturmedium übertragen. Nach einer kurzen Akklimatisierungsphase wurde die Sauerstoffsättigung in einer luftdichten Kammer auf 4-5 % O₂ reduziert. 4 unabhängige Experimente, jeweils n=30 pro Ansatz. Es sind die Mittelwerte und deren Standardfehler (SEM) dargestellt. Die Normalverteilung der Daten wurde mit Hilfe von GraphPad InStat (GraphPad, USA) bestätigt. Die Signifikanz der unterschiedlichen Hypoxie-Antworten zwischen den untersuchten Gruppen wurde unter Verwendung des 2-way ANOVA-Tests bestimmt. ***:p<0,001.

außerhalb des Mediums wurde dokumentiert. Larven mit einer erhöhten Expression von *ormdl* in den Tracheen zeigten dabei ein verstärktes Verlassen des Mediums als Reaktion auf die Hypoxie (Abbildung 7). Besonders ausgeprägt war dieser Unterschied in den ersten 20 min.

Die veränderte Hypoxie-Antwort bei Larven mit einer erhöhten Expression von *ormdl* in den Tracheen wurde anschließend ausführlicher untersucht, indem die zugrunde liegenden molekularen Mechanismen analysiert wurden. Da die Integrität des Atemwegsepithels von entscheidender Bedeutung für den Gasaustausch ist¹³⁰, wurde die Struktur der Zellverbindungen der larvalen Tracheen untersucht. Die beim Menschen vorhandenen und für die Asthma-Pathogenese bedeutenden TJ¹⁰⁵ gibt es bei *Drosophila* nicht. Stattdessen sind hier *Spot Adherens Junctions* (SAJ), *Zonula Adherens* (ZA), *Gap Junctions*, *Hemidherens Junctions* (HAJ) und *plated and smooth*

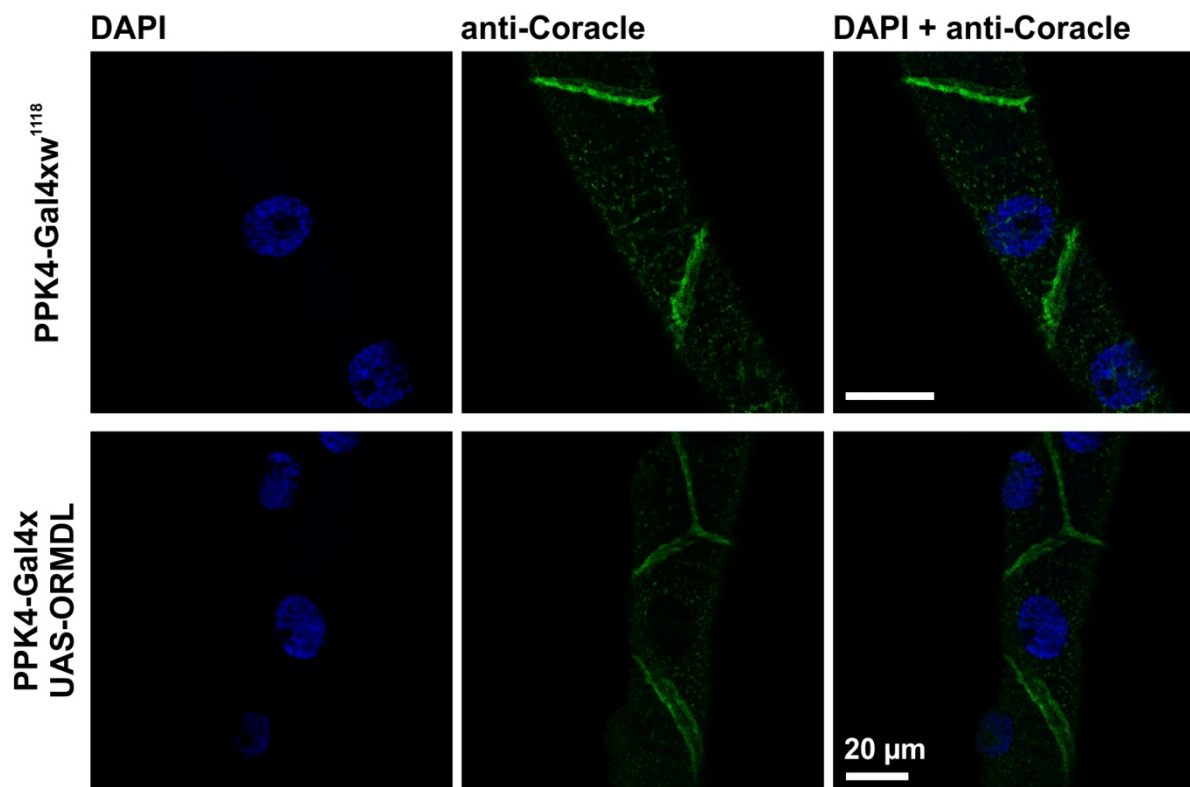


Abbildung 8: *Ormdl*-Überexpression hat keinen Einfluss auf die Struktur der Septate Junctions
 Dargestellt ist ein Vergleich der Immunfärbung des Coracle-Proteins zwischen Kontroll-Larven (PPK4-Gal4xw¹¹¹⁸) und Larven mit erhöhter trachealer *ormdl*-Expression (PPK4-Gal4xUAS-ORMDL). Coracle ist ein Protein der SJ und wurde verwendet, um deren Struktur nachzuweisen. L3-Larven wurden geöffnet, das Gewebe fixiert und anschließend mit dem anti-Coracle-Antikörper, gefolgt von einem sekundären, Fluoreszenz-markierten Antikörper gefärbt (grün). Zur Markierung der DNA der Zellkerne wurde der Farbstoff DAPI (blau) verwendet. Dargestellt sind repräsentative Aufnahmen von n≥17 Tracheen.

Septate Junctions (SJ) zu finden¹³¹, wobei letztere bei *Drosophila* die Funktion der humanen TJ übernehmen¹³². Die Struktur dieser SJ wurde mittels Immunhistochemie untersucht, allerdings waren keine Unterschiede zwischen Tracheen mit erhöhter *ormdl*-Expression und Kontrollen zu beobachten (Abbildung 8).

Um an der erhöhten Hypoxie-Antwort beteiligte Prozesse und Signalwege zu finden, wurde eine Analyse des Genexpressionprofils durchgeführt. Die bioinformatische Analyse dieses Profils zeigte keine signifikante Anreicherung der Regulierung von Genen, die mit bestimmten Signalwegen assoziiert werden. Eine funktionelle

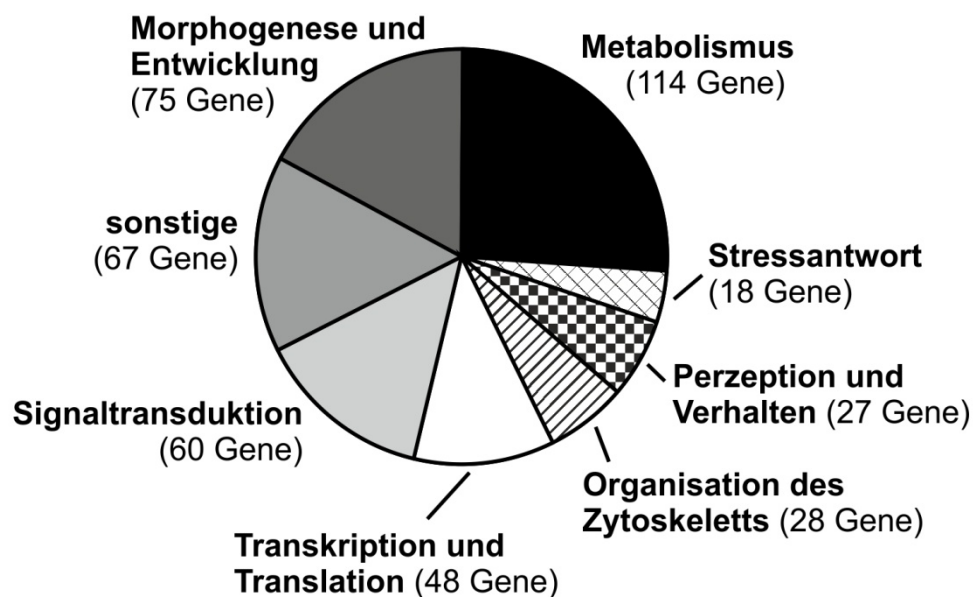


Abbildung 9: Funktionelle Zusammenfassung der Gen-Ontologie-Funktionsklassen mit Anreicherung von assoziierten Genen durch *ormdl*-Deregulierung bei der Hypoxie-Antwort in den Tracheen

Dargestellt ist ein Vergleich von Hypoxie-behandelten, *ormdl* überexprimierenden Tracheen (PPK4-Gal4xUAS-ORMDL) zu Hypoxie-behandelten Kontrolltracheen (PPK4-Gal4xw¹¹¹⁸). Hierbei sind die Gen-Ontologie-Funktionsklassen, bei deren assoziierten Genen eine Anreicherung der Regulierung vorlag, funktionell in Kategorien zusammengefasst. L3-Larven wurden in frisches, aufgelockertes *Drosophila*-Kulturmedium übertragen. Nach einer kurzen Akklimatisierungsphase wurde die Sauerstoffsättigung in einer luftdichten Kammer auf 4-5 % O₂ reduziert. Nach 4 h wurden die Tracheen isoliert und deren RNA wurde in cDNA umgeschrieben und amplifiziert. Es folgte die Umschreibung in cRNA und deren Markierung mit Fluoreszenzfarbstoffen. Die Proben wurden auf einem Mikroarray hybridisiert und dieser anschließend unter Verwendung der GenePix Pro 6- und der Acuity 4.0-Software ausgewertet. Hierbei wurden Mikroarrays aus drei unabhängigen biologischen Replikaten normalisiert und diejenigen Gene bestimmt, die bei mindestens zwei der unabhängigen biologischen Replikate $\geq 1,5$ -fach hoch- oder herunterreguliert waren. Diese Gene wurden unter Verwendung von DAVID^{122,123} hinsichtlich einer Anreicherung der Regulierung von mit bestimmten Signalwegen und Gen-Ontologie-Funktionsklassen assoziierten Genen analysiert. Jene Gene, die in nicht Hypoxie-behandelten, *ormdl* überexprimierenden Tracheen im Vergleich zu nicht Hypoxie-behandelten Kontroll-Tracheen reguliert waren, wurden dabei nicht berücksichtigt.

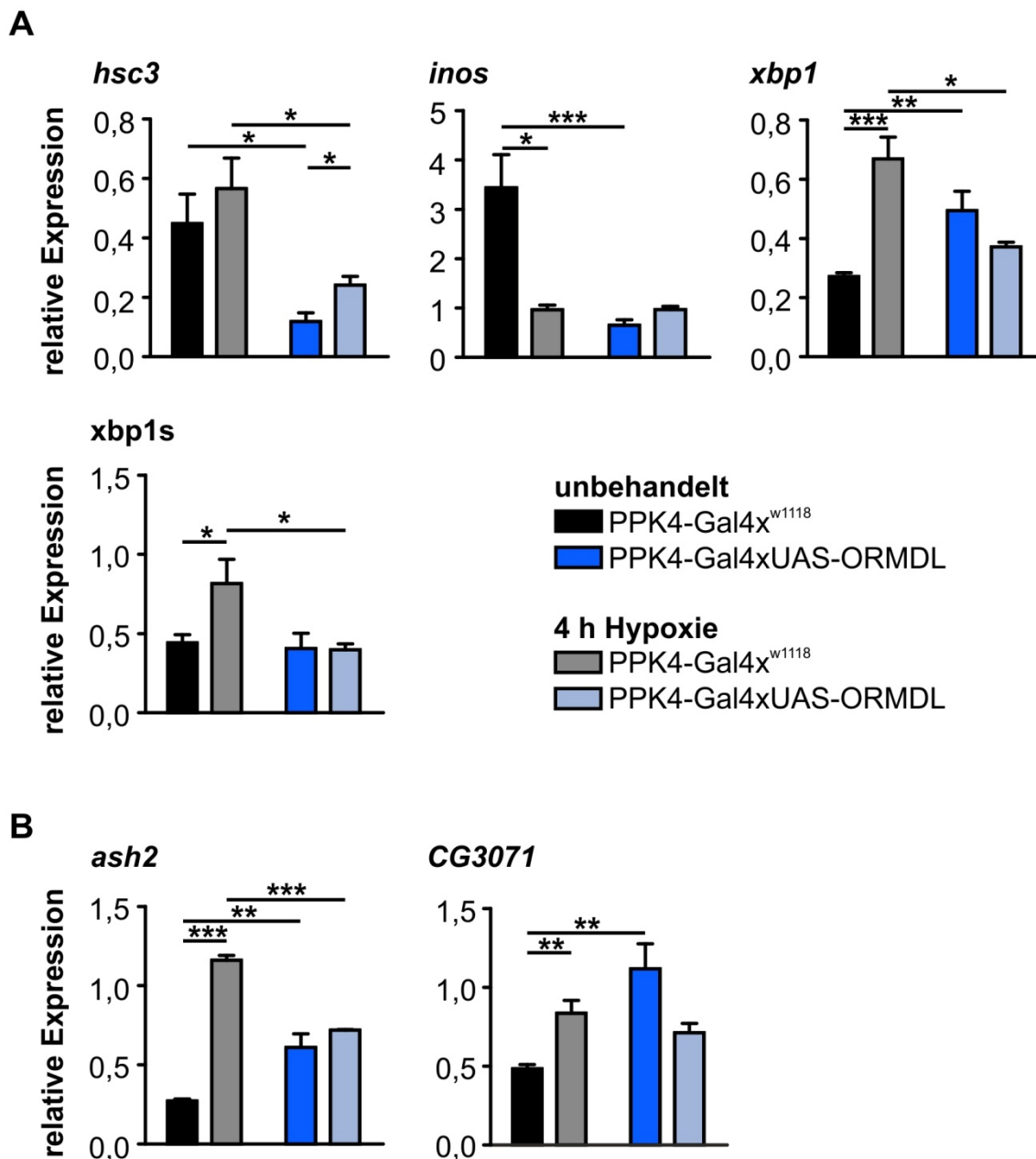


Abbildung 10: Modulation der UPR und des dTOR/PI3K-Signalweges bei der Hypoxie-Antwort durch *ormdl*-Überexpression

Dargestellt ist ein Vergleich der Hypoxie-Antwort zwischen Tracheen aus Kontroll-Larven (PPK4-Gal4x^{w1118}) und aus Larven mit erhöhter trachealer *ormdl*-Expression (PPK4-Gal4xUAS-ORMDL). L3-Larven wurden in frisches, aufgelockertes *Drosophila*-Kulturmedium übertragen. Nach einer kurzen Akklimatisierungsphase wurde die Sauerstoffsättigung in einer luftdichten Kammer auf 4-5 % O₂ reduziert. Nach 4 h wurden die Tracheen isoliert, deren RNA in cDNA umgeschrieben und diese mittels qRT-PCR analysiert (3 unabhängige Experimente, jeweils n=30 pro Ansatz). Es sind die Mittelwerte und deren Standardfehler (SEM) dargestellt. Die Signifikanz der Unterschiede zwischen folgenden Gruppierungen wurde bestimmt: (a) Kontroll-Larven, unbehandelt gegen Hypoxie-behandelt, (b) Larven mit erhöhter trachealer *ormdl*-Expression, unbehandelt gegen Hypoxie-behandelt, (c) Kontroll-Larven gegen Larven mit erhöhter trachealer *ormdl*-Expression, unbehandelt und (d) Kontroll-Larven gegen Larven mit erhöhter trachealer *ormdl*-Expression, Hypoxie-behandelt. Hierfür wurden die Daten zunächst unter Verwendung der Funktion $y=\log(y+0,5)$ transformiert und anschließend unter Verwendung des 2-sample 2-sided t-Tests analysiert. *:p<0,05, **:p<0,01, ***:p<0,001. Analyisierte Daten-gruppierungen ohne Angabe von Sternen sind nicht signifikant unterschiedlich. (A) Analyse der UPR-Zielgene *hsc3*, *inos* und *xbp1* sowie des Spleißens von *xbp1*. (B) Analyse der dTOR/PI3K-Zielgene *ash2* und *CG3071*.

Zusammenfassung der Kategorien der Gen-Ontologie-Funktionsklassen, bei deren assoziierten Genen eine Anreicherung der Regulierung vorlag, ist in Abbildung 9 dargestellt. Den größten Anteil nehmen hierbei Gen-Ontologie-Funktionsklassen des Metabolismus ein. Auch die Regulierung von Genen der Gen-Ontologie-Funktionsklassen von Entwicklungsprozessen, Signaltransduktion, Transkription und Translation, der Organisation des Zytoskeletts, von Perzeption und Verhalten sowie der Stressantwort war signifikant angereichert.

Weiterführend wurde die Expression von Zielgenen zweier Signalwege, die mit der Hypoxie-Antwort assoziiert werden, untersucht. In diesem Fall handelt es sich um die UPR (s. Abschnitt 1.1.2.1) und den *Drosophila Target of rapamycin* (dTOR)/Phosphoinositid-3-Kinase (PI3K)-Signalweg. Der dTOR/PI3K-Signalweg ist an der Regulation einer Vielzahl zellulärer Prozesse wie Wachstum, Differenzierung, Überleben, Proliferation, Migration, Phagozytose und der Produktion von Zytokinen beteiligt^{133,134}. Auch bei der Stressantwort¹³⁴, speziell als Reaktion auf hypoxische Bedingungen¹³⁵, ist der Signalweg von Bedeutung.

Bereits unter nicht-hypoxischen Bedingungen waren sowohl die Expression dreier UPR-Zielgene (*heat shock protein cognate 3 (hsc3)*, *myo-inositol-1-phosphate-synthase (inos)*, *x-box binding protein 1 (xbp1)*, Abbildung 10A) als auch die Expression zweier dTOR/PI3K-Zielgene¹³⁶ (*absent, small, or homeotic discs 2 (ash2)*, *CG3071*, Abbildung 10B) signifikant reguliert. Das Auftreten der gespleißten Form der *xbp1*-mRNA (*xbp1s*), eines Markers für die Aktivierung der UPR (s. Abschnitt 1.1.2.1 und Abbildung 3), war unverändert (Abbildung 10A). Bei Kontrolltieren erfolgte bei der Mehrheit der Zielgene (nicht im Fall von *hsc3*) eine transkriptionelle Reaktion auf die Hypoxie und auch das Spleißen der *xbp1*-mRNA (*xbp1s*) war verstärkt. Im Gegensatz hierzu konnte bei Larven mit erhöhter trachealer *ormdl*-Expression, mit Ausnahme von *hsc3*, keine signifikant veränderte Transkriptionsantwort der untersuchten Gene gefunden werden.

3.1.2 *Ormdl*-Überexpression moduliert die Menge von mehreren Lipiden in den larvalen Tracheen

Im vorherigen Abschnitt 3.1.1.2 wurde eine Modulation der Expression von UPR-Zielgenen durch ORMDL in den larvalen Tracheen gezeigt. Ein möglicher Mechanismus, der die UPR aktivieren kann, sind Störungen bei der Lipidhomöostase (s. Abschnitt 1.1.2.1). Des Weiteren ist ORMDL als Inhibitor der Sphingolipid-

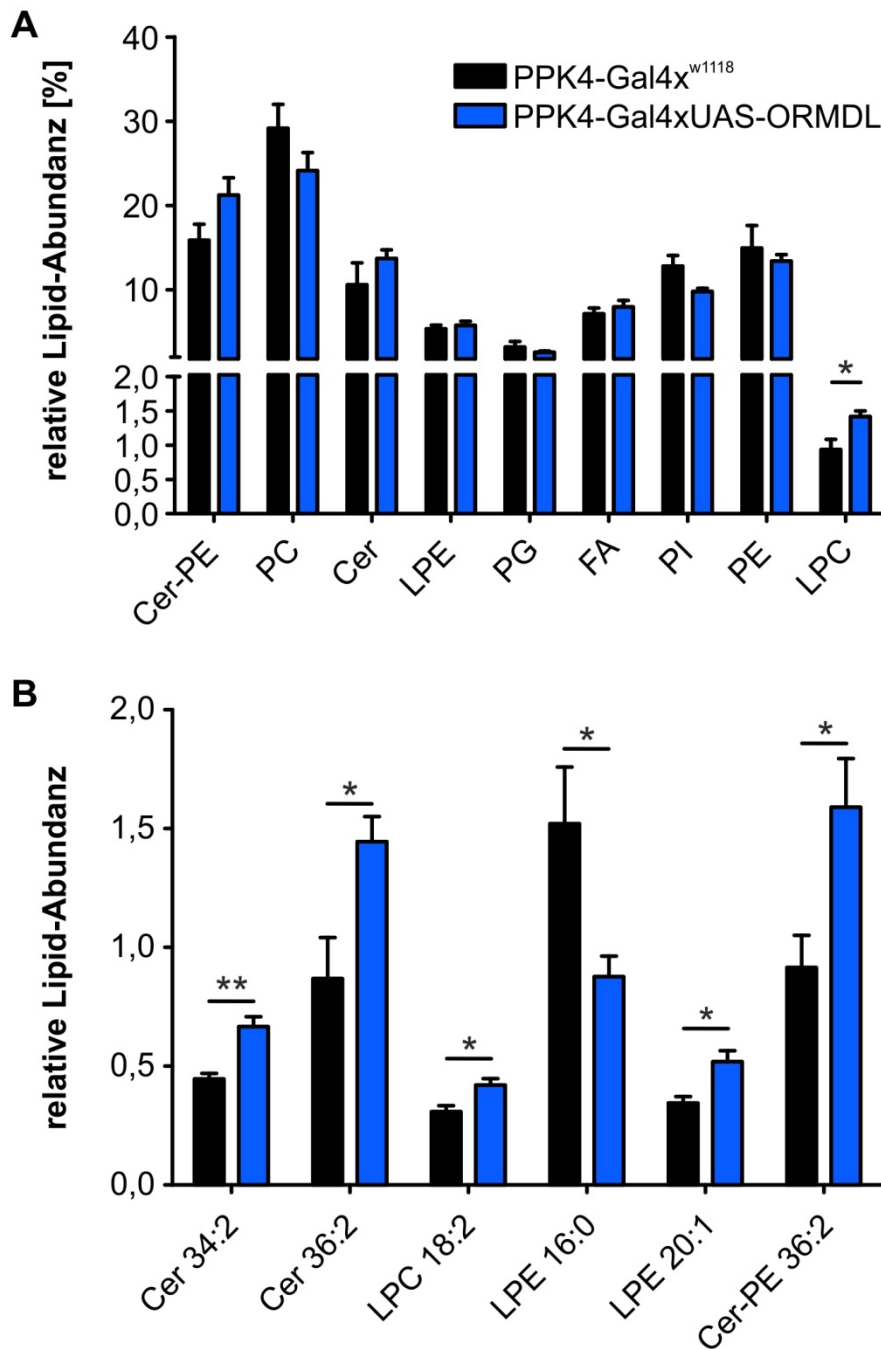


Abbildung 11: Ormdl-Überexpression moduliert die Lipid-Abundanz in den larvalen Tracheen

Dargestellt ist ein Vergleich der relativen Lipidanteile zwischen Tracheen aus Kontroll-Larven (PPK4-Gal4x^{w1118}) und aus Larven mit erhöhter trachealer *ormdl*-Expression (PPK4-Gal4xUAS-ORMDL). Tracheen aus 60 L3-Larven wurden homogenisiert und anschließend auf eine identische Gesamt-Proteinkonzentration eingestellt. Im Folgenden wurden die Proben durch die Kooperationspartner Nicole Zehethofer und PD Dr. Buko Lindner weiterführend verarbeitet. Die Lipide wurden mit der Blish-Dyer-Methode¹²⁵ isoliert und die Lipidkonzentrationen mittels NP-HPLC-MS bestimmt. Die Analyse erfolgte unter Verwendung der Bruker's Data Analysis 3.2 sowie der LipID-Software¹²⁶. Die Lipidmengen wurden auf PC 36:2 normalisiert (≥3 unabhängige Experimente, jeweils n=60 pro Ansatz). Es sind die Mittelwerte und deren Standardfehler (SEM) dargestellt. Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des Mann-Whitney-Tests. *:p<0,05, Datengruppierungen ohne Angabe von Sternen sind nicht signifikant unterschiedlich. (A) Vergleich des Anteils der Lipidklassen Cer-PE, PC, Cer, LPE, PG, FA, PI, PE und LPC in Kontrolltracheen und Tracheen mit erhöhter *ormdl*-Expression. (B) Vergleich der relativen Anteile signifikant durch *ormdl*-Überexpression veränderter Lipide.

Synthese beschrieben, der abhängig von dem Ceramid-Vorkommen agiert^{24,137} und in asthmatischen Atemwegen ist das Vorkommen von Ceramiden erhöht⁵⁴. Die Synthese der Ceramide kann als Antwort auf Stress oder Apoptose induziert werden⁵⁶. Hieraus ergab sich die Fragestellung, ob eine *ormdl*-Überexpression Einfluss auf die Lipid-Zusammensetzung der Atemwege hat. Dies wurde im Rahmen einer Kooperation mit Nicole Zehethofer und PD Dr. Buko Lindner (FZB) untersucht. Folgende Lipidklassen wurden dabei analysiert: Ceramide (Cer), Ceramid-Phosphoethanolamine (Cer-PE), Diacylglycerole (DAG), Fettsäuren (FA), Hexa-Ceramide (HexCer), Lysophosphatidylcholine (LPC), Lysophosphatidylethanolamine (LPE), Phosphatidylcholine (PC), Phosphatidylcholin-Plasmalogene (pPC), Phosphatidylethanolamine (PE), Phosphatidylethanolamin-Plasmalogene (pPE), Phosphatidylglycerole (PG), Phosphatidylinositole (PI), Phosphatidylserine (PS), Sphingomyeline (SM) und Triacylglycerole (TAG). Zunächst wurde der Anteil der Lipidklassen mittels NP-HPLC-MS bestimmt. Dabei wurden in den larvalen Tracheen Cer, Cer-PE, FA, LPC, LPE, PC, PE, PG und PI detektiert. Eine erhöhte Expression von *ormdl* in den larvalen Tracheen hatte eine erhöhte Menge an LPC zur Folge, auf das Vorkommen der weiteren vorgenannten Lipidklassen nahm sie jedoch keinen Einfluss (Abbildung 11A). Innerhalb der Lipidklassen waren zudem verschiedene Lipide aufgrund der erhöhten *ormdl*-Expression signifikant verändert. Dies waren Cer 34:2, Cer 36:2, LPC 18:2, LPE 16:0, LPE 20:1 und Cer-PE 36:2 (Abbildung 11B).

3.1.3 *Ormdl*-Deregulierung moduliert Entwicklungs-, Stress- und Reparatur-assoziierte Prozesse und Signalwege in den Tracheen

Zur Ermittlung weiterer durch ORMDL modulierter Prozesse und Signalwege wurden Mikroarray basierte Analysen des Genexpressionprofils durchgeführt. Hierbei wurden zusätzlich zu Tracheen mit erhöhter *ormdl*-Expression (PPK4-Gal4xUAS-ORMDL) Tracheen mit reduzierter *ormdl*-Expression (PPK4-Gal4xUAS-ORMDL-RNAi) verwendet, um ein umfassenderes Bild zu erhalten.

Eine funktionelle Zusammenfassung der Kategorien der Gen-Ontologie-Funktionsklassen, bei deren assoziierten Genen eine Anreicherung der Regulierung vorlag, ist in Abbildung 12 dargestellt. Nahezu die Hälfte dieser Gen-Ontologie-Funktionsklassen war mit der Morphogenese und der Entwicklung assoziiert. Die weiteren Gen-Ontologie-Funktionsklassen, bei deren assoziierten Genen eine Anreicherung der Regulierung vorlag, standen im Wesentlichen in Zusammenhang mit Metabolismus, Transkription und Translation, Membran und ECM, Regulierung von Lokalisie-

rung und Transport, Signaltransduktion, Proteolyse, zellulärer Homöostase, Zellzyklus und Stressantwort. Zusätzlich war bei vier Signalwegen die Regulierung assoziierter Gene in den Tracheen mit *ormdl*-Deregulierung signifikant angereichert: Wnt-, Notch-, *Epidermal growth factor receptor* (EGFR)- und dTOR/PI3K.

Bei der angewandten Form der bioinformatischen Analyse von der Anreicherung der Regulierung von mit bestimmten Signalwegen und Gen-Ontologie-Funktionsklassen assoziierten Genen wird davon ausgegangen, dass die Anreicherung eine Regulation widerspiegelt. Die Identität der einzelnen Gene und die Stärke ihrer Expression sind in Abbildung 13A (Wnt-Signalweg), Abbildung 14A (Notch- Signalweg),

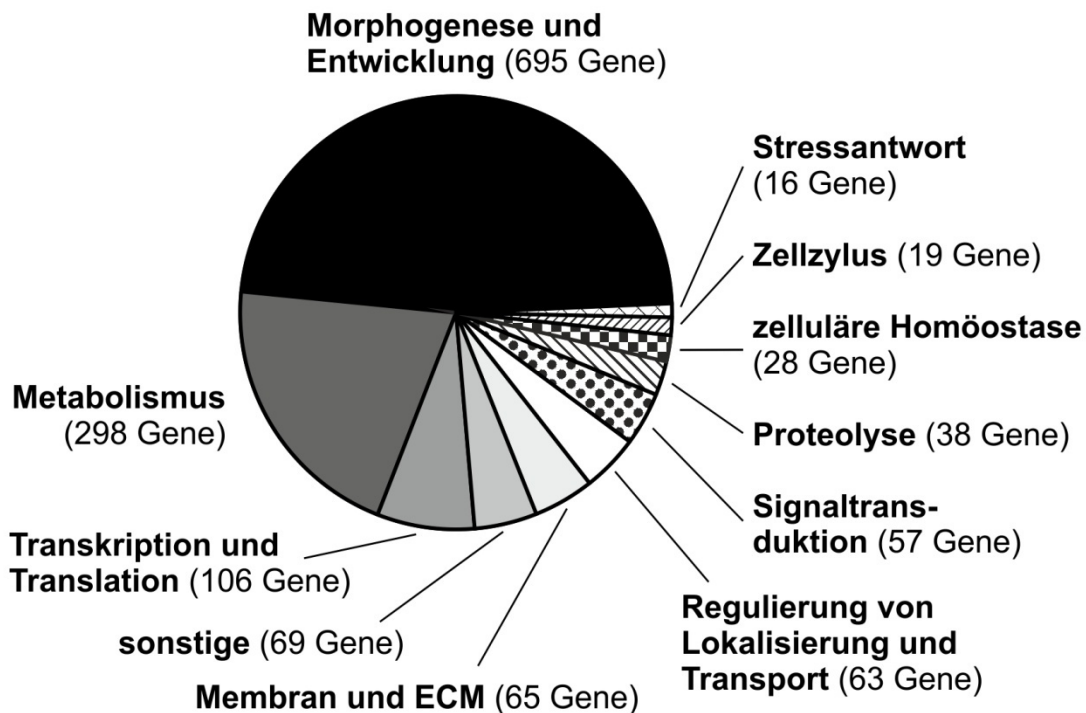


Abbildung 12: Funktionelle Zusammenfassung der Gen-Ontologie-Funktionsklassen mit Anreicherung von assoziierten Genen durch *ormdl*-Deregulierung in den Tracheen

Dargestellt ist ein Vergleich von *ormdl*-überexprimierenden Tracheen (PPK4-Gal4xUAS-ORMDL) und Tracheen mit reduzierter *ormdl*-Expression (PPK4-Gal4xUAS-ORMDL-RNAi) zu Kontrolltracheen (PPK4-Gal4xw¹¹¹⁸). Hierbei sind die Gen-Ontologie-Funktionsklassen, bei deren assoziierten Genen eine Anreicherung der Regulierung vorlag, funktionell in Kategorien zusammengefasst. RNA aus Tracheen aus 30 L3-Larven wurde in cDNA umgeschrieben und amplifiziert. Es folgte die Umschreibung in cRNA und die Markierung mit Fluoreszenzfarbstoffen. Die Proben wurden auf einem Mikroarray hybridisiert und dieser anschließend unter Verwendung der GenePix Pro 6- und der Acuity 4.0-Software ausgewertet. Hierbei wurden Mikroarrays aus drei unabhängigen biologischen Replikaten normalisiert und diejenigen Gene bestimmt, die bei mindestens zwei der unabhängigen biologischen Replikate $\geq 1,5$ -fach hoch- oder herunterreguliert waren. Diese Gene wurden unter Verwendung von DAVID^{122,123} hinsichtlich signifikant angereicherter Signalwege und Gen-Ontologie-Funktionsklassen analysiert. Dargestellt ist eine Zusammenfassung der signifikant angereicherten Gen-Ontologie-Funktionsklassen in unterschiedlichen Kategorien.

Abbildung 15A (EGFR-Signalweg) und Abbildung 16A (dTOR/PI3K-Signalweg) dargestellt. Diese Gene spielen als Grundlage bei der Analyse von Signalwegen und Gen-Ontologie-Funktionsklassen individuell eine sekundäre, untergeordnete Rolle und sollen aus diesem Grund nicht im Einzelnen beschrieben werden. Generell zu beachten ist hierbei, dass einzelne Gene mit mehreren Signalwegen assoziiert sein können, was die Tatsache reflektiert, dass Signalwege oft miteinander verknüpft sind und interagieren. Zur Prüfung der aufgrund der Anreicherung von assoziierten Genen angenommenen Regulierung der Signalwege wurde ergänzend zu jedem der vier Signalwege die Expression von Zielgenen mittels qRT-PCR untersucht.

Zur Analyse des Wnt-Signalweges wurden die Zielgene *engrailed (en)*¹³⁸, *frizzled (fz)*¹³⁹ und *nemo*¹⁴⁰ verwendet. *En* kodiert einen Transkriptionsfaktor¹⁴¹, *fz* den Rezeptor des Wnt-Signalweges¹³⁹ und *nemo* eine dem Frizzled-Rezeptor nachgeschaltete Serin/Threoninkinase¹⁴⁰. Während für *en* und *nemo* keine signifikante Regulierung durch eine erhöhte oder reduzierte *ormdl*-Expression erfolgte, war für *fz* in beiden Fällen eine erhöhte Expression zu beobachten (Abbildung 13B).

Auch die untersuchten Zielgene des Notch-Signalweges wiesen ein unterschiedliches Expressionsprofil auf (Abbildung 14B). Hier wurden die Zielgene *numb*, *amun* und *delta (dl)* analysiert. Diese Zielgene wurden mit Hilfe von Mikroarray-Analysen ausgewählt und mittels qRT-PCR verifiziert (Daten nicht gezeigt). *Numb* ist ein Negativregulator des Notch-Signalweges bei Entwicklungsvorgängen¹⁴², *Amun* ein transkriptioneller Modulator¹⁴³ und *Delta* ist der Ligand des Notch-Signalweges¹⁴⁴. Das Gen *numb* war durch die veränderte *ormdl*-Expression nicht reguliert, *amun* wurde durch erhöhte und reduzierte *ormdl*-Expression gleichermaßen stark herunterreguliert und *dl* wurde bei einer verringerten *ormdl*-Expression reduziert exprimiert. Die EGFR- (Abbildung 15B) und dTOR/PI3K-Zielgene (Abbildung 16B) wiesen ein einheitlicheres Expressionsprofil auf. Im Zusammenhang mit dem EGFR-Signalweg wurden die Zielgene *achaete (ac)*, *Coracle (cora)* und *spitz (spi)* analysiert. Wie auch die Notch-Zielgene wurden die EGFR-Zielgene mit Hilfe von Mikroarray-Analysen ausgewählt und mittels qRT-PCR verifiziert (Daten nicht gezeigt). *Achaete* ist ein Transkriptionsfaktor¹⁴⁵ und *Spitz* ein Ligand des EGFR-Signalweges¹⁴⁶, *Coracle* ein Negativregulator des EGFR-Signalweges und zugleich ein wichtiger struktureller und funktioneller Bestandteil der SJ¹⁴⁷. Diese EGFR-Zielgene wurden im Falle einer *ormdl*-Deregulierung reduziert exprimiert. Obwohl eine reduzierte Expression im Falle

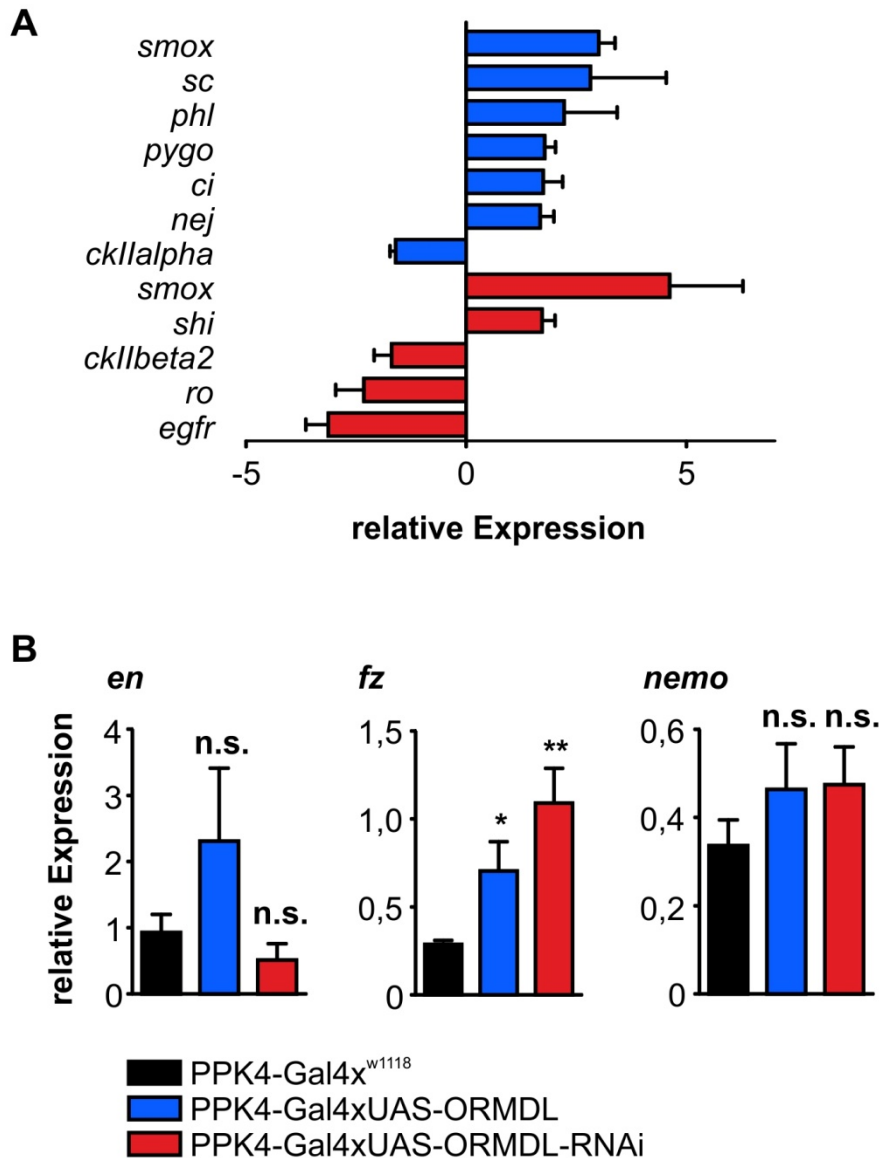


Abbildung 13: Modulation des Wnt-Signalweges durch *ormdl*-Deregulierung in den Tracheen

(A) Dargestellt sind Gene, die mit dem Wnt-Signalweg assoziiert sind und die in *ormdl* überexprimierenden Tracheen (PPK4-Gal4xUAS-ORMDL) und Tracheen mit reduzierter *ormdl*-Expression (PPK4-Gal4xUAS-ORMDL-RNAi) im Vergleich zu Kontrolltracheen (PPK4-Gal4x^{w1118}) reguliert waren. RNA aus Tracheen aus 30 L3-Larven wurde in cDNA umgeschrieben und amplifiziert. Es folgte die Umschreibung in cRNA und die Markierung mit Fluoreszenzfarbstoffen. Die Proben wurden auf einem Mikroarray hybridisiert und dieser anschließend unter Verwendung der GenePix Pro 6- und der Acuity 4.0-Software ausgewertet. Es sind die Mittelwerte und deren Standardfehler (SEM) aus drei unabhängigen biologischen Replikaten dargestellt.

(B) Es ist die Analyse von drei Zielgenen des Wnt-Signalweges dargestellt. Tracheen mit erhöhter (PPK4-Gal4xUAS-ORMDL) und reduzierter *ormdl*-Expression (PPK4-Gal4xUAS-ORMDL-RNAi) sowie Kontrolltracheen (PPK4-Gal4x^{w1118}) wurden isoliert, deren RNA in cDNA umgeschrieben und diese mittels qRT-PCR analysiert (5 unabhängige Experimente, jeweils n=30 pro Ansatz). Es sind die Mittelwerte und deren Standardfehler (SEM) dargestellt. Zur Bestimmung der Signifikanz der Unterschiede wurden die Daten zunächst unter Verwendung der Funktion $y=\log(y+0,5)$ transformiert und anschließend mittels 2-sample 2-sided t-Tests analysiert. n.s.: nicht signifikant, *:p<0,05, **:p<0,01.

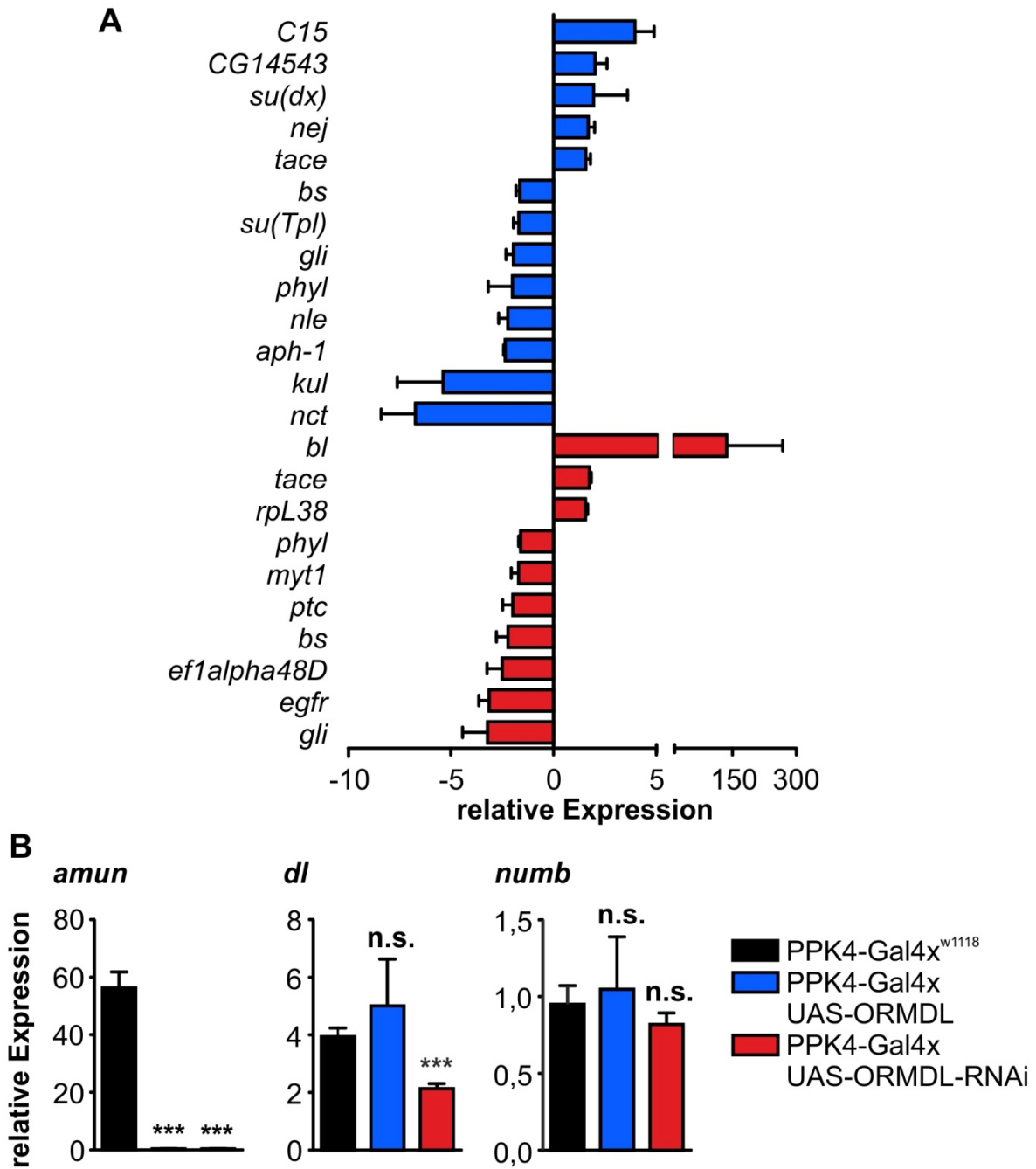


Abbildung 14: Modulation des Notch-Signalweges durch *ormdl*-Deregulierung in den Tracheen

(A) Dargestellt sind Gene, die mit dem Notch-Signalweg assoziiert sind und die in *ormdl* über-exprimierenden Tracheen (PPK4-Gal4xUAS-ORMDL) und Tracheen mit reduzierter *ormdl*-Expression (PPK4-Gal4xUAS-ORMDL-RNAi) im Vergleich zu Kontrolltracheen (PPK4-Gal4x^{w1118}) reguliert waren. RNA aus Tracheen aus 30 L3-Larven wurde in cDNA umgeschrieben und amplifiziert. Es folgte die Umschreibung in cRNA und die Markierung mit Fluoreszenzfarbstoffen. Die Proben wurden auf einem Mikroarray hybridisiert und dieser anschließend unter Verwendung der GenePix Pro 6- und der Acuity 4.0-Software ausgewertet. Es sind die Mittelwerte und deren Standardfehler (SEM) aus drei unabhängigen biologischen Replikaten dargestellt.

(B) Dargestellt ist die Analyse von Zielgenen des Notch-Signalweges. Tracheen mit erhöhter und reduzierter *ormdl*-Expression sowie Kontrolltracheen wurden isoliert, ihre RNA in cDNA umgeschrieben und diese mittels qRT-PCR analysiert (5 unabhängige Experimente, n=30 pro Ansatz). Es sind die Mittelwerte und deren Standardfehler (SEM) dargestellt. Zur Bestimmung der Signifikanz der Unterschiede wurden die Daten zunächst unter Verwendung der Funktion $y=\log(y+0,5)$ transformiert und anschließend mittels 2-sample 2-sided t-Tests analysiert. n.s.: nicht signifikant, ***: $p < 0,001$.

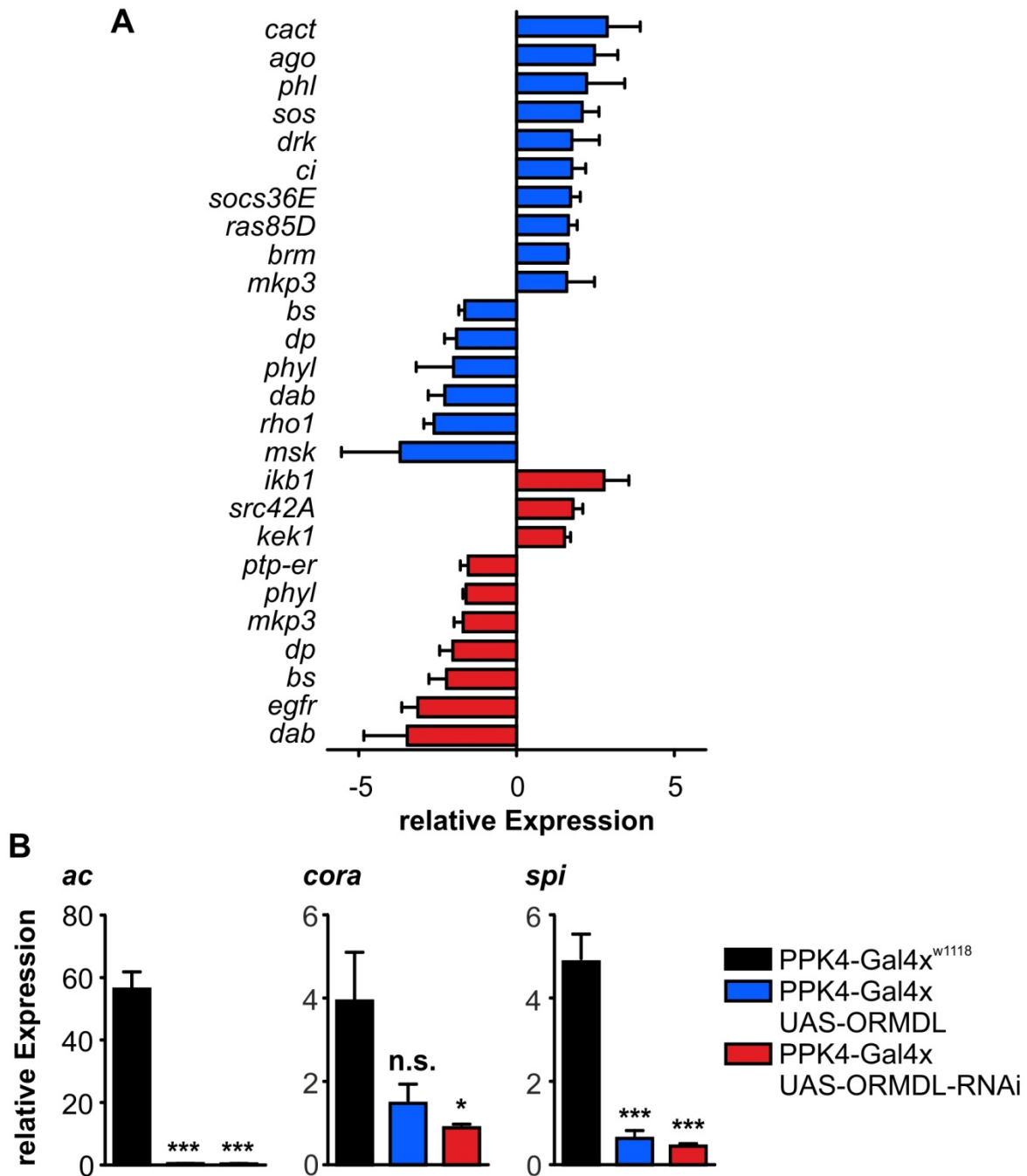


Abbildung 15: Modulation des EGFR-Signalweges durch *ormdl*-Deregulierung in den Tracheen
 (A) Dargestellt sind Gene, die mit dem EGFR-Signalweg assoziiert sind und die in *ormdl* über-exprimierenden Tracheen (PPK4-Gal4xUAS-ORMDL) und Tracheen mit reduzierter *ormdl*-Expression (PPK4-Gal4xUAS-ORMDL-RNAi) im Vergleich zu Kontrolltracheen (PPK4-Gal4x^{w1118}) reguliert waren. RNA aus Tracheen aus 30 L3-Larven wurde in cDNA umgeschrieben und amplifiziert. Es folgte die Umschreibung in cRNA und die Markierung mit Fluoreszenzfarbstoffen. Die Proben wurden auf einem Mikroarray hybridisiert und dieser anschließend unter Verwendung der GenePix Pro 6- und der Acuity 4.0-Software ausgewertet. Es sind die Mittelwerte und deren Standardfehler (SEM) aus drei unabhängigen biologischen Replikaten dargestellt.
 (B) Dargestellt ist die Analyse von Zielgenen des EGFR-Signalweges. Tracheen mit erhöhter und reduzierter *ormdl*-Expression sowie Kontrolltracheen wurden isoliert, ihre RNA in cDNA umgeschrieben und diese mittels qRT-PCR analysiert (5 unabhängige Experimente, n=30 pro Ansatz). Es sind die Mittelwerte und deren Standardfehler (SEM) dargestellt. Zur Bestimmung der Signifikanz der Unterschiede wurden die Daten zunächst unter Verwendung der Funktion $y=\log(y+0,5)$ transformiert und anschließend mittels 2-sample 2-sided t-Tests analysiert. n.s.: nicht signifikant, *:p<0,05, ***:p<0,001.

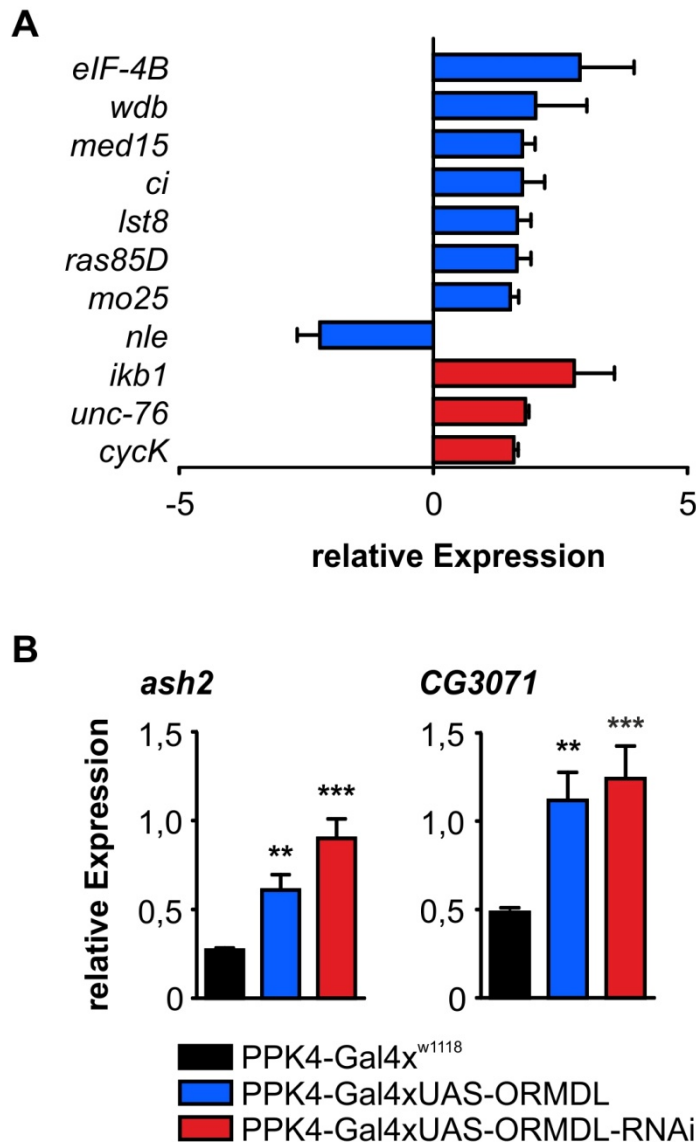


Abbildung 16: Modulation des dTOR/PI3K/Akt-Signalweges durch *ormdl*-Deregulierung in den Tracheen

(A) Dargestellt sind Gene, die mit dem dTOR/PI3K/Akt-Signalweg assoziiert sind und die in *ormdl* überexprimierenden Tracheen (PPK4-Gal4xUAS-ORMDL) und Tracheen mit reduzierter *ormdl*-Expression (PPK4-Gal4xUAS-ORMDL-RNAi) im Vergleich zu Kontrolltracheen (PPK4-Gal4x^{w1118}) reguliert waren. RNA aus Tracheen aus 30 L3-Larven wurde in cDNA umgeschrieben und amplifiziert. Es folgte die Umschreibung in cRNA und die Markierung mit Fluoreszenzfarbstoffen. Die Proben wurden auf einem Mikroarray hybridisiert und dieser anschließend unter Verwendung der GenePix Pro 6- und der Acuity 4.0-Software ausgewertet. Es sind die Mittelwerte und deren Standardfehler (SEM) aus drei unabhängigen biologischen Replikaten dargestellt.

(B) Dargestellt ist die Analyse von Zielgenen des dTOR/PI3K/Akt-Signalweges. Tracheen mit erhöhter und reduzierter *ormdl*-Expression sowie Kontrolltracheen wurden isoliert, ihre RNA in cDNA umgeschrieben und diese mittels qRT-PCR analysiert (5 unabhängige Experimente, n=30 pro Ansatz). Es sind die Mittelwerte und deren Standardfehler (SEM) dargestellt. Zur Bestimmung der Signifikanz der Unterschiede wurden die Daten zunächst unter Verwendung der Funktion $y=\log(y+0,5)$ transformiert und anschließend mittels 2-sample 2-sided t-Tests analysiert. **:p<0,01, ***:p<0,001.

von *cora* nicht in allen Ansätzen signifikant war, konnte auch hier eine entsprechende Tendenz beobachtet werden. Darüber hinaus wurden die dTOR/PI3K-Zielgene *ash2* und *CG3071*¹³⁶ bei einer veränderten *ormdl*-Expression signifikant verstärkt exprimiert.

3.2 Die funktionelle Relevanz von ORMDL im Darm von *Drosophila melanogaster*

Neben einer Assoziation von *ORMDL3* mit Asthma konnte auch eine Assoziation mit anderen Krankheiten wie IBD^{50,67,68} gezeigt werden. Asthma und die IBD Morbus Crohn haben viele Gemeinsamkeiten (Tabelle 1) und *Drosophila* ist ein bereits etabliertes IBD-Modell¹⁴⁸. Aus diesem Grund sollten die funktionelle Bedeutung von ORMDL auch im Darm von *Drosophila melanogaster* untersucht werden.

3.2.1 *Ormdl*-Überexpression erhöht die durch Natrium-Dextransulfat induzierte Morbidität

In den Tracheen wurde im vorangegangenen Abschnitt mit Hilfe von Mikroarray-Analysen eine Modulation der Reparatur-assoziierten Signalwege Notch und EGFR gezeigt. Im Gegensatz zu den Tracheen besitzt der Darm einen hohen Grundumsatz: es wird davon ausgegangen, dass die intestinalen Zellen innerhalb von einer Woche erneuert werden¹⁴⁹. Aus diesem Grund sollte der Einfluss von ORMDL auf die Erneuerung des Darmepithels untersucht werden. Hierfür wurde die Substanz DSS genutzt, da diese toxisch ist und eine Gewebeschädigung hervorrufen kann, die bei Mäusen eine Kolitis induziert¹⁵⁰. Fliegen mit einer erhöhten *ormdl*-Expression in den Enterocyten zeigten eine signifikant verringerte Lebensdauer nach oraler Verabreichung von DSS (Abbildung 17). Hierbei hatte die DSS-Behandlung bereits nach etwa 5 Tagen einen Effekt auf die Lebensdauer und Unterschiede zwischen Fliegen mit einer erhöhten *ormdl*-Expression in den Enterocyten und Kontrollfliegen waren von Tag 5 bis 9 ersichtlich. 14 Tage überlebte keine der mit DSS behandelten Fliegen, die Kontrollbehandlung hingegen zeigte innerhalb dieses Zeitraumes kaum Effekte auf das Überleben der Fliegen.

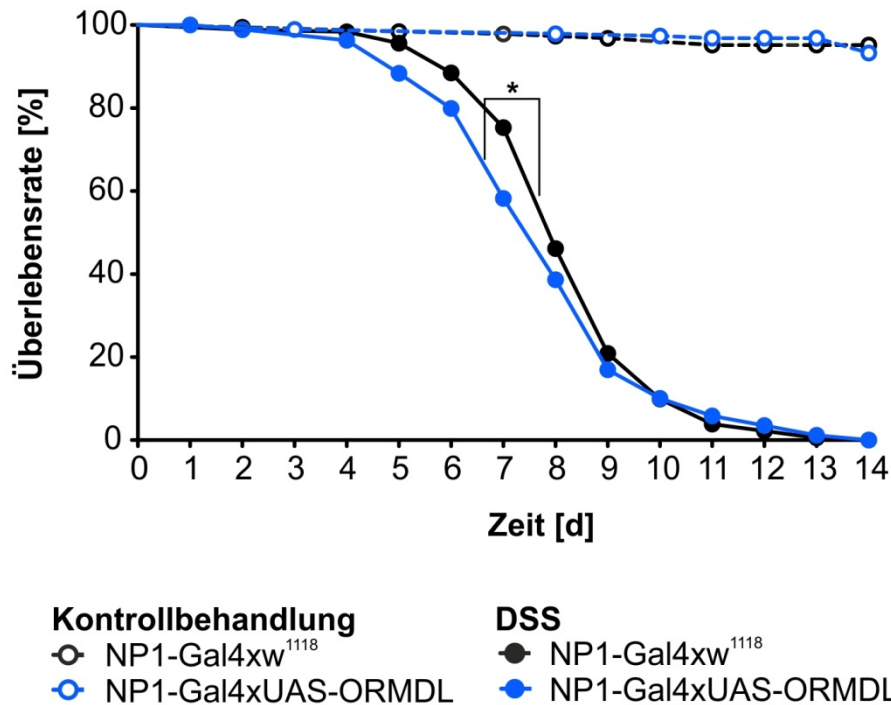


Abbildung 17: *Ormdl*-Überexpression erhöht die Morbidität infolge der Aufnahme von DSS

Dargestellt ist ein Vergleich der Überlebensrate von Kontroll-Fliegen (NP1-Gal4xw¹¹¹⁸) und Fliegen mit erhöhter intestinaler *ormdl*-Expression (NP1-Gal4xUAS-ORMDL) ohne weitere Behandlung bzw. nach der oralen Verabreichung von DSS. Unbehandelte Fliegen (Kontrollbehandlung: 5 %ige Glucose-Lösung) sind mit weiß gefüllten Symbolen dargestellt, mit DSS behandelte Fliegen (3 % DSS in 5 %iger Glucose-Lösung) mit farbig gefüllten Symbolen. Männliche Fliegen, die innerhalb eines Zeitraumes von 24 h geschlüpft waren, wurden ab einem Alter von 6 Tagen verwendet. Die Fliegen wurden in Fliegenröhrchen ohne *Drosophila*-Kulturmedium gehalten. Die Daten aus vier unabhängigen Experimenten wurden zusammengefasst, hierbei gilt: NP1-Gal4xw¹¹¹⁸, Kontrollbehandlung: n=186, NP1-Gal4xUAS-ORMDL, Kontrollbehandlung: n=190, NP1-Gal4xw¹¹¹⁸, DSS: n=182, PPK4-Gal4xUAS-ORMDL, DSS: n=191. Die Signifikanz der Unterschiede zwischen mit DSS behandelten Fliegen wurde unter Verwendung des Gehan-Breslow-Wilcoxon-Tests ermittelt. *:p<0,05.

3.2.2 *Ormdl*-Deregulierung moduliert Entwicklungs-, Stress- und Reparatur-assoziierte Prozesse und Signalwege im Darm

Ergänzend sollte herausgefunden werden, welche Prozesse und Signalwege im Darm von ORMDL moduliert werden. Für diese Untersuchungen wurden Mikroarray-Analysen von Darmgewebe aus Kontrolllarven sowie aus Larven mit erhöhter und reduzierter intestinaler *ormdl*-Expression durchgeführt. Hierbei konnten die Gen-Ontologie-Funktionsklassen, bei deren assoziierten Genen eine Anreicherung der Regulierung vorlag, funktionell in elf Kategorien zusammengefasst werden: Morphogenese und Entwicklung, Signaltransduktion, Regulierung von Lokalisierung und Transport, Proteolyse, Membran und ECM, Immun- und Stressantwort, Metabolismus, Phagozytose, Adhäsion, zelluläre Homöostase sowie Faltung von Proteinen (Abbildung 18).

Zudem war bei zwei Signalwegen die Regulierung assoziierter Gene in den Därmen mit *ormdl*-Deregulierung signifikant angereichert: Notch und EGFR. Die in Därmen mit erhöhter und reduzierter *ormdl*-Expression regulierten und mit diesen Signalwegen assoziierten Gene sind in Abbildung 19 dargestellt. Ergänzend zu den mit den Signalwegen assoziierten Genen wurde zu diesen Signalwegen jeweils die Expression von Zielgenen analysiert (Abbildung 20). Für den EGFR-Signalweg wurden die Zielgene *ac*, *cora* und *spi* untersucht, für den Notch-Signalweg *amun*, *numb* und *dl*. Während die Expression von *cora* durch eine deregulierte *ormdl*- Expression nicht

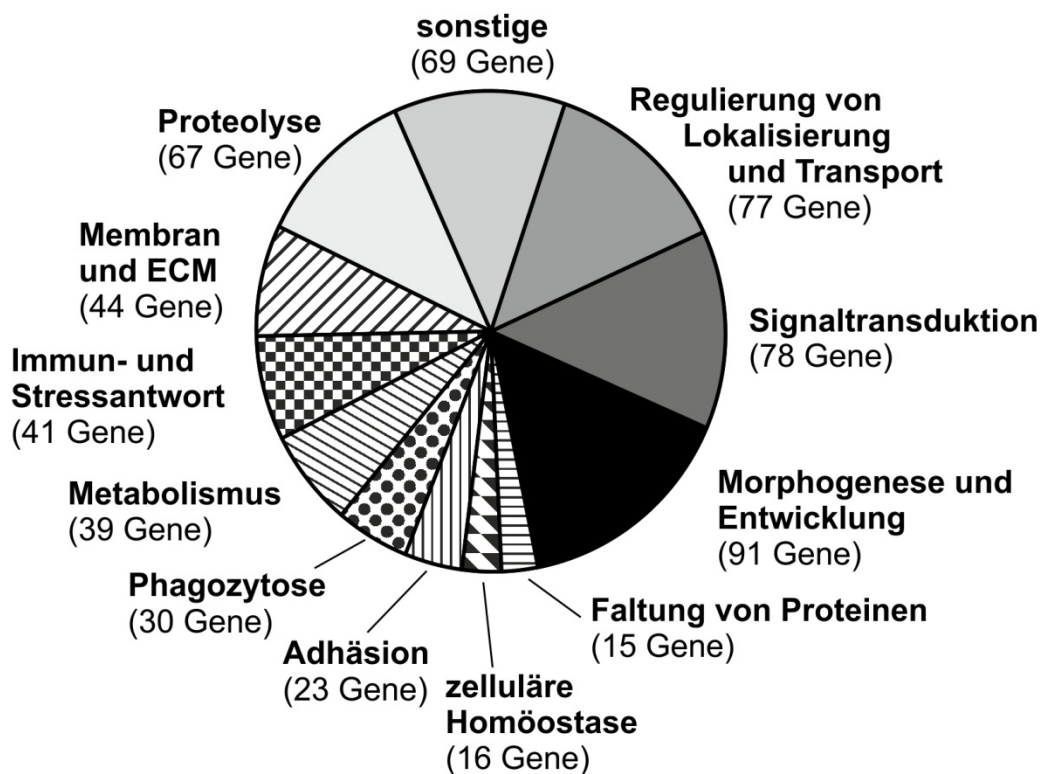


Abbildung 18: Funktionelle Zusammenfassung der Gen-Ontologie-Funktionsklassen mit Anreicherung von assoziierten Genen durch *ormdl*-Deregulierung im Darm

Dargestellt ist ein Vergleich von *ormdl* überexprimierenden Därmen (NP1-Gal4xUAS-ORMDL) und Därmen mit reduzierter *ormdl*-Expression (NP1-Gal4xUAS-ORMDL-RNAi) mit Kontrolldärmen (NP1-Gal4xw¹¹¹⁸). Hierbei sind die Gen-Ontologie-Funktionsklassen, bei deren assoziierten Genen eine Anreicherung der Regulierung vorlag, funktionell in Kategorien zusammengefasst. RNA aus Därmen von 15 L3-Larven wurde in cDNA umgeschrieben und amplifiziert. Es folgte die Umschreibung in cRNA und die Markierung mit Fluoreszenzfarbstoffen. Die Proben wurden auf einem Mikroarray hybridisiert und dieser anschließend unter Verwendung der GenePix Pro 6- und der Acuity 4.0-Software ausgewertet. Hierbei wurden Mikroarrays aus drei unabhängigen biologischen Replikaten normalisiert und diejenigen Gene bestimmt, die bei mindestens zwei der unabhängigen biologischen Replikate $\geq 1,5$ -fach hoch- oder herunterreguliert waren. Diese Gene wurden unter Verwendung von DAVID^{122,123} hinsichtlich einer Anreicherung der Regulierung von mit bestimmten Signalwegen und Gen-Ontologie-Funktionsklassen assoziierten Genen analysiert.

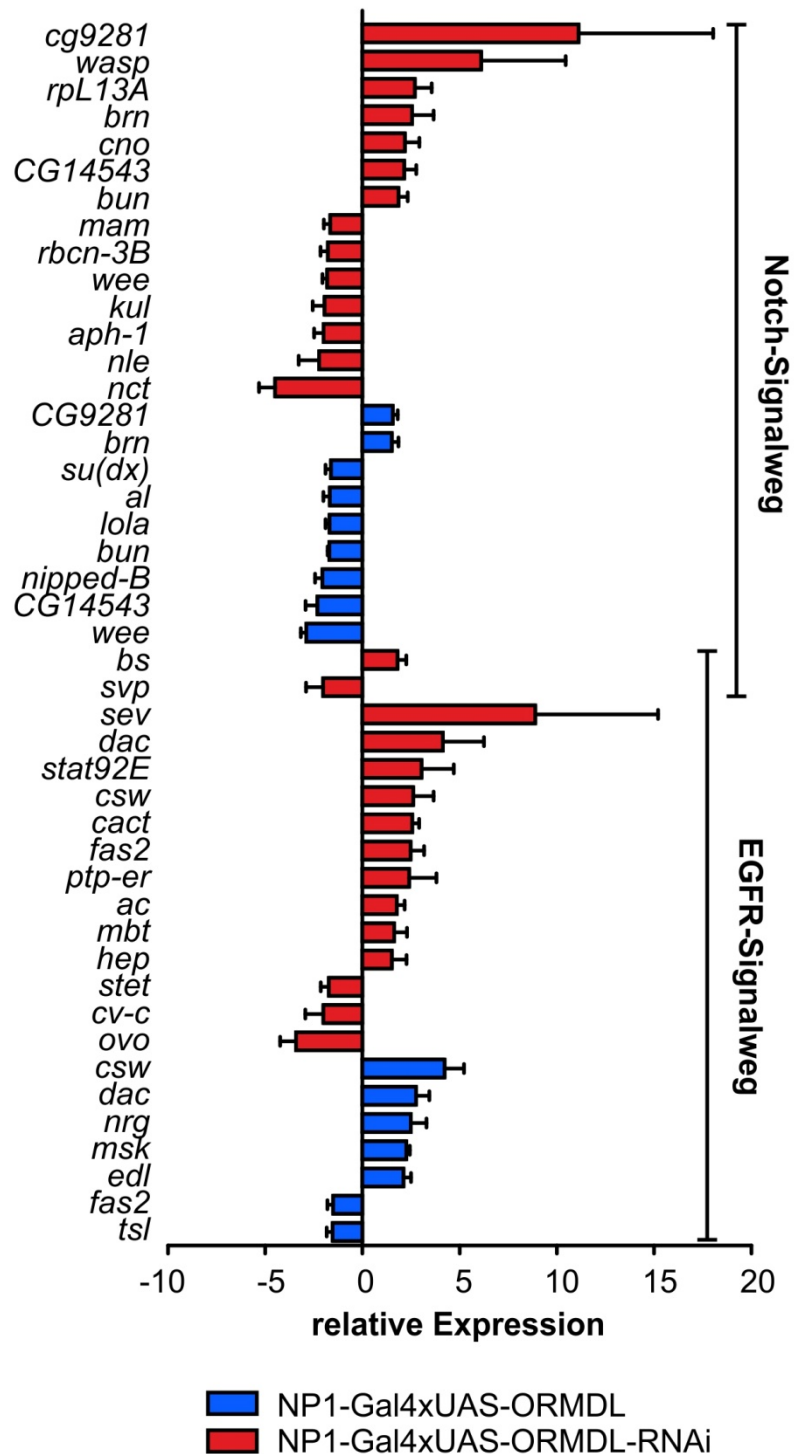


Abbildung 19: Modulation der Notch- und EGFR-Signalwege durch *ormdl*-Deregulierung im Darm – regulierte und mit den Signalwegen assoziierte Gene

Dargestellt sind Gene, die mit den Notch- und EGFR-Signalwegen assoziiert sind und die in *ormdl* überexprimierenden Därmen (NP1-Gal4xUAS-ORMDL) und Därmen mit reduzierter *ormdl*-Expression (NP1-Gal4xUAS-ORMDL-RNAi) im Vergleich zu Kontrolldärmen (NP1-Gal4xw¹¹¹⁸) reguliert waren. RNA aus Därmen von 15 L3-Larven wurde in cDNA umgeschrieben und amplifiziert. Es folgte die Umschreibung in cRNA und deren Markierung mit Fluoreszenzfarbstoffen. Die Proben wurden auf einem Mikroarray hybridisiert und dieser anschließend unter Verwendung der GenePix Pro 6- und der Acuity 4.0-Software ausgewertet. Es sind die Mittelwerte und deren Standardfehler (SEM) aus drei unabhängigen biologischen Replikaten dargestellt.

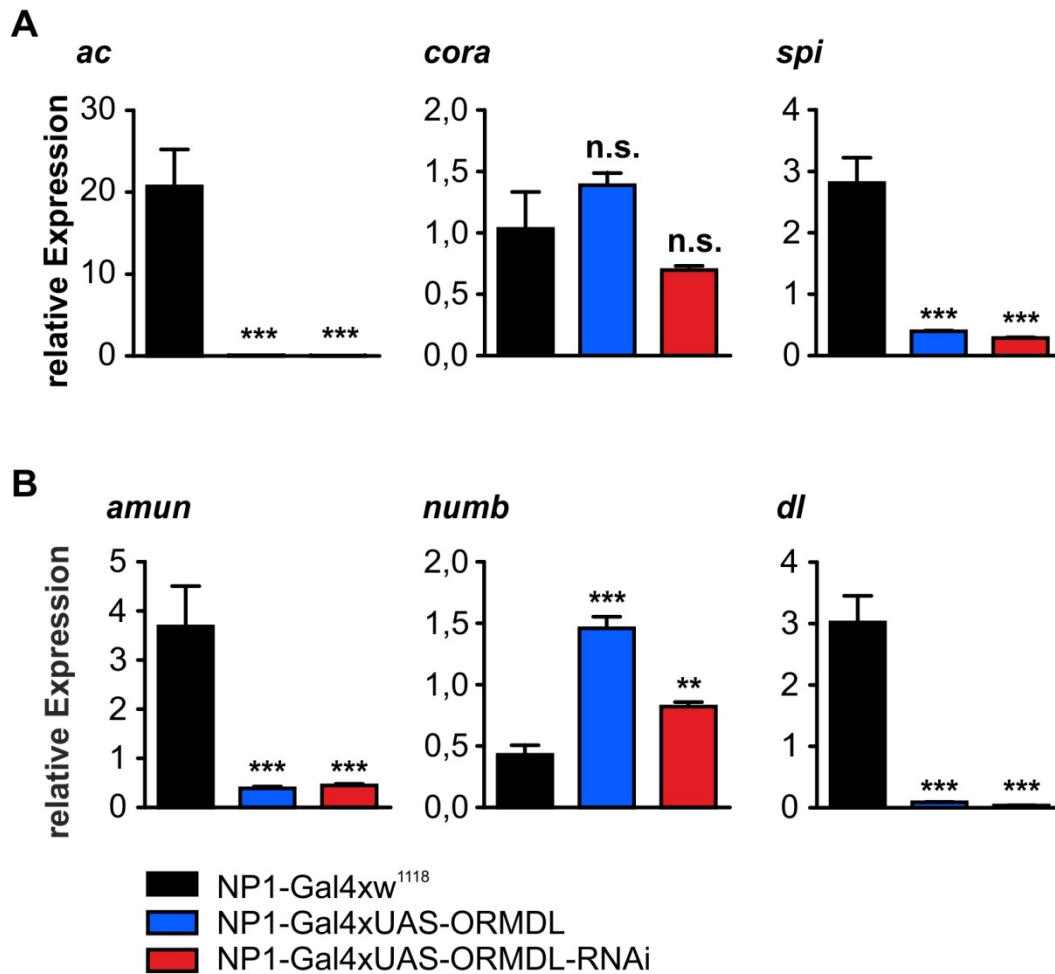


Abbildung 20: Modulation der Notch- und EGFR-Signalwege durch *ormdl*-Deregulierung im Darm - Analyse der Expression von Zielgenen

Es ist die Analyse von drei Zielgenen der EGFR- (A) und Notch-Signalwege (B) dargestellt. Därme mit erhöhter (NP1-Gal4xUAS-ORMDL) und reduzierter *ormdl*-Expression (NP1-Gal4xUAS-ORMDL-RNAi) sowie Kontrolltracheen (NP1-Gal4xw¹¹¹⁸) wurden isoliert, deren RNA in cDNA umgeschrieben und diese mittels qRT-PCR analysiert (5 unabhängige Experimente, jeweils n=15 pro Ansatz). Es sind die Mittelwerte und deren Standardfehler (SEM) dargestellt. Zur Bestimmung der Signifikanz der Unterschiede wurden die Daten zunächst unter Verwendung der Funktion $y=\log(y+0,5)$ transformiert und anschließend mittels 2-sample 2-sided t-Tests analysiert. n.s.: nicht signifikant, **:p<0,01, ***:p<0,001

verändert war, waren die beiden EGFR-Zielgene *ac* und *spi* infolge der *ormdl*-Deregulierung im Vergleich zu Kontrolldärmen signifikant reduziert. Eine *ormdl*-Deregulierung veränderte überdies signifikant die Expression aller Notch-Zielgene: das Gen *numb* wurde hochreguliert und die Gene *amun* und *dl* herunter. Da ORMDL-Proteine als Modulatoren der UPR beschrieben sind, wurde zusätzlich die Expression von drei Zielgenen der UPR (*hsc3*, *inos*, *xbp1*) sowie das Spleißen von *xbp1* (*xbp1s*), einem Marker für die Aktivierung der UPR, mittels qRT-PCR untersucht (Abbildung 21). Eine Deregulierung von *ormdl* im Darm hatte keinen Einfluss

auf die Expression von *inos* und *xbp1*. Die Expression des Chaperon-Proteins *hsc3* sowie das Spleißen von *xbp1* waren jedoch bei erhöhter wie auch bei reduzierter *ormdl*-Expression signifikant verstärkt.

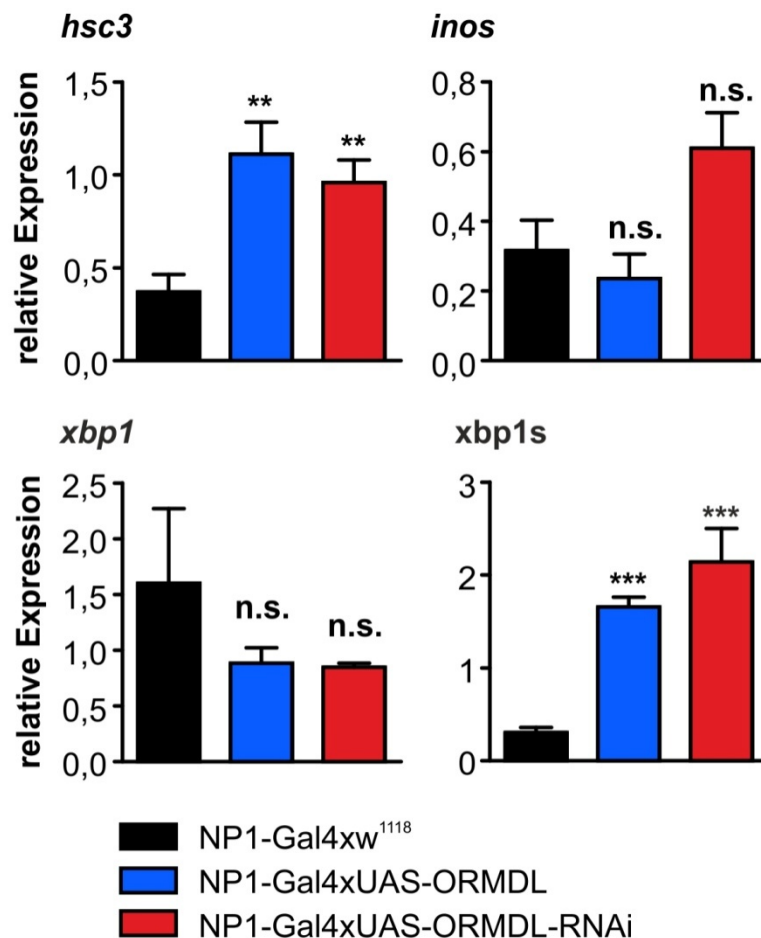


Abbildung 21: Modulation der UPR durch *ormdl*-Deregulierung im Darm

Es ist die Analyse von drei Zielgenen der UPR (*hsc3*, *inos*, *xbp1*) und dem Spleißen von *xbp1* (*xbp1s*) dargestellt. Därme mit erhöhter (NP1-Gal4xUAS-ORMDL) und reduzierter *ormdl*-Expression (NP1-Gal4xUAS-ORMDL-RNAi) sowie Kontrolldärme (NP1-Gal4xw¹¹¹⁸) wurden isoliert, deren RNA in cDNA umgeschrieben und diese mittels qRT-PCR analysiert (5 unabhängige Experimente, jeweils n=15 pro Ansatz). Es sind die Mittelwerte und deren Standardfehler (SEM) dargestellt. Zur Bestimmung der Signifikanz der Unterschiede wurden die Daten zunächst unter Verwendung der Funktion $y=\log(y+0,5)$ transformiert und anschließend mittels 2-sample 2-sided t-Tests analysiert. n.s.: nicht signifikant, **: p<0,01, ***: p<0,001

3.2.3 *Ormdl*-Überexpression modifiziert die Abundanz verschiedener Lipide im larvalen Darm

ORMDL ist als Inhibitor der Sphingolipid-Synthese beschrieben^{24,137}. Nachdem in Abschnitt 3.2.1 schon in den Tracheen eine Modulation des Auftretens verschiedener Lipide durch eine Überexpression von *ormdl* gezeigt werden konnte, sollte nun auch der Einfluss einer intestinalen *ormdl*-Überexpression auf die Lipid-Zusammensetzung

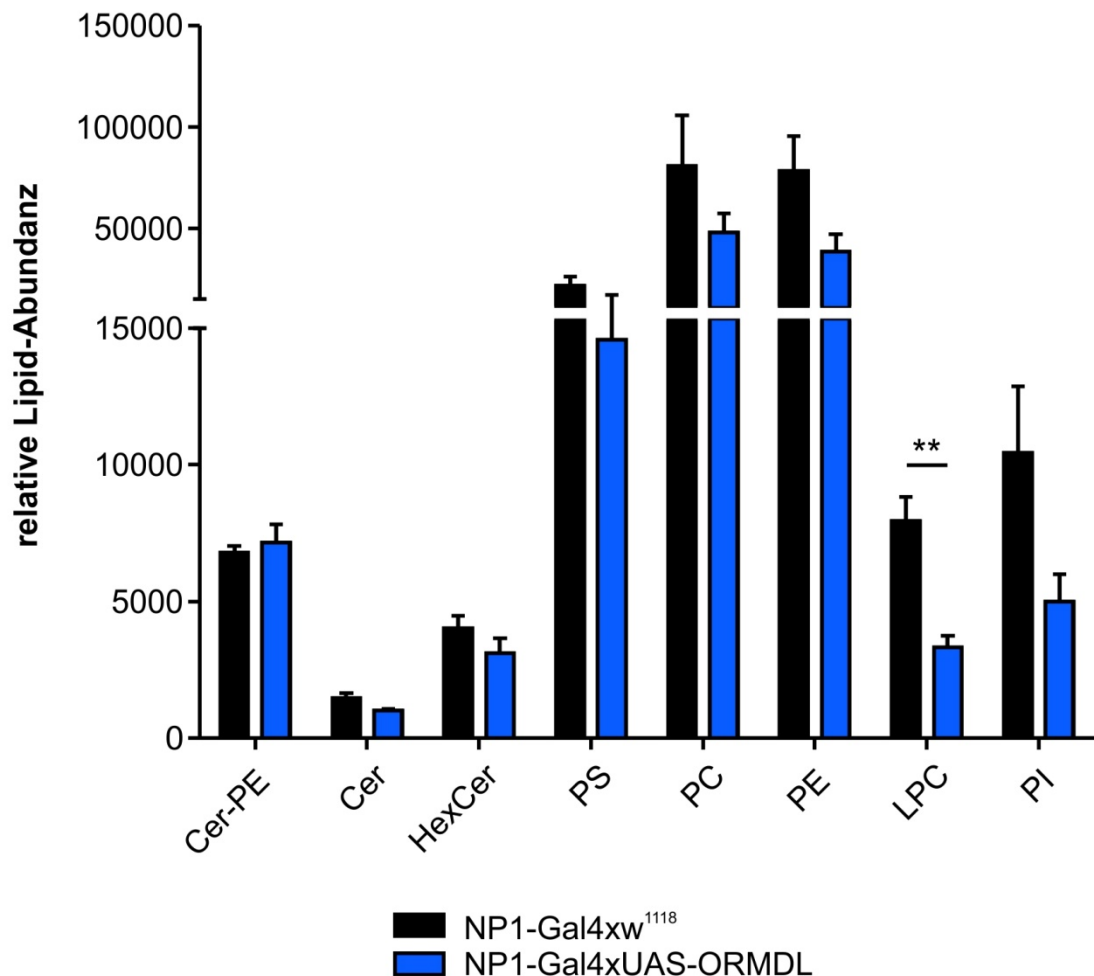


Abbildung 22: *Ormdl*-Überexpression reduziert die Lysophosphatidylcholin-Abundanz im Darm
 Dargestellt ist ein Vergleich der relativen Anteile verschiedener Lipidklassen zwischen Därmen aus Kontroll-Larven (NP1-Gal4xw¹¹¹⁸) und aus Larven mit erhöhter intestinaler *ormdl*-Expression (NP1-Gal4xUAS-ORMDL). Därme aus 15 L3-Larven wurden homogenisiert und anschließend auf eine identische Gesamt-Proteinkonzentration eingestellt. Im Folgenden wurden die Proben durch die Kooperationspartner Nicole Zehethofer und PD Dr. Buko Lindner weiterführend verarbeitet. Die Lipide wurden mit der Bligh-Dyer-Methode¹²⁵ isoliert und die Lipidkonzentrationen mittels NP-HPLC-MS bestimmt. Die Analyse erfolgte unter Verwendung der Bruker's Data Analysis 3.2 sowie der LipID-Software¹²⁶. Dargestellt sind die Mittelwerte und deren Standardfehler (SEM) aus 6 unabhängigen Experimenten, jeweils n=15 pro Ansatz. Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des Mann-Whitney-Tests. *:p<0,05, Datengruppierungen ohne Angabe von Sternen sind nicht signifikant unterschiedlich. Vergleich der relativen Anteile der Lipidklassen Cer-PE, Cer, HexCer, PS, PC, PE, LPC und PI in Kontrolldärmen und Därmen mit erhöhter *ormdl*-Expression.

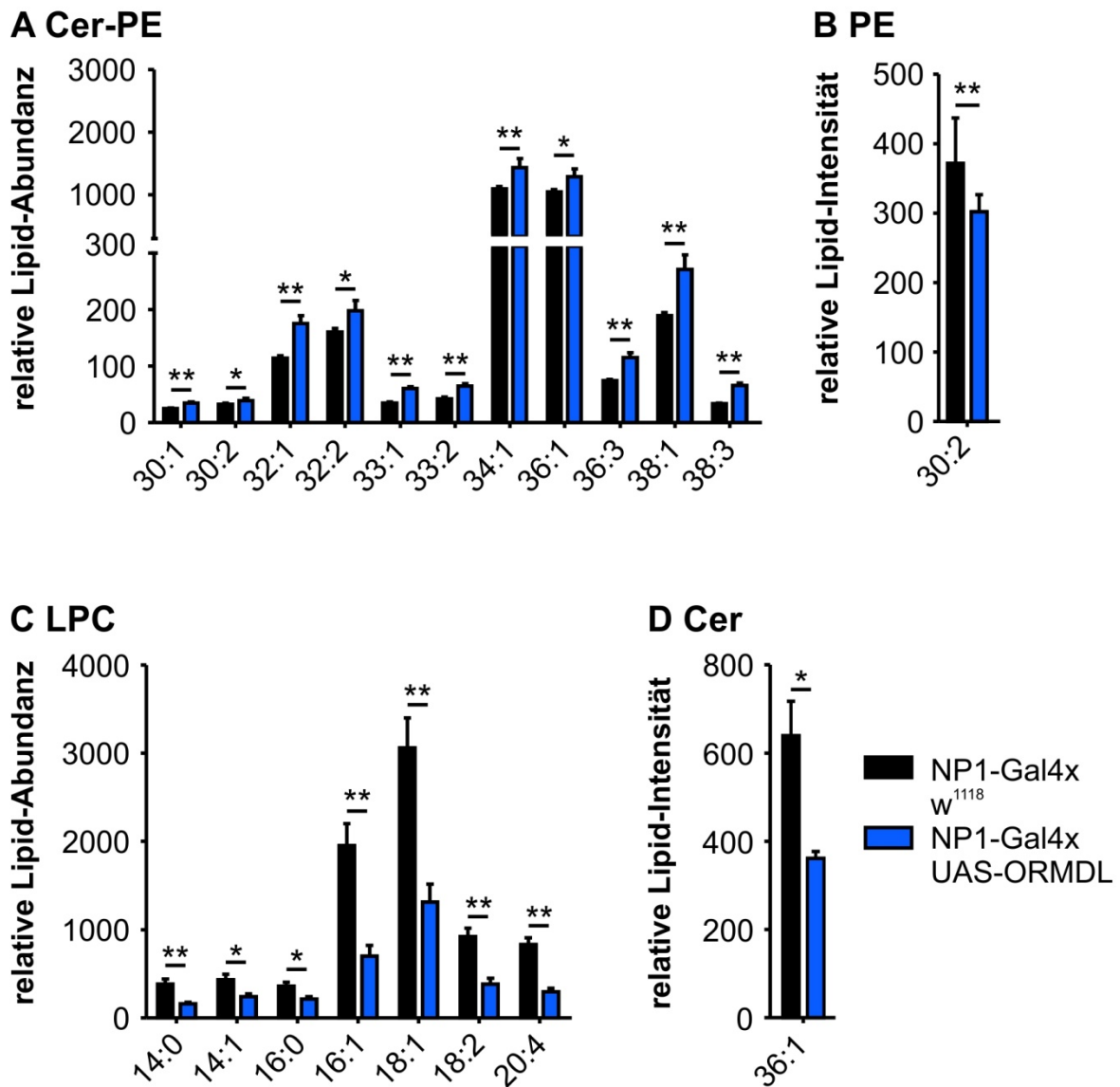


Abbildung 23: *Ormdl*-Überexpression modifiziert die Abundanz verschiedener Lipide im larvalen Darm

Dargestellt sind signifikant veränderte Anteile von Lipiden der Klassen Cer-PE (A), PE (B), LPC (C) und Cer (D) in Därmen mit erhöhter intestinaler *ormdl*-Expression (NP1-Gal4xUAS-ORMDL) im Vergleich zu Därmen aus Kontroll-Larven (NP1-Gal4x^{w¹¹¹⁸}). Därme aus 15 L3-Larven wurden homogenisiert und anschließend auf eine identische Gesamt-Proteinkonzentration eingestellt. Im Folgenden wurden die Proben durch die Kooperationspartner Nicole Zehethofer und PD Dr. Buko Lindner weiter verarbeitet. Die Lipide wurden mit der Bligh-Dyer-Methode¹²⁵ isoliert und die Lipidkonzentrationen mittels NP-HPLC-MS bestimmt. Die Analyse erfolgte unter Verwendung der Bruker's Data Analysis 3.2 sowie der LipID-Software¹²⁶. Dargestellt sind die Mittelwerte und deren Standardfehler (SEM) aus 6 unabhängigen Experimenten, jeweils n=15 pro Ansatz. Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des Mann-Whitney-Tests. *:p<0,05, **:p<0,01.

des Darmes untersucht werden. Mit Hilfe der Kooperationspartner Nicole Zehethofer und PD Dr. Buko Lindner (FZB) wurden hierfür folgende Lipidklassen mittels NP-HPLC-MS analysiert: Cer, Cer-PE, DAG, FA, HexCer, LPC, LPE, PC, pPC, PE, pPE,

PG, PI, PS, SM und TAG. Im larvalen Darm wurden die Lipidklassen Cer, Cer-PE, HexCer, LPC, PC, PE, PI und PS detektiert. Eine erhöhte Expression von *ormdl* reduzierte hierbei die LPCs im Darm, wobei die Abundanz der weiteren Lipidklassen dagegen unbeeinflusst blieb (Abbildung 22). Des Weiteren war innerhalb der Lipidklassen Cer-PE, PE, LPC und Cer bei erhöhter *ormdl*-Expression der Anteil mehrerer Lipide signifikant verändert (Abbildung 23). Die veränderten Cer-PE (Abbildung 23A) traten allesamt erhöht auf. Die signifikant modifizierten Lipide der Lipidklassen PE (Abbildung 23B), LPC (Abbildung 23C) und Cer (Abbildung 23D) hingegen waren in ihrer Gesamtheit reduziert.

3.3 Die funktionelle Relevanz des JAK/STAT-Signalweges in den Atemwegen von *Drosophila melanogaster*

Auch Polymorphismen in *STAT3*⁹³ und *STAT6*⁹⁴ werden mit der Pathogenese von Asthma assoziiert. Für diese beiden Transkriptionsfaktoren des JAK/STAT-Signalweges sind bereits diverse Funktionen bei der allergischen Immunantwort beschrieben^{90,95–98}. Hauptsächlich wird *STAT6* jedoch von Epithelzellen exprimiert^{97,98}, wobei die funktionelle Relevanz des JAK/STAT-Signalweges für das asthmatische Epithel noch nicht grundlegend erforscht ist. *STAT6*-Polymorphismen bei Asthmatikern führen zu einer erhöhten *STAT6*-Expression⁹⁷. Aus diesem Grund sollte untersucht werden, welche Auswirkungen eine Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges auf das Atemwegsepithel hat.

Im Vergleich zur differenzierten Situation beim Menschen ist der JAK/STAT-Signalweg bei *Drosophila* stark reduziert. So wurden zwar drei Liganden (UPD, UPD2, UPD3) beschrieben, im Unterschied dazu jedoch nur ein Rezeptor (DOME), ein JAK-Protein (HOP) und ein STAT-Protein (STAT92E)⁹⁹.

3.3.1 Die Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges in den larvalen Tracheen induziert eine Barrierestörung und Melanisierung

Unter Verwendung des Gal4/UAS-Systems wurde eine konstitutiv aktive Form des JAK/STAT-Rezeptors DOME in den Tracheen exprimiert (PPK4-Gal4xUAS-DOME^{CA}). Diese genetische Manipulation war letal und die Larven überlebten das L2-Stadium nicht (Daten nicht gezeigt). Daher wurde die aktive Form des DOME-Rezeptors anschließend unter Verwendung einer Erweiterung des Gal4/UAS-Systems, des Gal4Gal80-UAS-Systems, konditionell erst im L2-Stadium der Larven akti-

viert. Bei diesem System wird Gal4 bei Temperaturen unter 19 °C von dem temperatursensitiven Gal80-Protein gehemmt. Eine Erhöhung der Temperatur auf 30 °C löst diese Inhibition, so dass das Zielgen exprimiert wird¹²⁴.

Die Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges im Atemwegsepithel von L2-Larven führte zu morphologischen Veränderungen in den Tracheen (Abbildung 24): die Tracheen waren im Vergleich zu denen von Kontrolltieren flüssigkeitsgefüllt und stellenweise war eine Melanisierung zu erkennen. Die Melanisierung ist eine Immunreaktion von *Drosophila*, die normalerweise als Antwort auf eine Verletzung oder das Eindringen von Pathogenen aktiviert wird und dann dazu dient, die Wundheilung zu fördern und die Ausbreitung der Pathogene einzuschränken¹⁵¹.

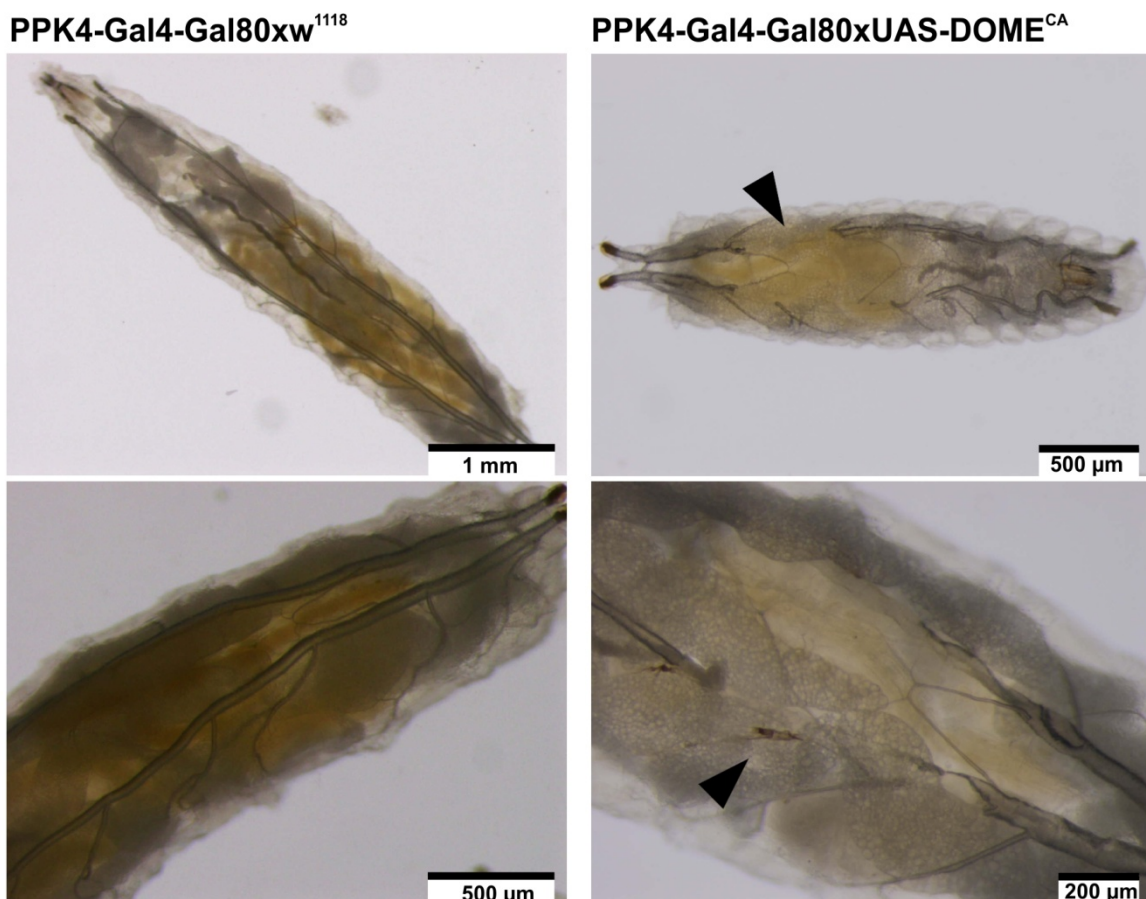


Abbildung 24: Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges in den larvalen Tracheen induziert eine Barrierestörung und Melanisierung

Darstellung der trachealen Morphologie von Kontrolllarven (PPK4-Gal4-Gal80xw¹¹¹⁸) und Larven mit in den Tracheen aktiviertem JAK/STAT-Signalweg (PPK4-Gal4-Gal80xUAS-DOME^{CA}). Die Kreuzungen wurden bei 17 °C gehalten, die konditionelle Expression der aktiven Form des JAK/STAT-Rezeptors DOME wurde durch eine Erhöhung der Temperatur auf 30 °C aktiviert. Nach 24 h wurden die Larven auf Eis betäubt und mikroskopiert. Dargestellt sind repräsentative Aufnahmen, PPK4-Gal4Gal80xw¹¹¹⁸: n=9, PPK4-Gal4Gal80xUAS-DOME^{CA}: n=24.

3.3.1.1 Die Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges hat keinen Einfluss auf die *Septate Junction*-Struktur der Tracheen

Im Folgenden sollten die molekularen Mechanismen des im vorherigen Abschnitt beschriebenen Phänotyps untersucht werden. Ein Eindringen von Flüssigkeit in die normalerweise luftgefüllten Tracheen kann in Folge eines Barriereverlustes erfolgen. Die epitheliale Barrierefunktion wird bei *Drosophila* hauptsächlich durch SJ vermittelt, eine immunhistochemische Analyse der Struktur der SJ zeigte jedoch keine Unterschiede zwischen Kontrolltracheen und Tracheen, in denen der JAK/STAT-Signalweg für 24 h aktiviert wurde (Abbildung 25).

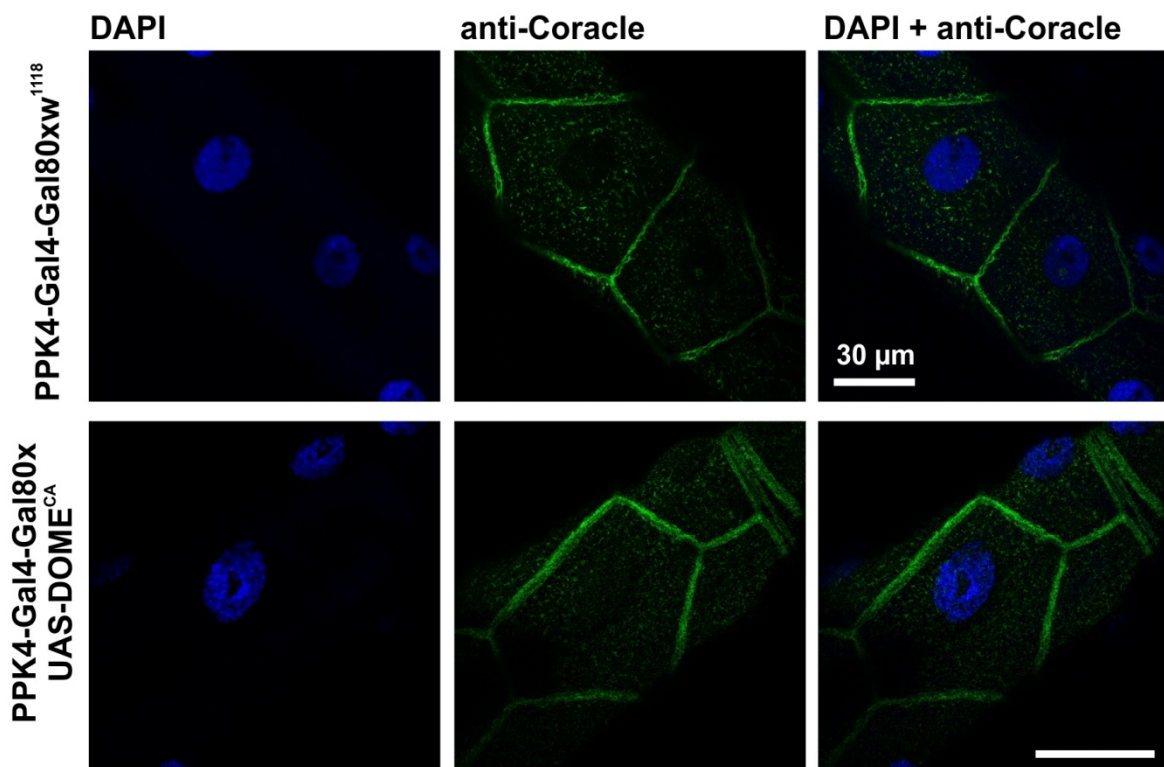


Abbildung 25: Die Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges hat keinen Einfluss auf die *Septate Junction*-Struktur der Tracheen

Dargestellt ist ein Vergleich der Immunfärbung des Coracle-Proteins zwischen Kontroll-Larven (PPK4-Gal4-Gal80xw¹¹¹⁸) und Larven, in deren Tracheen der JAK/STAT-Signalweg für 24 h aktiviert war (PPK4-Gal4-Gal80xUAS-DOME^{CA}). Coracle ist ein Protein der SJ und wurde verwendet, um deren Struktur nachzuweisen. Die Kreuzungen wurden bei 17 °C gehalten, die konditionelle Expression der aktiven Form des JAK/STAT-Rezeptors DOME wurde durch eine Erhöhung der Temperatur auf 30 °C aktiviert. Nach 24 h wurden die L3-Larven geöffnet, das Gewebe fixiert und anschließend mit dem anti-Coracle-Antikörper, gefolgt von einem sekundären, Fluoreszenz-markierten Antikörper gefärbt (grün). Zur Markierung der DNA der Zellkerne wurde der Farbstoff DAPI (blau) verwendet. Dargestellt sind repräsentative Aufnahmen, PPK4-Gal4Gal80xw¹¹¹⁸: n=14, PPK4-Gal4Gal80xUAS-DOME^{CA}: n=23.

3.3.2 Die Beteiligung der Wnt- und TGF- β -Signalwege an der durch die JAK/STAT-Aktivierung induzierten Barrierestörung und Melanisierung

Um herauszufinden, welche Prozesse und Signalwege an der Entstehung des in Abbildung 24 beobachteten Phänotyps beteiligt sind, wurden Mikroarray-Analysen durchgeführt. Die Gen-Ontologie-Funktionsklassen, bei deren assoziierten Genen eine Anreicherung der Regulierung durch eine Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges vorlag, konnten funktionell in acht Kategorien zusammengefasst werden: Morphogenese und Entwicklung, Metabolismus, Signaltransduktion, Organisation des Zytoskeletts, Transkription und Translation, Immunantwort und Zelltod (Abbildung 26).

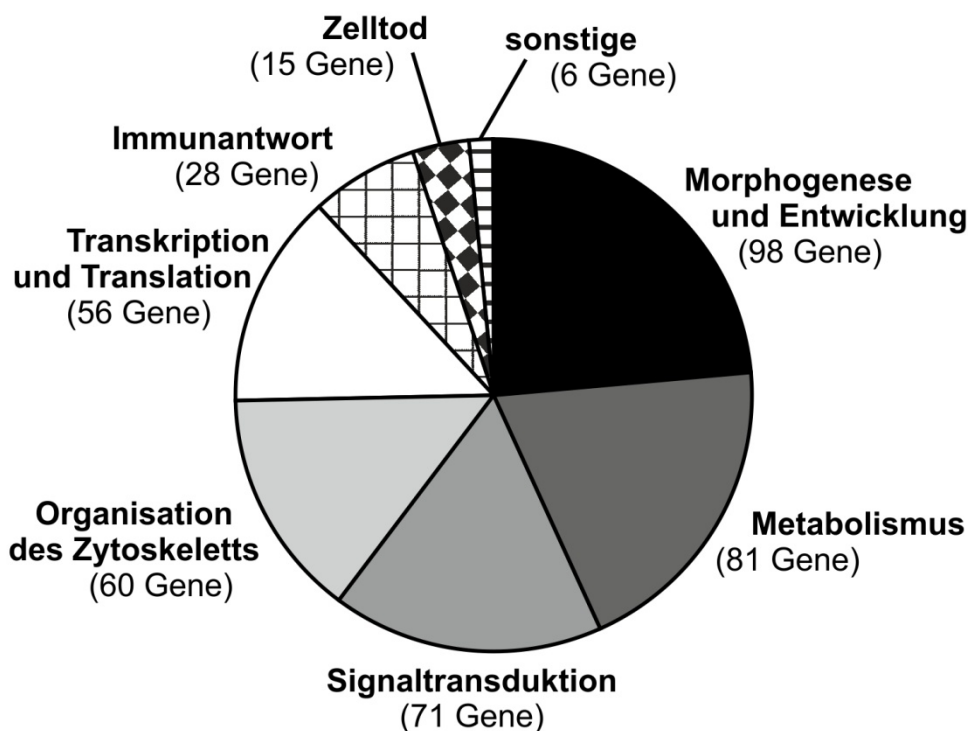


Abbildung 26: Funktionelle Zusammenfassung der Gen-Ontologie-Funktionsklassen mit Anreicherung von assoziierten Genen durch JAK/STAT-Aktivierung in den Tracheen

Dargestellt ist ein Vergleich von Tracheen, bei denen der JAK/STAT-Signalweg für 12 h aktiviert war (PPK4-Gal4-Gal80xUAS-DOME^{CA}) mit Kontrolltracheen (PPK4-Gal4-Gal80xw¹¹¹⁸). Hierbei sind die Gen-Ontologie-Funktionsklassen, bei deren assoziierten Genen eine Anreicherung der Regulierung vorlag, funktionell in Kategorien zusammengefasst. Die Kreuzungen wurden bei 17 °C gehalten, die konditionelle Expression der aktiven Form des JAK/STAT-Rezeptors DOME wurde durch eine Erhöhung der Temperatur auf 30 °C aktiviert. Nach 12 h wurden die Tracheen isoliert und deren RNA in cDNA umgeschrieben und amplifiziert. Es folgte die Umschreibung in cRNA und die Markierung mit Fluoreszenzfarbstoffen. Die Proben wurden auf einem Mikroarray hybridisiert und dieser anschließend unter Verwendung der GenePix Pro 6- und der Acuity 4.0-Software ausgewertet. Hierbei wurden Mikroarrays aus drei unabhängigen biologischen Replikaten normalisiert und diejenigen Gene bestimmt, die bei mindestens zwei der unabhängigen biologischen Replikate $\geq 1,5$ -fach hoch- oder herunterreguliert waren. Diese Gene wurden unter Verwendung von DAVID^{122,123} hinsichtlich einer Anreicherung der Regulierung von mit bestimmten Signalwegen und Gen-Ontologie-Funktionsklassen assoziierten Genen analysiert.

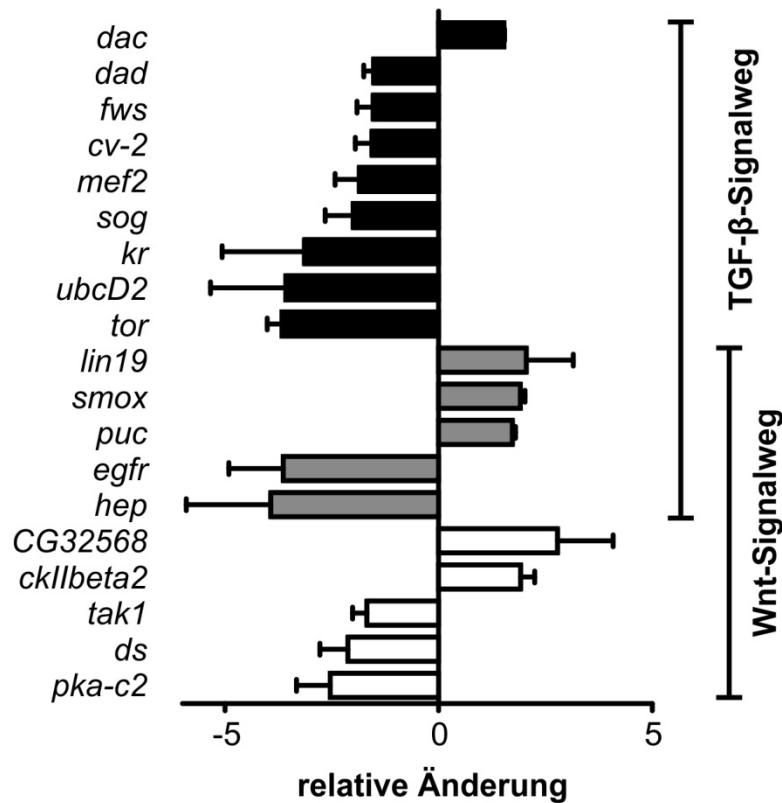


Abbildung 27: Modulation der Wnt- und TGF-β-Signalwege durch JAK/STAT-Aktivierung - regulierte und mit den Signalwegen assoziierte Gene

Dargestellt sind Gene, die mit den Wnt- und TGF-β-Signalwegen assoziiert sind und die in Tracheen, in denen der JAK/STAT-Signalweg für 12 h aktiviert war (PPK4-Gal4-Gal80xUAS-DOME^{CA}) im Vergleich zu Kontrolltracheen (PPK4-Gal4-Gal80xw¹¹¹⁸), reguliert waren. Die Kreuzungen wurden bei 17 °C gehalten, die konditionelle Expression der aktiven Form des JAK/STAT-Rezeptors DOME wurde durch eine Erhöhung der Temperatur auf 30 °C aktiviert. Nach 12 h wurden die Tracheen isoliert und deren RNA in cDNA umgeschrieben und amplifiziert. Es folgte die Umschreibung in cRNA und die Markierung mit Fluoreszenzfarbstoffen. Die Proben wurden auf einem Mikroarray hybridisiert und dieser anschließend unter Verwendung der GenePix Pro 6- und der Acuity 4.0-Software ausgewertet. Hierbei wurden Mikroarrays aus drei unabhängigen biologischen Replikaten normalisiert und diejenigen Gene bestimmt, die in mindestens zwei der unabhängigen biologischen Replikate $\geq 1,5$ -fach hoch- oder herunterreguliert waren. Diese Gene wurden unter Verwendung von DAVID^{122,123} hinsichtlich einer Anreicherung der Regulierung von mit bestimmten Signalwegen und Gen-Ontologie-Funktionsklassen assoziierten Genen analysiert. Es sind die Mittelwerte und deren Standardfehler (SEM) aus drei unabhängigen biologischen Replikaten dargestellt.

Darüber hinaus war die Regulierung von mit zwei Signalwegen assoziierten Genen signifikant angereichert: Wnt und TGF-β. Die regulierten Gene, die mit diesen Signalwegen assoziiert werden, sind in Abbildung 27 dargestellt.

Zur Verifizierung der angenommenen Regulation wurde ergänzend jeweils die Expression von Zielgenen dieser Signalwege analysiert (Abbildung 28). Für den Wnt-Signalweg wurden die Zielgene *en*¹³⁸, *fz*¹³⁹ und *nemo*¹⁴⁰ verwendet, für den TGF-β-Signalweg *daughters against dpp* (*dad*), *pannier* (*pnr*) und *spalt major* (*salm*)¹⁵². DAD

ist ein Inhibitor des TGF- β -Signalwegs¹⁵³ und PNR¹⁵⁴ und SALM¹⁵⁵ sind Transkriptionsfaktoren. Im Vergleich zu den Tracheen aus Kontrolltieren war in Tracheen, in denen der JAK/STAT-Signalweg für 12 h aktiviert wurde, die Expression aller untersuchten Zielgene reduziert. Diese Reduktion war nicht in jedem Fall signifikant, die Tendenz jedoch stets ersichtlich.

Zusätzlich wurde untersucht, ob der Wnt-Signalweg durch eine Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges induziert wird. Hierfür wurde immunhistochemisch die

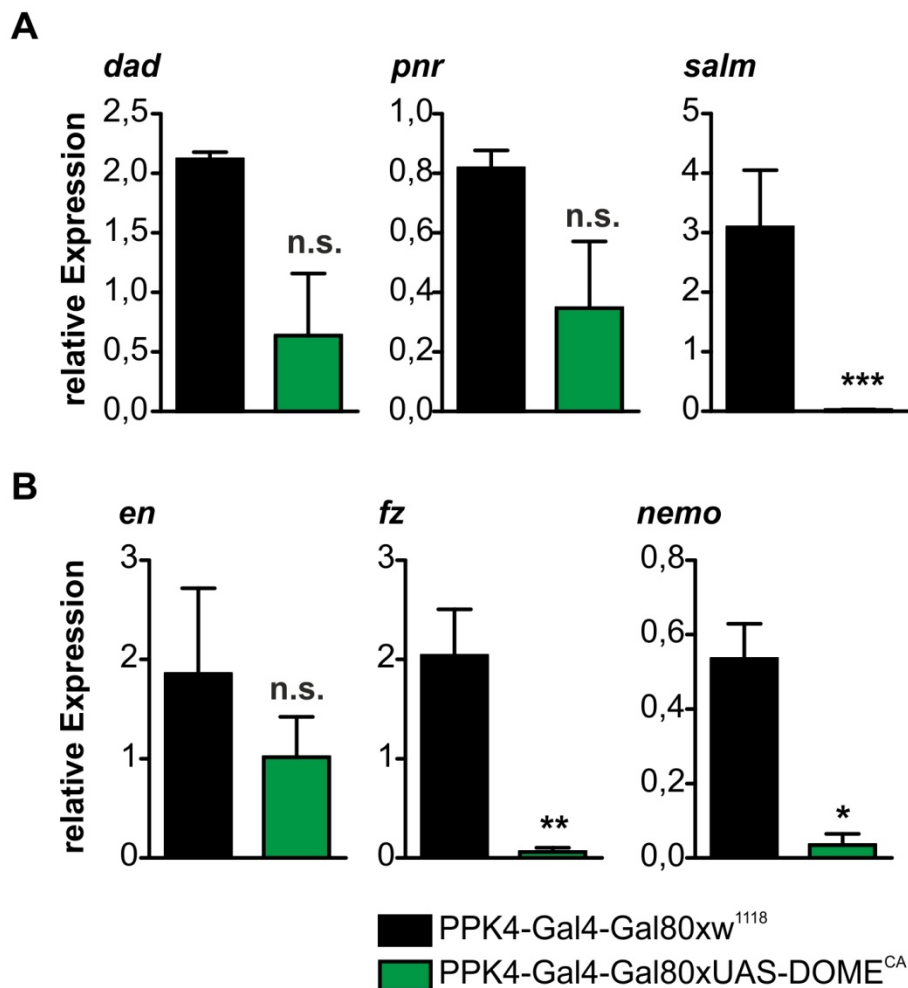


Abbildung 28: Modulation der Wnt- und TGF- β -Signalwege durch JAK/STAT-Aktivierung - Analyse der Expression von Zielgenen

Dargestellt ist die Analyse der Expression von jeweils drei Zielgenen der TGF- β (A) und Wnt-Signalwege (B) in Tracheen, in denen der JAK/STAT-Signalweg für 12 h aktiviert war (PPK4-Gal4-Gal80xUAS-DOME^{CA}) und in Kontrolltracheen (PPK4-Gal4-Gal80xw¹¹¹⁸). Die Kreuzungen wurden bei 17 °C gehalten, die konditionelle Expression der aktiven Form des JAK/STAT-Rezeptors DOME wurde durch eine Erhöhung der Temperatur auf 30 °C aktiviert. Nach 12 h wurden die Tracheen isoliert, deren RNA in cDNA umgeschrieben und diese mittels qRT-PCR analysiert (3 unabhängige Experimente, jeweils n=30 pro Ansatz). Es sind die Mittelwerte und deren Standardfehler (SEM) dargestellt. Zur Bestimmung der Signifikanz der Unterschiede wurden die Daten zunächst unter Verwendung der Funktion $y=\log(y+0,5)$ transformiert und anschließend mittels 2-sample 2-sided t-Tests analysiert. n.s.: nicht signifikant, *:p<0,05, **:p<0,01, ***: p<0,001.

Lokalisierung von Armadillo, dem Transkriptionsfaktor des Wnt-Signalweges, untersucht. Im Falle einer Induktion des Wnt-Signalweges transloziert Armadillo in den Zellkern. Eine Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges hatte keine Translokation von Armadillo in den Zellkern zur Folge (Abbildung 29), es konnte jedoch ein Einfluss der JAK/STAT-Aktivierung auf die Verteilung von Armadillo an der Zellmembran beobachtet werden. Dieses Verteilungsmuster war infolge der JAK/STAT-Aktivierung unregelmäßiger und unstrukturierter.

Die aufgrund der zuvor beschriebenen Ergebnisse vermutete Modulation der TGF- β - und Wnt-Signalwege durch den JAK/STAT-Signalweg wurde nun aufgegriffen und es wurde überprüft, ob eine Deregulierung dieser Signalwege einen ähnlichen morphologischen Phänotyp induzieren kann wie der bereits infolge der JAK/STAT-

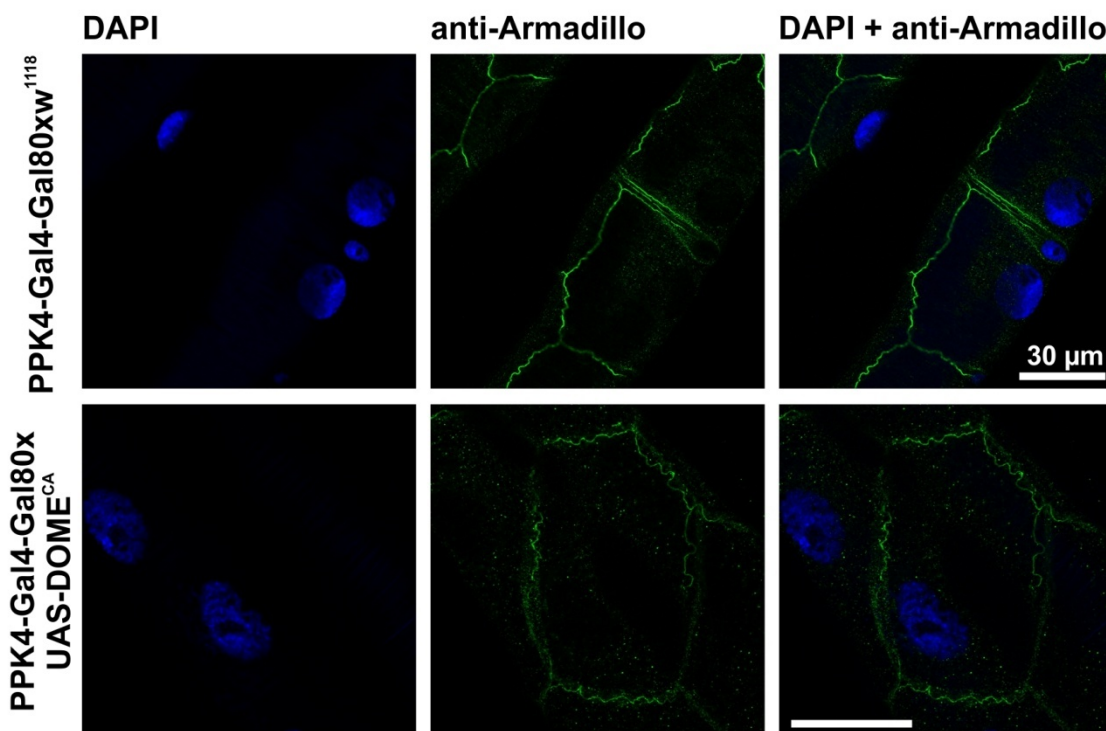


Abbildung 29: JAK/STAT-Aktivierung induziert keine Translokation des Wnt-Transkriptionsfaktors Armadillo in den Zellkern

Dargestellt ist ein Vergleich der Immunfärbung des Armadillo-Transkriptionsfaktors zwischen Kontroll-Larven (PPK4-Gal4-Gal80xw¹¹¹⁸) und Larven, in deren Tracheen der JAK/STAT-Signalweg für 24 h aktiviert war (PPK4-Gal4-Gal80xUAS-DOME^{CA}). Die Kreuzungen wurden bei 17 °C gehalten, die konditionelle Expression der aktiven Form des JAK/STAT-Rezeptors DOME wurde durch eine Erhöhung der Temperatur auf 30 °C aktiviert. Nach 24 h wurden die L3-Larven geöffnet, das Gewebe fixiert und anschließend mit dem anti-Armadillo-Antikörper, gefolgt von einem sekundären, Fluoreszenzmarkierten Antikörper gefärbt (grün). Zur Markierung der DNA der Zellkerne wurde der Farbstoff DAPI (blau) verwendet. Dargestellt sind repräsentative Aufnahmen, PPK4-Gal4Gal80xw¹¹¹⁸: n=28, PPK4-Gal4Gal80xUAS-DOME^{CA}: n=20.

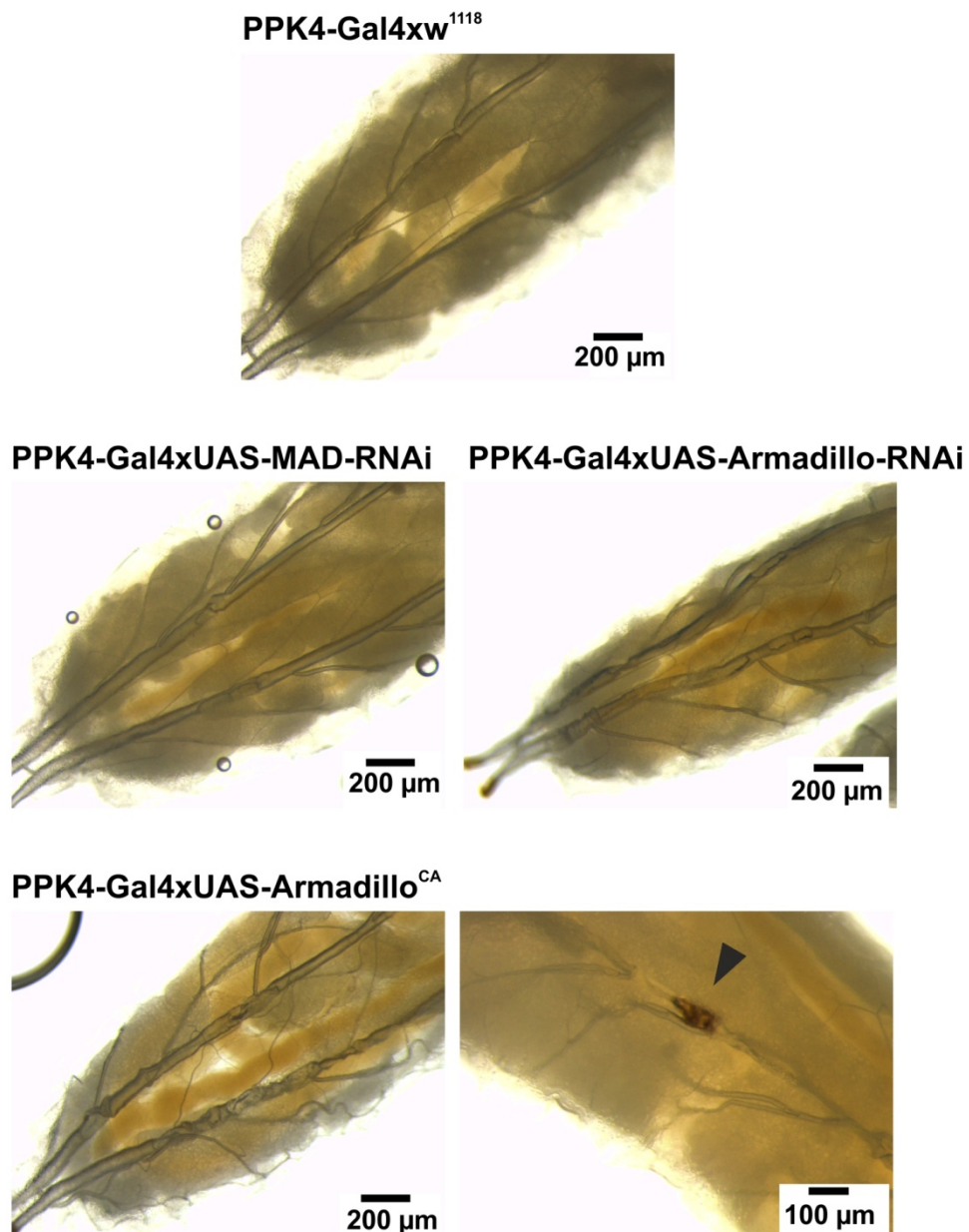


Abbildung 30: Deregulierung des Wnt-Signalwegs induziert eine Barrierestörung und Melanisierung in den Tracheen

Darstellung der trachealen Morphologie von Kontrolllarven (PPK4-Gal4xw¹¹¹⁸) und Larven, in deren Tracheen der TGF-β-Signalweg inhibiert war (PPK4-Gal4xUAS-MAD-RNAi), der Wnt-Signalweg reduziert war (PPK4-Gal4xUAS-Armadillo-RNAi) oder der Wnt-Signalweg konstitutiv aktiviert wurde (PPK4-Gal4xUAS-Armadillo^{CA}). Die Kreuzungen wurden bei 30 °C gehalten. Zur Analyse wurden die Larven auf Eis betäubt und mikroskopiert. Dargestellt sind repräsentative Aufnahmen, n≥9.

Aktivierung beobachtete (Abbildung 30). Hierfür wurden verschiedene Ansätze der genetischen Manipulation verwendet. Der TGF-β-Signalweg wurde mit Hilfe einer verringerten Expression des TGF-β-Transkriptionsfaktors MAD in den Tracheen (PPK4-Gal4xMAD-RNAi) inhibiert. Des Weiteren wurde der Wnt-Signalweg durch

eine verringerte Expression des Wnt-Transkriptionsfaktors Armadillo in den Tracheen (PPK4-Gal4xUAS-Armadillo-RNAi) inhibiert und durch die Expression einer konstitutiv aktiven Form von Armadillo in den Tracheen (PPK4-Gal4xUAS-Armadillo^{CA}) induziert. Die Larven wurden, wie auch die Kontrolltiere, bei 30 °C angezogen, da diese Temperatur optimal für die Förderung des gesamten Metabolismus ist und damit morphologische Phänotypen verstärkt. Zu beachten ist hierbei, dass das Heranwachsen von Larven bei dieser Temperatur bereits bei Kontrolltieren (PPK4-Gal4Gal80xw¹¹¹⁸) leichte strukturelle Beeinträchtigungen in den Tracheen zur Folge hatte. Im Vergleich zu den Kontrolltieren waren bei einer Inhibition des TGF- β -Signalweges (PPK4-Gal4xMAD-RNAi) keine Unterschiede der trachealen Morphologie erkennbar. Eine Inhibition sowie die Aktivierung des Wnt-Signalweges hingegen führten zu starken strukturellen Veränderungen der Tracheen und im Falle einer Aktivierung war zusätzlich an einigen Stellen eine Melanisierungsreaktion vorhanden. Dieser Phänotyp war somit dem durch die Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges induzierten (Abbildung 28) ähnlich.

3.3.3 Die Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges hat keinen Einfluss auf die Genexpression von Enzymen der Melanisierungskaskade

Um herauszufinden, ob die beobachtete Melanisierung direkt durch den JAK/STAT-Signalweg ausgelöst wurde, oder ob sie ein sekundärer Effekt war, wurde die Expression der an der Melanisierungskaskade beteiligten Enzyme untersucht (Abbildung 31). Bei der Melanisierungskaskade wird zunächst der Melanin-Vorläufer Dopamin aus Phenylalanin gebildet. Hierbei bilden die Enzyme Dihydropteridin-Reduktase (DHPR) oder GTP-Cyclohydrolase (Punch) Tetrahydrobiopterin. Tetrahydrobiopterin wiederum ist entscheidend für die Umsetzung von Phenylalanin zu Tyrosin durch das Enzym Phenylalaninhydroxylase (Henna). Tyrosin wird anschließend durch die Tyrosinhydroxylase (Pale) zu Dopa und dieses durch die Dopa-Decarboxylase (DDC) zu Dopamin umgesetzt. Im Falle einer Verletzung oder beim Eindringen eines Pathogens werden Prophenoloxidasen (PPO1, PPO2, PPO3) durch Prophenoloxidase-aktivierende Enzyme (*serine protease 10* (SP10), *spätzle processing enzyme* (SPE), SPH9, *melanization proteases* (MP) 1 und 2) in die aktive Form, die Phenoloxidase, überführt. Die Phenoloxidase wandelt nun das bereits zuvor gebildete Dopamin in Melanin um. Als Nebenprodukt entstehen hierbei antimikrobielle reaktive Sauerstoffspezies (ROS)¹⁵¹. Eine Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges

für 12 h hatte keinen Einfluss auf die Expression der Melanisierungs-Enzyme (Abbildung 31).

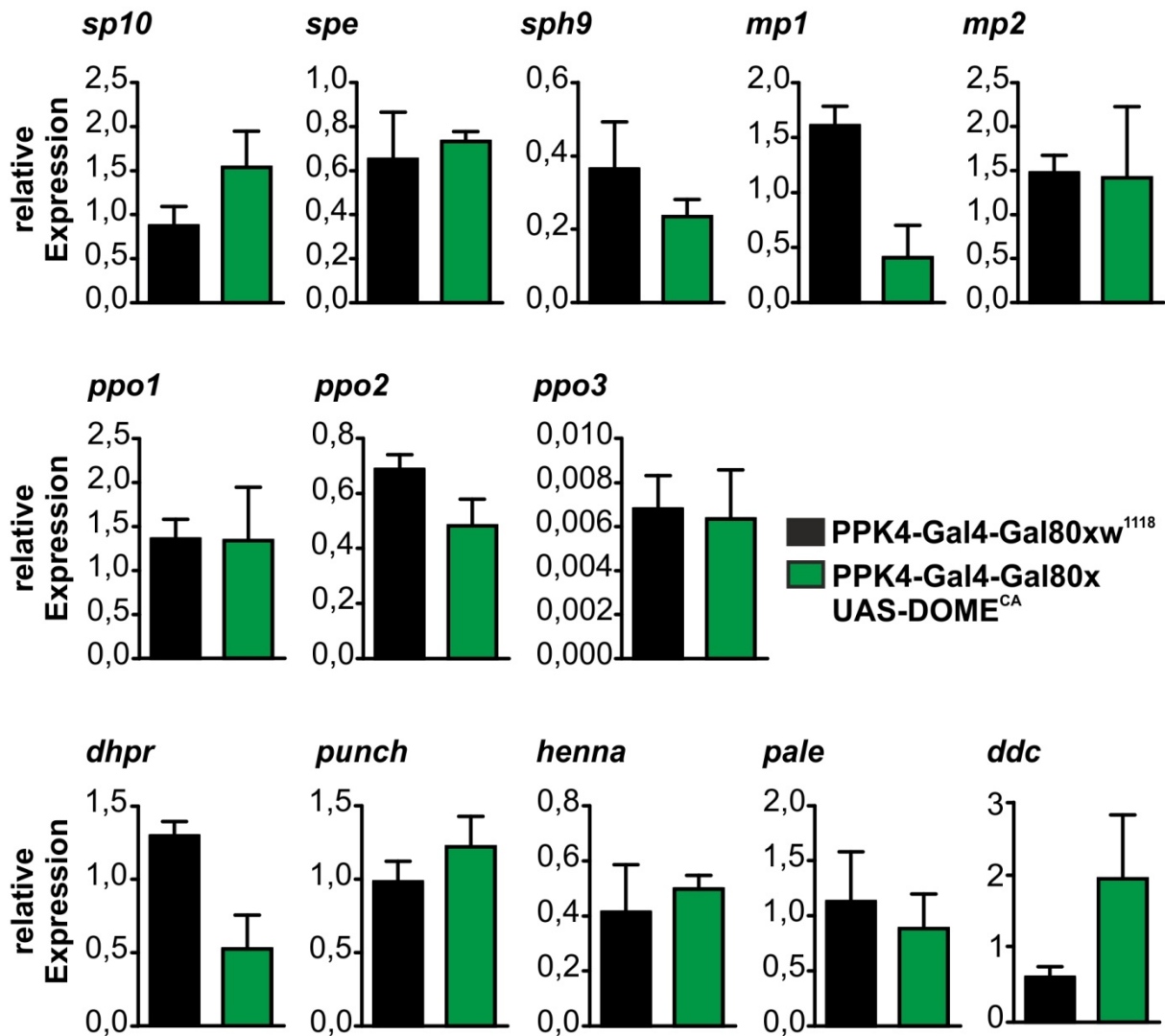


Abbildung 31: Die Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges hat keinen Einfluss auf die Genexpression von Enzymen der Melanisierungskaskade

Dargestellt ist die Analyse der Expression der Melanisierungs-Enzyme in Tracheen, in denen der JAK/STAT-Signalweg für 12 h aktiviert war (PPK4-Gal4-Gal80xUAS-DOME^{CA}) und in Kontrolltracheen (PPK4-Gal4-Gal80x¹¹¹⁸). Die Kreuzungen wurden bei 17 °C gehalten, die konditionelle Expression der aktiven Form des JAK/STAT-Rezeptors DOME wurde durch eine Erhöhung der Temperatur auf 30 °C aktiviert. Nach 12 h wurden die Tracheen isoliert, deren RNA in cDNA umgeschrieben und diese mittels qRT-PCR analysiert (3 unabhängige Experimente, jeweils n=30 pro Ansatz). Es sind die Mittelwerte und deren Standardfehler (SEM) dargestellt. Zur Bestimmung der Signifikanz der Unterschiede wurden die Daten zunächst unter Verwendung der Funktion $y=\log(y+0,5)$ transformiert und anschließend mittels 2-sample 2-sided t-Tests analysiert.

4 Diskussion

4.1 ORMDL in den Atemwegen von *Drosophila melanogaster*

ORMDL3 gilt als das wichtigste Asthma-Suszeptibilitätsgen und seine Assoziation mit dem Auftreten der Erkrankung konnte in einer Reihe von Studien mit verschiedenen Ethnien bestätigt werden^{30–44}. Welche Rolle *ORMDL3* bei der Asthma-Pathogenese spielt, ist jedoch noch nicht hinreichend geklärt, da bislang noch keine geeigneten Tiermodelle zur Verfügung standen. Aus diesem Grund sollten im Rahmen dieser Dissertation Untersuchungen zu den Funktionen von *ORMDL3* in *Drosophila melanogaster* durchgeführt werden. Ziel war es, in *Drosophila* Funktionen des *ORMDL3*-Proteins zu identifizieren, die anschließend auf Säugetiere übertragen werden können. Neben der zeitlichen Komponente und der einfachen genetischen Manipulation ist hierbei die mögliche Fokussierung auf das Atemwegsepithel ohne störende Einflüsse des adaptiven Immunsystems ein wesentlicher Vorteil des *Drosophila*-Asthmamodells¹⁹.

4.1.1 *Ormdl*-Überexpression erhöht die Stressantwort des Atemwegsepithels

Die Resultate dieser Dissertation zeigen, dass eine *ormdl*-Überexpression im Atemwegsepithel die Suszeptibilität gegenüber verschiedenen Stressfaktoren (Zigarettenrauch, Abbildung 6 und Hypoxie, Abbildung 7) erhöht. Zigarettenrauch ist ein wichtiger Risikofaktor bei der Asthma-Pathogenese¹⁵. Darüber hinaus sind Polymorphismen im *ORMDL3/GSDMB/GSDMA*-Lokus mit asthmatischen Kindern, die Zigarettenrauch ausgesetzt waren, assoziiert⁴⁵. Molekular kann die erhöhte Suszeptibilität gegenüber Zigarettenrauch auf verschiedenen Eigenschaften des Zigarettenrauchs basieren, der sich aus über 4000 Substanzen zusammensetzt⁷⁷. So konnte beispielsweise gezeigt werden, dass Zigarettenrauch die epitheliale Barriere schwächt^{156,157} und damit das Eindringen einer erhöhten Anzahl potenziell schädlicher Substanzen über das Epithel ermöglicht. Zigarettenrauch beeinträchtigt zudem die Reparaturmechanismen des Atemwegsepithels^{158,159}. Zugleich sind einige darin enthaltene Substanzen toxisch⁷⁷ und könnten daher die UPR aktivieren. Der Einfluss der Überexpression von *ormdl* auf die Morbidität der Fliegen war zeitlich auf 20-40 Tage nach Beginn der Behandlung mit Zigarettenrauch begrenzt. Der Effekt, dass bei einer Population nicht alle Individuen gleichermaßen reagieren bzw. einen gleichermaßen stark ausgeprägten Phänotyp zeigen, konnte oft bei Gal4/UAS-Kreuzungen beobachtet werden. Diese Disparität beruht wahrscheinlich auf unterschiedlich starken

Expressionsinduktionen durch dieses System. Die entsprechenden Treiberlinien weisen eine relativ schwache Aktivität in adulten Tracheen auf, was offensichtlich zur Folge hatte, dass ein Teil der Population unterhalb des Schwellenwerts blieb, der für die Ausprägung des Phänotyps erforderlich ist.

Drosophila-Larven zeigten bei einer *ormdl*-Überexpression in den Tracheen eine verstärkte Verhaltensantwort auf Hypoxie (Abbildung 7). Bei Asthmatikern kann ein ähnlicher Effekt beobachtet werden, denn auch hier ist die Hypoxie-Antwort verstärkt¹²⁸. Die Verhaltensantwort von *Drosophila*-Larven, die bei hypoxischen Bedingungen in einer Flucht-Reaktion ihr Medium verlassen, wird vom Nervensystem vermittelt und ist abhängig vom Stickstoffmonoxid (NO)/zyklisches Guanosin-Monophosphat (cGMP)-Signalweg¹²⁹. Da diese Verhaltensantwort innerhalb von Minuten nach der Exposition stattfindet¹²⁹ und die Unterschiede zwischen Larven mit erhöhter trachealer *ormdl*-Expression und Kontrolllarven bereits nach 5 min sichtbar waren, ist es unwahrscheinlich, dass der beobachtete Effekt auf der Ebene transkriptioneller Aktivierung vermittelt wird. Stattdessen basiert die verstärkte Antwort vermutlich auf Prozessen, die bereits vor der hypoxischen Behandlung abgeschlossen waren. Obwohl die Integrität des Atemwegsepithels essentiell für den Sauerstoffaustausch ist¹³⁰, stellt eine Beeinträchtigung dieser aller Wahrscheinlichkeit nach nicht die molekulare Grundlage der verstärkten Hypoxieantwort dar. So war die Morphologie der Tracheen bei einer *ormdl*-Überexpression unauffällig (Daten nicht gezeigt) und eine Analyse der SJ-Struktur zeigte keine Modulation durch *ormdl*-Überexpression (Abbildung 8). Hierbei ist jedoch zu beachten, dass TJ, die die Barrierefunktion beim Menschen vermitteln und denen eine starke Relevanz für die Asthma-Pathogenese zugesprochen wird¹⁶⁰, bei *Drosophila* fehlen¹³² und somit nicht untersucht werden können. Da bei *Drosophila* die Barrierefunktion stattdessen von SJ ausgeübt wird¹³², wurde deren Struktur analysiert.

Daraufhin wurden Mikroarray-Analysen durchgeführt, um Signalwege und Prozesse zu finden, die an der erhöhten Hypoxie-Suszeptibilität bei Larven mit gesteigerter *ormdl*-Expression im Atemwegsepithel beteiligt sind. Da in diesem Fall unter anderem die Regulierung von mit der Stressantwort assoziierten Genen angereichert war (Abbildung 9), wurden die Signalwege UPR und dTOR/PI3K analysiert, die eine wichtige Rolle bei der Reaktion auf Stress und Hypoxie spielen. In Kontrolllarven war die tracheale Expression von Zielgenen dieser Signalwege bei der Antwort auf Hypoxie verändert (Abbildung 10), wodurch die Bedeutung der Signalwege für die Hypo-

xie-Antwort unterstützt wird. Die verstärkte Verhaltensantwort *ormdl* überexprimierender Larven lässt eine ebenfalls gesteigerte Antwort auf der Transkriptionsebene erwarten. Stattdessen war jedoch die erhöhte *ormdl*-Expression von einem weitestgehenden Fehlen einer transkriptionellen Antwort auf Hypoxie begleitet. Dies könnte das Resultat eines bereits zuvor erreichten Schwellenwertes sein, da bereits die alleinige Überexpression von *ormdl* ohne hypoxische Behandlung die tracheale Expression von Zielgenen dieser Signalwege veränderte. Alternativ ist ein Kinetikeffekt denkbar, der die transkriptionelle Reaktion dem Zeitpunkt der Messung vorzieht. Es kann somit geschlossen werden, dass die UPR und dTOR/PI3K-Signalwege aller Wahrscheinlichkeit nach eine Rolle bei der Hypoxie-Antwort spielen, und dass eine Modulation dieser Signalwege durch ORMDL möglicherweise eine veränderte Verhaltensantwort auf Hypoxie zur Folge hat.

4.1.2 *Ormdl*-Überexpression moduliert den Anteil von Asthma-relevanten Lipiden in den larvalen Tracheen

Die UPR kann durch Störungen bei der Lipid-Homöostase verstärkt werden, zum Beispiel durch eine Inhibition der Phospholipid-Synthese oder durch eine erhöhte Phospholipase-Aktivität^{161–163}. Da ORMDL-Proteine bei der Hefe und beim Menschen als Inhibitoren der Sphingolipid-Synthese bekannt sind, wurde der Effekt einer *ormdl*-Überexpression auf die Lipid-Zusammensetzung in den larvalen Tracheen untersucht. Entgegen von Erwartungen, basierend auf zuvor veröffentlichten Daten, in denen ORMDL3 als Inhibitor der Sphingolipid-Synthese beschrieben wird^{24,137}, waren die relativen Anteile der Sphingolipid-Klassen Cer und Cer-PE bei einer *ormdl*-Überexpression nicht verändert (Abbildung 11). Somit ist die inhibitorische Funktion von ORMDL-Proteinen auf den Sphingolipid-Metabolismus möglicherweise bei *Drosophila* nicht vorhanden. Alternativ könnte eine Maskierung durch sekundäre Effekte vorliegen. So ist die Funktion von ORMDL-Proteinen als Inhibitoren des Sphingolipid-Metabolismus abhängig von den Ceramid-Mengen^{48,49}. Daher kann der inhibitorische Effekt möglicherweise nur beobachtet werden, wenn zusätzlich ein Stressfaktor auf das Atemwegsepithel einwirkt. Zudem waren der relative Anteil der Lipidklasse LPC sowie der von mehreren Lipiden in Tracheen mit erhöhter *ormdl*-Expression verändert. LPCs sind proapoptotisch¹⁶⁴ und proinflammatorisch wirkende Lipide, die bei Asthmatikern in erhöhter Konzentration auftreten¹⁶⁵. Des Weiteren waren im Vergleich zu Kontrolltracheen zwei Ceramide verstärkt zu beobachten. Ein ähnlicher Ef-

fekt wird in asthmatischen Atemwegen beobachtet, in denen ebenfalls das Vorkommen von Ceramiden erhöht ist⁵⁴. Darüber hinaus können Ceramide die Entwicklung von experimentellem allergischen Asthma verändern⁵⁵. Diese Lipid-Mediatoren werden als Antwort auf Stress oder Apoptose synthetisiert⁵⁶ und sind Regulatoren verschiedener zellulärer Prozesse wie dem Zellzyklus, der Apoptose oder der Stressantwort⁵⁷. Zusätzlich fördern Ceramide die transmembrane Signalweiterleitung und die Freisetzung von Vesikeln, indem sie die Lipid-Zusammensetzung von Mikrodomänen in Membranen verändern⁵⁸. Dies könnte bei der Aufnahme von Allergenen von Bedeutung sein, denn für das Allergen Bet v 1 konnte zum Beispiel gezeigt werden, dass dessen Kontakt mit dem Epithel über die Bindung an Lipide (Cholesterol, Ceramide, Sphingomyeline oder Glykolipide) vermittelt wird¹⁵⁷. Zudem war ein Cer-PE in Tracheen mit *ormdl*-Überexpression erhöht. Cer-PEs sind Sphingomyelin-Analoga, die aus Ceramiden synthetisiert werden und denen bisher noch keine biologische Funktion zugeordnet werden konnte¹⁶⁶. Ebenso war der relative Anteil zweier LPEs in Tracheen mit erhöhter *ormdl*-Expression verändert. LPEs sind wichtige Signalmoleküle sowie strukturelle Bestandteile von Zellmembranen¹⁶⁷. Die Überexpression von *ormdl* modulierte demnach das Auftreten einzelner Lipide, die Relevanz für die Asthma-Pathogenese haben. Diese Veränderungen bei der Lipid-Homöostase könnten wiederum die UPR beeinflussen^{161–163}.

4.1.3 *Ormdl*-Deregulierung moduliert Entwicklungs-, Stress- und Reparatur-assoziierte Prozesse und Signalwege in den Tracheen

Unter Verwendung von Mikroarray-Analysen sollten weitere Funktionen von ORMDL bestimmt werden. Die Resultate dieser Analysen deuten darauf hin, dass ORMDL in Prozesse dreier wesentlicher Kategorien involviert ist: Entwicklung, Stress und Reparatur.

In Tracheen mit erhöhter und reduzierter *ormdl*-Expression war die Regulierung von Genen zu Entwicklungs- und Morphologie-assoziierten Gen-Ontologie-Funktionsklassen angereichert (Abbildung 12). Dies unterstützt eine bestehende Hypothese, die beschreibt, dass Asthma im Wesentlichen eine Entwicklungs-Erkrankung ist, bei der die Entstehung der Atemwege und die Reifung des Immunsystems beeinträchtigt sind¹⁶⁸. Zusätzlich lag eine Anreicherung der Regulierung von mit dem Wnt-Signalweg assoziierten Genen vor. Dieser Signalweg ist speziell für Entwicklungsprozesse von Bedeutung¹⁶⁹ und wurde bereits mit Asthma in Verbindung gebracht. So konnte

gezeigt werden, dass Polymorphismen in dem Transkriptionsfaktor dieses Signalweges, β -Catenin, mit Asthma assoziiert sind¹⁷⁰. Ferner besteht eine Assoziation von Genen des Wnt-Signalweges mit einer beeinträchtigten Lungenfunktion bei asthmatischen Kindern¹⁷¹. Funktionell hat der Wnt-Signalweg wahrscheinlich besonders eine Bedeutung bei der Entwicklung der Atemwege sowie bei Erneuerungs- und Remodellierungsprozessen^{108,158}. Die Expression von Wnt-Zielgenen in Tracheen mit erhöhter und reduzierter *ormdl*-Expression war dennoch nicht einheitlich (Abbildung 13B). Zwar kann die Expression von Zielgenen in Abhängigkeit von der Entwicklungsstufe und des Zelltyps variieren, dennoch ist eine Modulation des Wnt-Signalweges durch eine *ormdl*-Deregulierung fraglich.

Die zweite Kategorie, bei der eine mögliche Modulation durch ORMDL vorliegt, ist die Stressantwort. So war zum einen die Regulierung von Genen zu Stress-assoziierten Gen-Ontologie-Funktionsklassen im Falle einer *ormdl*-Deregulierung in den Tracheen angereichert (Abbildung 12). Zum anderen lag eine Anreicherung der Regulierung von mit dem Stress-Signalweg dTOR/PI3K assoziierten Genen vor (Abbildung 10) und die Expression von Zielgenen dieses Signalweges und der UPR war bei einer *ormdl*-Deregulierung modifiziert (Abbildung 16). Die PI3K ist relevant für die Asthma-Pathogenese: es wird angenommen, dass diese Kinase durch die Rekrutierung, Aktivierung und Apoptose von Entzündungszellen¹⁷² sowie die Modulation von T_H-Zell-Antworten¹³³ auf die pulmonale Eosinophilie, die Atemwegsentzündung und die Atemwegshyperreagibilität Einfluss nimmt¹⁷². Auffällig war zusätzlich, dass erhöhte und reduzierte *ormdl*-Expression oft eine ähnliche Reaktion zur Folge hatten. Dies deutet darauf hin, dass die Effekte durch ORMDL nicht direkt, sondern indirekt vermittelt werden, z.B. über eine Störung der zellulären Homöostase.

Überdies war die Regulierung von Genen angereichert, die mit zwei Signalwegen assoziiert sind, die besonders bei epithelialen Reparaturprozessen von Bedeutung sind: Notch¹⁷³ und EGFR¹⁷⁴ (Abbildungen 14 und 15). Zusätzlich zu seiner Bedeutung bei der Regenerierung ist Notch relevant für die T_H-Zell-Polarisierung bei Asthma¹⁷⁵. Basierend auf der Analyse der Zielgen-Expression der Notch- und EGFR-Signalwege ist eine Inhibition dieser Signalwege durch *ormdl*-Deregulierung denkbar. In diesem Zusammenhang wurde bei Asthmatikern eine eingeschränkte epitheliale Reparatur beschrieben¹⁷⁶, wobei dem EGFR-Signalweg eine entscheidende Rolle zugesprochen wird¹⁷⁴. Es wird davon ausgegangen, dass die beeinträchtigte Reparatur des asthmatischen Epithels zu einem chronischen Reparatur-Status führt, der das

Epithel zu einer kontinuierlichen Quelle von entzündungsfördernden Mediatoren und Wachstumsfaktoren macht¹⁷⁷. Der EGFR-Signalweg ist zusätzlich an der Mukus-Produktion und -Sekernierung sowie an der Rekrutierung von Neutrophilen beteiligt¹⁵⁹. Bei *Drosophila* ist der Signalweg zudem entscheidend in die Abwehr von Pathogenen involviert¹⁴⁹.

Die Prozesse Entwicklung, Stress und Reparatur sind stark miteinander verknüpft. So kann extremer zellulärer Stress die Apoptose von Zellen zur Folge haben¹⁷⁸, wodurch die eliminierten Zellen anschließend über Erneuerungsprozesse nachgebildet werden müssen. Bei Schafen konnte gezeigt werden, dass die Reparatur des Atemwegsepithels nach der Behandlung mit Zigarettenrauch durch den EGFR-Signalweg gefördert wird¹⁷⁴. Auch als Antwort auf andere Umweltstressfaktoren und auf Allergene wird der EGFR-Signalweg aktiviert^{177,179,180}. Aber auch umgekehrt bedeutet der Reparaturvorgang Stress für die Zelle, die neue Proteine synthetisieren und freisetzen muss¹⁸¹. Erneuerung wird oft als das erneute Durchlaufen von Entwicklungsprozessen angesehen¹⁸². Dementsprechend würden sich Deregulierungen bei Entwicklungsprozessen gleichermaßen bei Reparaturprozessen ausdrücken. Aufgrund dieser starken Vernetzung von Entwicklung, Stress und Reparatur ist die Frage nach dem primären durch ORMDL modulierten Faktor und den sekundären Effektoren schwer zu beantworten. Zusätzlich besteht noch die Möglichkeit, dass alle drei Prozesse sekundärer Natur sind, die einem anderen durch ORMDL modulierten Prozess folgen, z.B. der Störung der Lipid-Homöostase.

Zusammengefasst kann jedoch festgehalten werden, dass eine *ormdl*-Überexpression im Atemwegsepithel von *Drosophila* eine erhöhte Suszeptibilität gegenüber Umweltstressfaktoren zur Folge hat. Die molekulare Grundlage hierfür ist vermutlich ein erhöhter zellulärer Stress-Status, der möglicherweise aus einer gestörten Lipid-Homöostase, Entwicklungsdefekten und/oder beeinträchtigter epithelialer Reparatur resultiert.

4.2 ORMDL im Darm von *Drosophila melanogaster*

ORMDL3 ist nicht nur mit der Pathogenese von Asthma assoziiert²², sondern auch mit weiteren Krankheiten wie zum Beispiel Morbus Crohn^{50,67,68}. Diese chronisch-entzündliche Erkrankung des Darmes zeigt bei ihrer Pathogenese viele Ähnlichkeiten zu Asthma (Tabelle 1). Daher ist es denkbar, dass *ORMDL3* in den Atemwegen und im Darm ähnliche Funktionen besitzt. Zudem ist *Drosophila* ein bereits etabliertes Mo-

dell zur Erforschung chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen¹⁴⁸ und ein großer Vorteil des GAL4/UAS-Systems ist die Varianz der Treiberstämme, mit denen der exprimierende Zelltyp festgelegt wird¹²⁰. Aus den vorgenannten Gründen sollten auch die Funktionen von ORMDL im Darm von *Drosophila melanogaster* untersucht werden.

4.2.1 *Ormdl*-Deregulierung moduliert Entwicklungs-, Stress- und Reparatur-assoziierte Prozesse und Signalwege im Darm

Der Darm von *Drosophila* weist einen sehr hohen Zellumsatz auf, wobei von einer kompletten Erneuerung des Darmepithels alle 7-10 Tage ausgegangen wird¹⁴⁹. Dieses auf Regenerierung spezialisierte Epithel ist somit besonders gut zur Untersuchung von Reparaturvorgängen geeignet. Um den Einfluss einer *ormdl*-Überexpression auf die Reparatur des Darmepithels zu untersuchen, wurde oral die Substanz DSS verabreicht (Abbildung 17). DSS ist toxisch, gewebeschädigend und induziert eine Kolitis in Mausmodellen¹⁵⁰. Eine Überexpression von *ormdl* verringerte die Lebensdauer nach DSS-Behandlung. In diesem Kontext war bei einer *ormdl*-Deregulierung wie schon in den Tracheen (Abbildungen 14 und 15) im Darm die Regulierung von mit den EGFR- und Notch-Signalwegen assoziierten Genen signifikant angereichert (Abbildung 19) und die Mehrheit ihrer Zielgene reduziert exprimiert (Abbildung 20). Aus diesem Grund ist denkbar, dass ORMDL die epithelialen Reparaturmechanismen beeinträchtigt. In Mausmodellen konnte jedoch auch gezeigt werden, dass zur Bewältigung der DSS-induzierten Kolitis die UPR von Bedeutung ist^{183,184} und daher könnte auch eine Modulation der UPR durch ORMDL die verringerte Lebensdauer nach der DSS-Behandlung verursachen. In diesem Zusammenhang konnte nachgewiesen werden, dass eine Deregulierung von *ormdl* im Darm die Aktivierung der UPR verstärkte (Abbildung 21). Hier besteht ein wesentlicher Unterschied zu den Tracheen, bei denen eine *ormdl*-Überexpression keinen Einfluss auf die UPR-Aktivierung zeigte (Abbildung 10A).

Bei erhöhter und reduzierter *ormdl*-Expression war, wie in den Tracheen, die wesentliche angereicherte Kategorie im Darm Morphogenese und Entwicklung (Abbildung 18). Auch das weitere Gen-Ontologie-Funktionsklassenprofil ähnelte dem der *ormdl*-Deregulierung in den Tracheen (Abbildung 12).

4.2.2 *Ormdl*-Überexpression modifiziert die Menge verschiedener Lipide im larvalen Darm

Im Rahmen der Kooperation mit Nicole Zehethofer und PD Dr. Buko Lindner (FZB) wurde auch im Darm der Einfluss einer *ormdl*-Überexpression auf die Lipidzusammensetzung untersucht. Im Vergleich zu den Tracheen wurden hier teilweise andere Lipidklassen detektiert. In den Tracheen waren Cer, Cer-PE, FA, LPC, LPE, PC, PE, PG und PI vorhanden, im Darm ebenfalls Cer, Cer-PE, LPC, PC, PE und PI, jedoch keine FA, LPE oder PG. Zusätzlich wurden im Darm HexCer und PS gefunden.

Außerdem wurde deutlich, dass Cer und LPC in den Tracheen bei *ormdl*-Überexpression verstärkt auftraten (Abbildung 11), wohingegen die Menge im Darm verringert war (Abbildung 22 und 23). Beide Lipidklassen werden mit Asthma assoziiert^{54,165} und gelten als Modulatoren apoptotischer und inflammatorischer Prozesse^{56,164}. Ferner waren in den Tracheen insgesamt weniger Lipide in ihrer relativen Menge verändert: die Überexpression von *ormdl* in den Tracheen modifizierte nur sechs Lipide in ihrem Vorkommen, im Darm hingegen war das Vorkommen von 11 Cer-PEs, 7 LPCs und je einem PE und Cer modifiziert.

Dieses in Teilen abweichende Lipidom von Tracheen und Darm reflektiert möglicherweise die unterschiedlichen physiologischen Anforderungen an die Atemwege und den Darm. Zwar ist beiden Organen die Lokalisierung an der Grenze zur Umwelt mit allen daraus resultierenden Aufgaben gemein, physiologisch ergeben sich allerdings weitreichende Unterschiede. So werden die biosynthetische Leistung und der Stoffwechsel des Darmepithels aufgrund von Prozessen wie Sezernierung, Regenerierung und Absorption wesentlich stärker sein als im Atemwegsepithel. Dies bedeutet womöglich eine höhere Beanspruchung der Zellen, die sich wiederum verstärkend auf deren Stress-Status auswirkt. Aus diesen Gründen ist es möglich, dass die Effekte von ORMDL, die vermutlich in erster Linie in der Reaktion auf Stress deutlich werden, im Darmepithel stärker und/oder in anderer Form zum Ausdruck kommen als im Atemwegsepithel.

Abschließend ist festzustellen, dass die Funktion von ORMDL-Proteinen als Inhibitoren des Sphingolipid-Metabolismus gemäß der im Rahmen dieser Dissertation durchgeführten Analysen bei *Drosophila* wahrscheinlich weder in den Atemwegen noch im Darm konserviert ist. Nichtsdestotrotz hatte die Überexpression von *ormdl* in beiden Organen Veränderungen des Lipidoms zur Folge, bei denen es sich jedoch auch um sekundäre Effekte handeln könnte.

4.3 Der JAK/STAT-Signalweg in den Atemwegen von *Drosophila melanogaster*

Polymorphismen in den STAT-Transkriptionsfaktoren STAT3⁹³ und STAT6⁹⁴ werden mit der Asthma-Pathogenese assoziiert. Beide wurden schon intensiv im Kontext der allergischen Immunantwort untersucht^{90,95–98}. Seit kurzem steht dahingegen das Epithel im Mittelpunkt bei der Entstehung von Asthma^{103,113}, wobei STAT6 wird hauptsächlich vom bronchialen Epithel exprimiert wird^{97,98}. Aus diesem Grund sollte die funktionelle Relevanz des JAK/STAT-Signalweges im Atemwegsepithel für die Asthma-Pathogenese untersucht werden. Bei *Drosophila* ist der JAK/STAT-Signalweg konserviert und im Gegensatz zu der großen Vielfalt von JAK- und STAT-Proteinen beim Menschen wurden bei *Drosophila* nur je ein JAK-Protein (HOP), ein STAT-Protein (STAT92E) und ein Rezeptor (DOME) gefunden⁹⁹. Des Weiteren wurde dem JAK/STAT-Signalweg in den Tracheen von *Drosophila* bereits eine entscheidende Rolle bei der frühen Entwicklung der trachealen Verzweigungen zugeschrieben¹⁸⁵. Die Tatsache, dass eine konstitutive Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges in den Tracheen letal war (Daten nicht gezeigt), unterstützt dies und verdeutlicht, dass der korrekte Ablauf von Entwicklungsvorgängen nicht nur für die Entstehung der Tracheen, sondern auch für das Überleben des gesamten Organismus von entscheidender Bedeutung ist.

4.3.1 Die Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges in den larvalen Tracheen induziert eine Barrierestörung und Melanisierung

Bei einer konditionellen Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges nach dem larvalen L2-Stadium waren flüssigkeitsgefüllte Bereiche in den Tracheen zu erkennen (Abbildung 24). Dies deutet darauf hin, dass die Barrierefunktion des Epithels, das normalerweise die Abgrenzung zwischen dem luftgefüllten Inneren der Tracheen und dem Hämocoel aufrechterhält, gestört ist. Demgemäß ist auch bei Asthmatikern eine verringerte epitheliale Barrierefunktion beschrieben, bei der der transepitheliale Widerstand (TER) verringert¹⁸⁶ und die Permeabilität entsprechend erhöht ist¹⁰⁸. Die Integrität des Atemwegsepithels ist im Wesentlichen für drei Aspekte von Bedeutung. Zum einen wird eine strukturelle Trennung von Körperflüssigkeiten und der Atemluft benötigt¹⁸⁷, zum anderen ist ein intaktes Epithel essentiell für den Gasaustausch¹³⁰. Daneben bestimmt das Epithel über seine Permeabilität den Eintritt von größeren Molekülen und Partikeln und diese Funktion ist besonders wichtig für die Asthma-

Pathogenese. Es wird davon ausgegangen, dass bei Asthmatikern durch eine verringerte Barriere mehr Allergene, Mikroorganismen und Toxine in Kontakt mit dem adaptiven Immunsystem kommen und so die allergische Sensibilisierung gefördert wird¹⁰⁷. In diesem Kontext konnte gezeigt werden, dass bei Asthmatikern die TJ-Bildung vermindert ist^{108,186}. Diese Zellverbindungen bestimmen im Wesentlichen die Barrierefunktion des humanen Epithels¹⁸⁸. Auch die Expression von E-Cadherin, einem Bestandteil der Adherens Junctions (AJ)¹⁰⁸ ist reduziert. Bei *Drosophila* sind keine TJ vorhanden und die von ihnen vermittelte Barrierefunktion wird stattdessen von den SJ ausgeübt¹³². Eine immunhistochemische Analyse der Struktur dieser SJ zeigte jedoch keinen Einfluss der Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges (Abbildung 25). Obwohl diese Analyse lediglich einen Überblick über die SJ-Struktur ermöglicht, liegt der in den Tracheen beobachteten Barrierestörung vermutlich ein anderer Mechanismus zugrunde.

4.3.2 Die Beteiligung der Wnt- und TGF- β -Signalwege an der durch die JAK/STAT-Aktivierung induzierten Barrierestörung und Melanisierung

Um den vorgenannten Mechanismus zu identifizieren, wurde eine Analyse der durch die Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges regulierten Prozesse und Signalwege durchgeführt. Entsprechend der bereits etablierten Funktion des JAK/STAT-Signalweges bei Entwicklungsvorgängen^{100,101} war vor allem die Regulierung von Genen angereichert, die mit der Morphogenese und der Entwicklung assoziiert sind (Abbildung 26). Zusätzlich war die Regulierung von mit den Signalwegen Wnt und TGF- β assoziierten Genen signifikant angereichert (Abbildung 27), die beide wichtig für die Entwicklung der Tracheen sind¹⁶⁹. Dementsprechend besteht eine Hypothese, bei der Asthma als Entwicklungskrankheit postuliert wird¹⁶⁸. Hierbei wird angenommen, dass Beeinträchtigungen bei der Bildung des respiratorischen und des immunologischen Systems Grundlage für die Asthma-Pathogenese sind.

Der Wnt-Signalweg wurde bisher nur wenig im Zusammenhang mit Asthma diskutiert¹⁵⁸. Polymorphismen in β -Catenin, dem Transkriptionsfaktor des Signalweges, werden jedoch mit Asthma assoziiert¹⁷⁰ und dieser Signalweg scheint neben seinen vielfältigen Aufgaben bei der Entwicklung auch eine Rolle bei der epithelialen Reparatur zu haben¹⁰⁸. TGF- β wird im Zusammenhang mit Asthma kontrovers diskutiert. Dieses Zytokin kann, in Abhängigkeit von der Umgebung und dem Zelltyp, sehr unterschiedliche Funktionen haben¹²⁷. TGF- β wird als ein entscheidender Mediator von

Asthma gesehen, der durch anti-inflammatorische und profibrogene Effekte sowie durch Einflüsse auf Erneuerungsmechanismen das *Remodeling* beeinflusst¹²⁷. Zudem sind Polymorphismen im TGF- β 1-Gen mit der Asthma-Pathogenese assoziiert¹⁸⁹. Die Analyse von Zielgenen dieser Signalwege zeigte bei allen Untersuchungen eine (signifikante oder tendenzielle) Reduktion der Expression (Abbildung 28). Somit ist es möglich, dass eine Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges einen inhibierenden Einfluss auf diese Signalwege ausübt. Darüber hinaus wurde die Lokalisierung von Armadillo, dem Transkriptionsfaktor des Wnt-Signalweges, immunhistochemisch untersucht (Abbildung 29). Armadillo transloziert bei einer Aktivierung des Signalweges in den Kern, wobei diese Translokation als Reaktion auf die Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges nicht beobachtet werden konnte. Dies unterstützt die zuvor beschriebene These, nach der die Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges inhibierend auf den Wnt-Signalweg wirkt. Interessanterweise war die Verteilung von Armadillo, das in Epithelien insbesondere an der Zellmembran lokalisiert ist¹⁹⁰, infolge der JAK/STAT-Aktivierung stark verändert. Hierfür sind zwei mögliche Begründungen denkbar. Zum einen könnte die Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges direkt auf die Lokalisierung von Armadillo oder eines assoziierten, die Lokalisierung bestimmenden Proteins, Einfluss nehmen. Auf diese Weise könnte auch die Zugänglichkeit von Armadillo verringert werden, wodurch der Signalweg inhibiert würde. Alternativ ist denkbar, dass die Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges Einfluss auf die Feinstruktur der interzellulären Zellverbindungen hat. Wenn diese Feinstruktur die Morphologie der Zellmembran verändert, würde sich die Lokalisierung von Armadillo entsprechend anpassen. Auch hier ist ein Einfluss auf die Zugänglichkeit des für die Aktivierung des Signalweges entscheidenden Transkriptionsfaktors¹⁹¹ denkbar.

Davon ausgehend, dass der JAK/STAT-Signalweg die Wnt- und TGF- β -Signalwege beeinflusst, stellt sich die Frage, ob die beobachtete Barrierestörung (Abbildung 24) über eine Modulation dieser Signalwege vermittelt wird. Eine Inhibition des TGF- β -Signalweges zeigte im Vergleich zu den Kontrolltieren keine morphologischen Veränderungen in den Tracheen (Abbildung 29). Sowohl die Reduktion als auch eine konstitutive Aktivierung des Wnt-Signalweges hatten jedoch einen starken Einfluss auf die Struktur der Tracheen. Die Tatsache, dass eine Deregulierung in beide Richtungen einen ähnlichen Phänotyp zeigte, deutet darauf hin, dass die präzise Kontrolle dieses Signalweges von großer Bedeutung ist und Störungen bei dessen Homöostase ausgesprochen drastische Auswirkungen haben können.

Der beobachtete Phänotyp ähnelte dem bei einer Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges. Zusätzlich kam es bei einer konditionellen Aktivierung des Wnt-Signalweges, wie auch bei der Induktion des JAK/STAT-Signalweges, an vereinzelt Stellen zu einer Melanisierung der Tracheen. Aus den vorgenannten Gründen ist es wahrscheinlich, dass die Barrierestörung, die bei einer Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges auftrat, durch eine Inhibierung des Wnt-Signalweges vermittelt wurde.

4.3.3 Die Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges hat keinen Einfluss auf die Genexpression von Enzymen der Melanisierungskaskade

Eine Melanisierung tritt bei *Drosophila* auf, wenn Pathogene eindringen oder eine Verletzung erfolgt ist¹⁹². Am Ort der Infektion oder Verletzung wird Melanin gebildet, um das Pathogen zu fixieren und die Wundheilung zu fördern¹⁵¹. Zusätzlich werden dabei antimikrobielle reaktive Sauerstoffspezies (ROS) gebildet¹⁵¹.

Es stellte sich die Frage, ob der JAK/STAT-Signalweg direkt Einfluss auf die Melanisierungskaskade genommen hat, zum Beispiel in Form einer Veränderung der Genexpression der beteiligten Enzyme, oder ob die beobachtete Melanisierung ein sekundärer Effekt war. Da eine Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges keinen Einfluss auf die Genexpression der Melanisierungsenzyme hatte (Abbildung 31), ist es eher wahrscheinlich, dass die beobachtete Melanisierung sekundär vermittelt wurde. Denkbar wäre, dass die Barrierestörung wie eine Verletzung gewirkt hat und so die Melanisierung induzieren konnte.

Zusammengefasst ist davon auszugehen, dass eine Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges eine Barrierestörung des Atemwegsepithels zur Folge hatte, die wahrscheinlich über eine Inhibition des Wnt-Signalweges vermittelt wurde und so stark war, dass die Verletzung die Melanisierungskaskade induziert hat.

4.4 Fazit: Die funktionelle Relevanz des Asthma-Suszeptibilitätsgens *ORMDL3* und des Asthma-assoziierten JAK/STAT-Signalweges im Atemwegsepithel

Die Ergebnisse dieser Dissertation zeigen, dass eine erhöhte *ormdl*-Expression in den Atemwegen und im Darm von *Drosophila* zu einer erhöhten Reaktion auf Umweltstressfaktoren führte. Diese war begleitet von einer Modulation der zellulären Stressantwort, Veränderungen beim Vorkommen von Asthma-relevanten Lipiden, reduzierter Expression von Reparatur-Signalwegen und einer transkriptionellen Anreicherung von Entwicklungs-assoziierten Genen.

Die Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges im Atemwegsepithel von *Drosophila* hatte eine Beeinträchtigung der epithelialen Barriere zur Folge. An der Entstehung dieser Barriestörung war der Wnt-Signalweg mutmaßlich beteiligt. Auch hier kam es zu einem verstärkten Auftreten Entwicklungs-assoziiierter Gene.

Das asthmatische Epithel ist funktionell beeinträchtigt, wobei im Wesentlichen fünf charakteristische Eigenschaften beschrieben sind: die Barrierefunktion ist vermindert^{74,105,108}, es werden verstärkt entzündungsfördernde Mediatoren¹⁰⁷ und Wachstumsfaktoren¹¹² freigesetzt, die antivirale Antwort ist reduziert¹⁰³, der Stressstatus erhöht^{110,111} und die Suszeptibilität gegenüber Verletzungen ist verstärkt beziehungsweise die Reparaturprozesse verringert¹⁰⁵.

In Tabelle 2 ist ein Vergleich funktioneller Eigenschaften des asthmatischen Epithels mit der Modulation von Homologen der Asthma-Suszeptibilitätsgene bei *Drosophila* dargestellt. Bei einer erhöhten *ormdl*-Expression konnten zwei funktionelle

Tabelle 2: Funktionelle Eigenschaften des asthmatischen Epithels im Vergleich zu der Modulation von Homologen der Asthma-Suszeptibilitätsgene bei *Drosophila*

Funktionelle Eigenschaften des asthmatischen Epithels	Modulation von Homologen der Asthma-Suszeptibilitätsgene bei <i>Drosophila</i>	
	<i>ormdl</i> -Überexpression	JAK/STAT-Aktivierung
beeinträchtigte Barrierefunktion		beeinträchtigte Barrierefunktion
erhöhte Freisetzung von Wachstumsfaktoren und entzündungsfördernden Mediatoren		
reduzierte antivirale Antwort		
erhöhter Stress-Status	Stress-Signalwege modifiziert und assoziierte Gene transkriptionell angereichert, erhöhte Suszeptibilität gegenüber Umweltstressfaktoren	
stärkere Suszeptibilität gegenüber Verletzungen/ reduzierte Reparatur	Gene von Reparatur-Signalwegen transkriptionell angereichert, Expression ihrer Zielgene reduziert	

Gegenüberegestellt sind die funktionellen Charakteristika des asthmatischen Epithels und die Ergebnisse dieser Dissertation.

Eigenschaften gezeigt werden, die denen des asthmatischen Epithels ähnlich waren: ein erhöhter Stress-Status und eine verstärkte Suszeptibilität gegenüber Verletzungen bzw. eine reduzierte epitheliale Reparatur. Zusätzlich wurde im Falle einer Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges ebenfalls eine funktionelle Eigenschaft des asthmatischen Epithels gezeigt, die beeinträchtigt die Barrierefunktion. Der Einfluss einer *ormdl*-Überexpression bzw. einer Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges auf die antivirale Antwort wurde im Rahmen dieser Dissertation nicht untersucht und für eine verstärkte Freisetzung von entzündungsfördernden Mediatoren und Wachstumsfaktoren konnten keine Hinweise gefunden werden. Zu diesem Punkt ist jedoch zu beachten, dass hier ein großer Unterschied zwischen dem humanen Atemwegsepithel und dem von *Drosophila* besteht. Im Menschen kommuniziert das respiratorische Epithel intensiv über die Freisetzung von Immunmodulatoren und Wachstumsfaktoren mit anderen Zellen, wobei es diese Zellen zum Beispiel aktivieren oder rekrutieren kann¹⁰⁶. Das Atemwegsepithel von *Drosophila* ist hingegen weitestgehend autark und unkommunikativ¹¹. Für eine Untersuchung dieses Aspekts des asthmatischen Epithels scheint *Drosophila* daher nicht optimal geeignet zu sein.

Umweltfaktoren wie Allergene, Zigarettenrauch, Virusinfektionen oder Medikamente haben im Wesentlichen zwei Auswirkungen auf das Atemwegsepithel. Zum einen üben sie Stress aus, der den Aktivierungsstatus des Epithels erhöht^{110,111}. Ein aktiviertes Epithel kommuniziert mit seiner Umgebung durch die Rekrutierung und Aktivierung von Zellen des Immunsystems^{106,107}. Demnach sind an einem gestressten Epithel vermehrt Immunzellen vorhanden, die wiederum verstärkt aktiviert sind. Zum anderen können vorgenannte Umweltfaktoren Verletzungen induzieren, die eine Barriestörung zur Folge haben^{180,193,194}. Diese Barriestörung kann dann einen verstärkten Kontakt des Immunsystems mit den Allergenen begünstigen¹⁰⁷. Der Stress-Status des Epithels und dessen Barrierefunktion sind keine isolierten Merkmale, sondern es kommt zu einer Interaktion beider Komponenten. So werden stark gestresste Zellen apoptotisch, was zu ihrer Eliminierung aus dem Zellverband führt. Die hierdurch entstehenden Lücken im Epithel haben einen negativen Einfluss auf dessen Barrierefunktion und die entfernten Zellen müssen erneuert werden. Die Reparaturvorgänge wirken wiederum aufgrund von erhöhter biosynthetischer Leistung verstärkend auf den Stress-Status des Epithels.

Ein gesundes respiratorisches Epithel hat die Fähigkeit, den Stress und die Verletzungen, die durch Umweltfaktoren induziert werden, zu bewältigen. Hierfür sind im

Wesentlichen Komponenten verantwortlich, die eine Adaption an den Stress vermitteln (z.B. Hitzeschockproteine, UPR, dTOR/PI3K-Signalweg, ROS, DNA-Schädigungs-Antwort, JNK-Signalweg, Mitogen-aktivierte Proteinkinase (MAPK)-Signalweg)¹⁹⁵⁻¹⁹⁷ bzw. eine adäquate Erneuerung des Epithels durchführen (z.B. EGFR-^{177,179,180}, Notch-¹⁷³, JAK/STAT-¹⁵⁸ und Wnt-Signalwege¹⁵⁸, Interleukine und Matrix-Metalloproteasen¹⁵⁸).

Bei Asthmatikern besteht jedoch möglicherweise eine genetische Prädisposition, die das Epithel bei der Bewältigung von umweltbedingtem Stress und Verletzungen einschränkt (Abbildung 32).

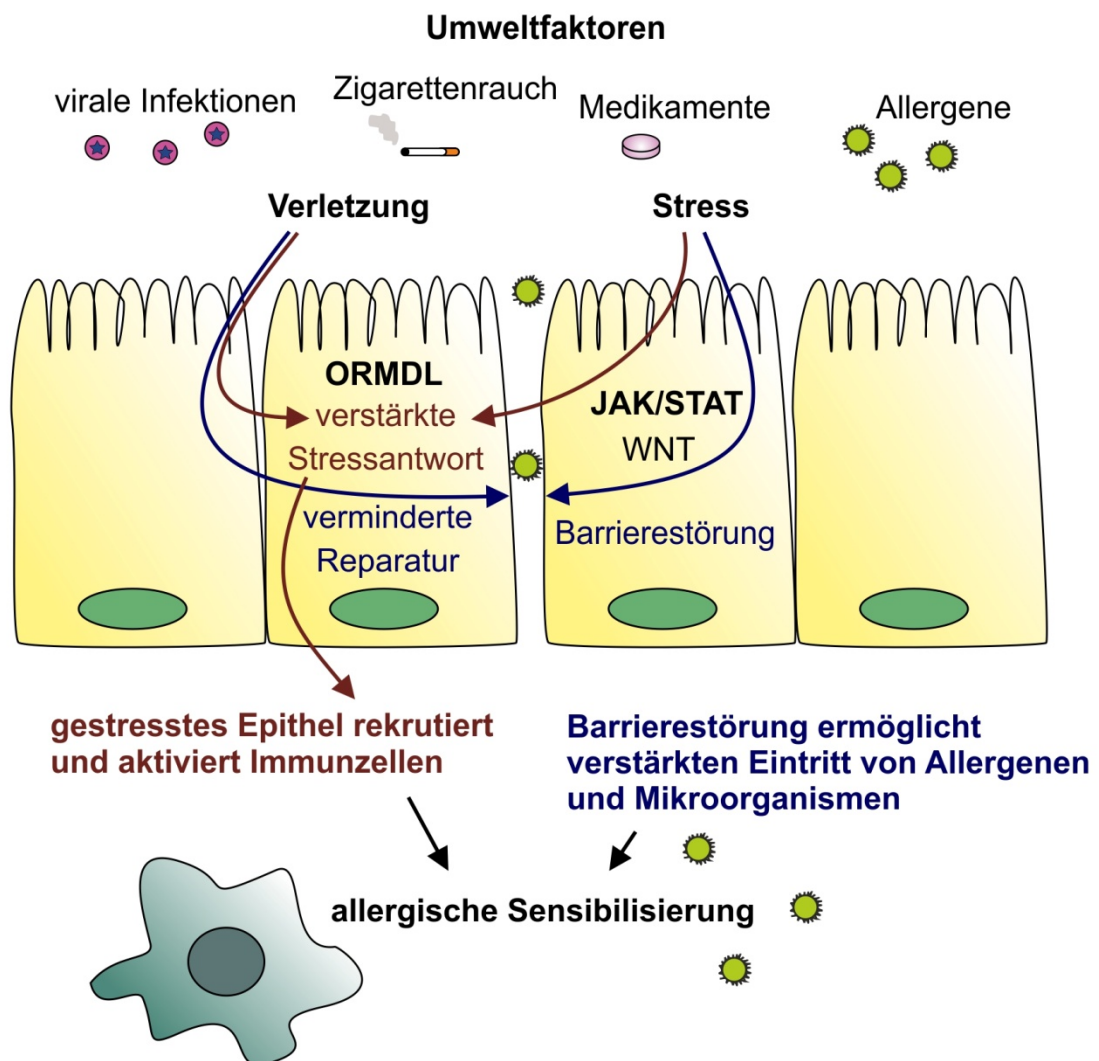


Abbildung 32: Modell zur Rolle des asthmatischen Epithels bei der Asthma-Pathogenese

Dargestellt ist Schema des hypothetischen Modells, das, unter Einbeziehung von Ergebnissen dieser Dissertation und bereits veröffentlichten Untersuchungen, den möglichen Einfluss von Barrierestörung, verstärkter Stressantwort und verminderten Reparaturmechanismen auf die Asthma-Pathogenese beschreibt.

Diese Hypothese wird durch die Ergebnisse dieser Dissertation unterstützt. Naheliegender ist, dass die Kombination aus mehreren fehlregulierten Genen und Umweltfaktoren in ihrer Gesamtheit die Stress- und Reparaturantwort des Epithels so stark beeinträchtigen, dass eine allergische Sensibilisierung ermöglicht wird. Bei diesem Szenario sind durch eine verminderte epitheliale Barriere vermehrt Allergene unter dem Epithel lokalisiert. Gleichzeitig hat das gestresste Epithel Immunzellen wie DCs rekrutiert und aktiviert. Diese DCs können nun das Allergen aufnehmen und das adaptive Immunsystem für eine gegen das Allergen gerichtete, allergische Immunantwort sensibilisieren.

Hierbei wird die genetische Komponente der Asthma-Pathogenese vermutlich nicht durch einige wenige Gene vermittelt, deren Fehlregulierung bei dem Auftreten von Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNPs) große Effekte zeigen. Vielmehr wird davon ausgegangen, dass gleichzeitig in vielen verschiedenen Genen SNPs mit moderaten Einzel-Effekten auftreten und dass die genetische Prädisposition für Asthma das Resultat der Kombination dieser Einzel-Effekte ist¹⁹⁸. Aus diesem Grund ist es wahrscheinlich, dass jeweils eine Kombination verschiedener Genpolymorphismen das Epithel auf verschiedene Weise dementsprechend beeinträchtigt, dass der Eintritt von Allergenen und/oder der Stress-Status erhöht sind. Dementsprechend existieren bei Asthma verschiedene Phänotypen, die sehr unterschiedlich bei ihrer Ausprägung, ihrer Responsivität gegenüber Medikamenten und bei den auslösenden Faktoren eines asthmatischen Anfalls sind¹⁹⁹. Die Ähnlichkeiten zwischen der Modulation von Asthma-Suszeptibilitätsgen-Homologen in *Drosophila* und den funktionellen Charakteristika des asthmatischen Epithels verdeutlichen außerdem die Qualität des *Drosophila*-Asthma-Modells bei der Analyse dieser Gene im respiratorischen Epithel. Zusätzlich war auffallend, dass sowohl bei einer *ormdl*-Überexpression als auch bei einer JAK/STAT-Aktivierung in erster Linie Prozesse angereichert waren, die mit Entwicklung und Morphogenese assoziiert werden können. Auch die verstärkt aufgetretenen Signalwege Wnt, TGF- β , EGFR und Notch sind von entscheidender Bedeutung für die Bildung der Tracheen¹⁶⁹. Die Asthma-Pathogenese beginnt im Kindesalter²², einem Zeitpunkt, in dem sich die Atemwege noch entwickeln und die Ergebnisse dieser Dissertation stehen im Einklang mit der Hypothese, dass Asthma im Wesentlichen eine Entwicklungs-Erkrankung ist, bei der die normale Entstehung der Atemwege und des Immunsystems in der Kindheit beeinträchtigt sind¹⁶⁸.

4.5 Ausblick

Drosophila hat sich in dieser Dissertation als ausgezeichnetes Modell für die initiale Analyse der funktionellen Relevanz von Asthma-Suszeptibilitätsgenen erwiesen. Aus zeitlichen Gründen konnten hierbei verschiedene Aspekte nicht berücksichtigt werden. Dies ist zum einen der Einfluss einer *ormdl*-Überexpression sowie einer JAK/STAT-Aktivierung auf die antivirale Antwort, der eine bedeutende Rolle bei der Asthma-Pathogenese zukommt. Zum anderen ist die Untersuchung der Modulation der intestinalen Mikrobiota durch eine *ormdl*-Überexpression bzw. eine JAK/STAT-Aktivierung ausgesprochen interessant. Veränderungen in Stress-Zustand und Barrierestruktur des Epithels können die Besiedelungsgrundlagen für Kommensalen verändern. Eine gesunde, diverse Mikrobiota ist wiederum bedeutend für die Entwicklung des Immunsystems^{16,18}.

Des Weiteren ist es von entscheidender Bedeutung, zu evaluieren, ob die gefundenen Funktionen bei Säugetieren konserviert sind. Aus diesem Grund wäre ein Transfer der Resultate in Mausmodelle äußerst sinnvoll.

5 Zusammenfassung

Asthma ist eine chronisch-entzündliche Erkrankung der Atemwege, die weltweit etwa 300 Millionen Menschen betrifft. Die Pathogenese beruht auf einem Zusammenspiel von Umweltfaktoren mit einer genetischen Prädisposition und sie ist noch unzureichend verstanden. Diese genetische Prädisposition wird durch zahlreiche Gene vermittelt, deren Relevanz für die Asthma-Pathogenese teilweise noch unverstanden ist. Eine Analyse dieser Asthma-Suszeptibilitätsgene kann zum Verständnis der Asthma-Pathogenese beitragen und damit neue Therapie- und Präventionsmöglichkeiten eröffnen.

Traditionell wird Asthma als eine Erkrankung betrachtet, deren Ursprünge in den allergischen Mechanismen des adaptiven Immunsystems liegen. In den letzten Jahren hat sich dieser Fokus verschoben und das Epithel steht nunmehr im Fokus der Asthma-Pathogenese. Dabei schafft das Epithel in Asthmatikern infolge einer abnormen Antwort auf Umweltfaktoren womöglich eine Mikroumgebung, die Entzündungsreaktionen fördert und eine allergische Sensibilisierung ermöglicht.

Basierend auf dieser Hypothese wurde ein *Drosophila*-Asthmamodell zur Untersuchung von Asthma-Suszeptibilitätsgenen im Atemwegsepithel angewendet. Dieses Modell hat zwei wesentliche Vorteile, eine Fokussierung auf das Atemwegsepithel ohne Einflüsse einer adaptiven Immunantwort sowie eine Einschränkung des zeitlichen Aspektes.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Relevanz der Asthma-Suszeptibilitätsgene *ORMDL3*, *STAT3* und *STAT6* im Atemwegsepithel des Modellorganismus *Drosophila melanogaster* untersucht. Eine erhöhte Expression von *ormdl*, dem *Drosophila* Homolog zum humanen *ORMDL3*, in den Atemwegen und im Darm von *Drosophila* führte zu einer erhöhten Antwort gegenüber Umweltstressfaktoren. Diese war von einer Modulation der zellulären Stressantwort, Veränderungen beim Vorkommen von Asthma-relevanten Lipiden und der reduzierten Expression von Reparatur-Signalwegen begleitet. Die Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges im Atemwegsepithel von *Drosophila* hatte eine Beeinträchtigung der epithelialen Barriere zur Folge. An der Entstehung dieser Barriestörung war der Wnt-Signalweg mutmaßlich beteiligt. In beiden Fällen kam es zusätzlich zu einer transkriptionellen Anreicherung von Entwicklungs-assoziierten Genen.

Diese Resultate unterstützen die Hypothese, dass eine genetische Prädisposition das asthmatische Epithel bei der Bewältigung von umweltbedingtem Stress und

Verletzungen einschränkt. Eine Kombination aus mehreren fehlregulierten Genen und Umweltfaktoren beeinträchtigen die Stressantwort und die Erneuerungsvorgänge des Epithels möglicherweise so stark, dass eine allergische Sensibilisierung ermöglicht wird.

Darüber hinaus existiert eine Schnittmenge der Resultate mit den funktionellen Eigenschaften des asthmatischen Epithels, das unter anderem gekennzeichnet ist durch eine beeinträchtigte Barriere, einen erhöhten Stress-Status und eine verringerte Reparatur. Diese Schnittmenge verdeutlicht die Qualität des *Drosophila*-Asthma-Modells bei der initialen Analyse der funktionellen Relevanz von Asthma-Suszeptibilitätsgenen im respiratorischen Epithel.

6 Summary

Asthma is a chronic inflammatory disease of the airways that affects 300 million people world-wide. The pathogenesis is not completely understood. However, an interaction of environmental and genetic factors is thought to cause asthma development. This genetic predisposition is caused by many asthma susceptibility genes. For some of these genes, the relevance for asthma pathogenesis, in general or regarding particular aspects, is unknown. Studying the functional relevance of these genes can provide a better understanding of asthma pathogenesis and thus contribute to the development of new therapies.

Asthma has long been thought to be a disease of the adaptive immune system. In contrast, an opposing view puts the epithelium in the center of the pathogenesis. Through its abnormal response to environmental stimuli, the asthmatic epithelium is assumed to create a microenvironment that facilitates allergic sensitization and promotes inflammation.

Taking this in account, a *Drosophila* asthma model for initial studies on asthma susceptibility genes in the airway epithelium was used. This model has two major advantages. First, a focus on the airway epithelium with no influence of the adaptive immune response is possible. Second, the temporal aspect of the studies can be strongly reduced.

In this study, the relevance of the asthma susceptibility genes *ORMDL3*, *STAT3* and *STAT6* was analyzed using the model organism *Drosophila melanogaster*.

Overexpression of *ormdl*, the *Drosophila* representative of human *ORMDL3*, in the airway epithelium and in the gut resulted in increased susceptibility to environmental stress. This enhanced susceptibility was accompanied by an increased cellular stress status, changes in lipid amounts and reduced expression of repair pathways. Furthermore, activation of the JAK/STAT pathway in the airway epithelium of *Drosophila* led to an epithelial barrier disruption, which was likely to depend on Wnt signaling. In addition, a transcriptional enrichment of developmental genes was present in both cases.

These results support the hypothesis that a genetic predisposition compromises the ability of the asthmatic epithelium to cope with stress and injury resulting from environmental stress. Thus, a combination of environmental factors and several deregulated asthma susceptibility genes might impair the stress response and the renewal of the epithelium in a manner that facilitates allergic sensitization.

Moreover, the results obtained in *Drosophila* share an intersection with the functional characteristics of the asthmatic epithelium. In asthma, the epithelial barrier is impaired, the cellular stress status is enhanced and repair is reduced. This intersection emphasizes the quality of the *Drosophila* asthma model in the initial analysis of the functional relevance of asthma susceptibility genes in the respiratory epithelium.

7 Literaturverzeichnis

1. Hammad, H. & Lambrecht, B. N. Dendritic cells and epithelial cells: linking innate and adaptive immunity in asthma. *Nature Reviews Immunology* **8**, 193–204 (2008).
2. Lai, W.-Q., Wong, W. S. F. & Leung, B. P. Sphingosine kinase and sphingosine 1-phosphate in asthma. *Bioscience Reports* **31**, 145–50 (2011).
3. Global Initiative for Asthma (GINA), Internetauftritt: <http://www.ginasthma.org/>
4. Holgate, S. T. Innate and adaptive immune responses in asthma. *Nature Medicine* **18**, 673–683 (2012).
5. Flicker, S. & Valenta, R. Renaissance of the blocking antibody concept in type I allergy. *International Archives of Allergy and Immunology* **132**, 13–24 (2003).
6. Wenzel, S. E. Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches. *Nature Medicine* **18**, 716–25 (2012).
7. Lemanske, R. F. & Busse, W. W. Asthma. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* **111**, S502–19 (2003).
8. Rodrigo, G. J., Rodrigo, C. & Hall, J. B. Acute asthma in adults: a review. *Chest* **125**, 1081–102 (2004).
9. Bousquet, J., Jeffery, P. K., Busse, W. W., Johnson, M. & Vignola, A. M. Asthma. From bronchoconstriction to airways inflammation and remodeling. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* **161**, 1720–45 (2000).
10. National Heart Lung and Blood Institute (NHLBI), Internetauftritt: <http://www.nhlbi.nih.gov/>
11. Roeder, T., Isermann, K. & Kabesch, M. Drosophila in asthma research. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* **179**, 979–83 (2009).
12. Sevin, C. M. & Peebles, R. S. Infections and asthma: new insights into old ideas. *Clinical and Experimental Allergy* **40**, 1142–54 (2010).
13. Davies, D. E., Wicks, J., Powell, R. M., Puddicombe, S. M. & Holgate, S. T. Airway remodeling in asthma: New insights. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* **111**, 215–225 (2003).
14. Wu, Q. & Chu, H. W. Role of infections in the induction and development of asthma: genetic and inflammatory drivers. *Expert Review of Clinical Immunology* **5**, 97–109 (2009).
15. Lemanske, R. F. & Busse, W. W. Asthma: clinical expression and molecular mechanisms. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* **125**, S95–102 (2010).
16. Huffnagle, G. B. The microbiota and allergies/asthma. *PLoS Pathogens* **6**, e1000549 (2010).
17. London, S. J. & Romieu, I. Gene by environment interaction in asthma. *Annual Review of Public Health* **30**, 55–80 (2009).
18. Forsythe, P. Probiotics and lung diseases. *Chest* **139**, 901–8 (2011).
19. Roeder, T., Isermann, K., Kallsen, K., Uliczka, K. & Wagner, C. A Drosophila asthma model - what the fly tells us about inflammatory diseases of the lung. *Advances in Experimental Medicine and Biology* **710**, 37–47 (2012).
20. Vercelli, D. Discovering susceptibility genes for asthma and allergy. *Nature Reviews Immunology* **8**, 169–82 (2008).
21. Holloway, J. W., Yang, I. a & Holgate, S. T. Genetics of allergic disease. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* **125**, S81–94 (2010).

22. Moffatt, M. F. *et al.* Genetic variants regulating ORMDL3 expression contribute to the risk of childhood asthma. *Nature* **448**, 470–3 (2007).
23. Jin, R. *et al.* Characterization of a novel isoform of the human ORMDL3 gene. *Cell and Tissue Research* **346**, 203–8 (2011).
24. Breslow, D. K. *et al.* Orm family proteins mediate sphingolipid homeostasis. *Nature* **463**, 1048–53 (2010).
25. Tavendale, R., Macgregor, D. F., Mukhopadhyay, S. & Palmer, C. N. a A polymorphism controlling ORMDL3 expression is associated with asthma that is poorly controlled by current medications. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* **121**, 860–3 (2008).
26. Verlaan, D. J. *et al.* Allele-specific chromatin remodeling in the ZBP2/GSDMB/ORMDL3 locus associated with the risk of asthma and autoimmune disease. *American Journal of Human Genetics* **85**, 377–93 (2009).
27. Lluís, A. *et al.* Asthma-associated polymorphisms in 17q21 influence cord blood ORMDL3 and GSDMA gene expression and IL-17 secretion. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* **127**, 1587–1594.e6 (2011).
28. Akhbir, L. & Sandford, A. J. Genome-wide Association Studies for Discovery of Genes Involved in Asthma. *Respirology* **16(3)**, 396–406 (2011).
29. Hirota, T. *et al.* Genetic polymorphism regulating ORM1-like 3 (*Saccharomyces cerevisiae*) expression is associated with childhood atopic asthma in a Japanese population. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* **121**, 769–70 (2008).
30. Galanter, J. *et al.* ORMDL3 gene is associated with asthma in three ethnically diverse populations. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* **177**, 1194–200 (2008).
31. Sleiman, P. M. A. *et al.* ORMDL3 variants associated with asthma susceptibility in North Americans of European ancestry. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* **122**, 1225–7 (2008).
32. Leung, T. F. *et al.* Asthma and atopy are associated with chromosome 17q21 markers in Chinese children. *Allergy* **64**, 621–8 (2009).
33. Halapi, E. *et al.* A sequence variant on 17q21 is associated with age at onset and severity of asthma. *European Journal of Human Genetics* **18**, 902–8 (2010).
34. Ferreira, M. A. R. *et al.* Association between ORMDL3, IL1RL1 and a deletion on chromosome 17q21 with asthma risk in Australia. *European Journal of Human Genetics* **19**, 458–64 (2011).
35. Hrdlickova, B. & Holla, L. I. Relationship between the 17q21 locus and adult asthma in a Czech population. *Human Immunology* **72**, 921–5 (2011).
36. Fang, Q., Zhao, H., Wang, A., Gong, Y. & Liu, Q. Association of genetic variants in chromosome 17q21 and adult-onset asthma in a Chinese Han population. *BMC Medical Genetics* **12**, 133 (2011).
37. Kavalari, M. S. *et al.* Association of ORMDL3, STAT6 and TBXA2R gene polymorphisms with asthma. *International Journal of Immunogenetics* **39**, 20–5 (2012).
38. Karunas, A. S. *et al.* [Genome-wide association study of bronchial asthma in the Volga-Ural region of Russia]. *Molekuliarnaiia Biologiia* **45**, 992–1003 (2011).
39. Sy, H. Y. *et al.* Asthma and bronchodilator responsiveness are associated with polymorphic markers of ARG1, CRHR2 and chromosome 17q21. *Pharmacogenetics and Genomics* **22**, 517–24 (2012).
40. Wan, Y. I. *et al.* Genome-wide association study to identify genetic determinants of severe asthma. *Thorax* **67**, 762–8 (2012).

41. Marinho, S., Custovic, A., Marsden, P., Smith, J. A. & Simpson, A. 17q12-21 variants are associated with asthma and interact with active smoking in an adult population from the United Kingdom. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology* **108**, 402–411.e9 (2012).
42. Berce, V., Kozmus, C. E. P. & Potočnik, U. Association among ORMDL3 gene expression, 17q21 polymorphism and response to treatment with inhaled corticosteroids in children with asthma. *The Pharmacogenomics Journal* **Sep 18**, (2012).
43. Yang, F. F., Huang, Y., Li, Q. B., Dai, J. H. & Fu, Z. Single nucleotide polymorphisms in the ORM1-like 3 gene associated with childhood asthma in a Chinese population. *Genetics and Molecular Research* **11**, (2012).
44. Lasky-Su, J. *et al.* HLA-DQ strikes again: Genome-wide association study further confirms HLA-DQ in the diagnosis of asthma among adults. *Clinical and Experimental Allergy* **42**, 1724–33 (2012).
45. Miller, M. *et al.* ORMDL3 is an inducible lung epithelial gene regulating metalloproteases, chemokines, OAS, and ATF6. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **109**, 16648–53 (2012).
46. Smit, L. A. M. *et al.* 17q21 variants modify the association between early respiratory infections and asthma. *The European Respiratory Journal* **36**, 57–64 (2010).
47. Kaser, A. & Blumberg, R. S. Autophagy, microbial sensing, endoplasmic reticulum stress, and epithelial function in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* **140**, 1738–1747.e2 (2011).
48. Roelants, F. M., Breslow, D. K., Muir, A., Weissman, J. S. & Thorner, J. Protein kinase Ypk1 phosphorylates regulatory proteins Orm1 and Orm2 to control sphingolipid homeostasis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **108**, 19222–7 (2011).
49. Siow, D. L. & Wattenberg, B. W. Mammalian ORMDL Proteins Mediate the Feedback Response in Ceramide Biosynthesis. *The Journal of Biological Chemistry* **287**, 1–13 (2012).
50. Jin, R. *et al.* Mechanisms elevating ORMDL3 expression in recurrent wheeze patients: Role of Ets-1, p300 and CREB. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* **44**, 1174–83 (2012).
51. Yang, Y. & Uhlig, S. The role of sphingolipids in respiratory disease. *Therapeutic Advances in Respiratory Disease* **5**, 325–44 (2011).
52. Uhlig, S. & Gulbins, E. Sphingolipids in the lungs. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* **178**, 1100–14 (2008).
53. Nixon, G. F. Sphingolipids in inflammation: pathological implications and potential therapeutic targets. *British Journal of Pharmacology* **158**, 982–93 (2009).
54. Zhang, Y., Moffatt, M. F. & Cookson, W. O. C. Genetic and genomic approaches to asthma: new insights for the origins. *Current Opinion in Pulmonary Medicine* 6–13 (2011).
55. Masini, E. *et al.* Ceramide: a key signaling molecule in a Guinea pig model of allergic asthmatic response and airway inflammation. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **324**, 548–57 (2008).
56. Van Blitterswijk, W. J., Van der Luit, A. H., Veldman, R. J., Verheij, M. & Borst, J. Ceramide: second messenger or modulator of membrane structure and dynamics? *The Biochemical Journal* **369**, 199–211 (2003).

57. Kitatani, K., Idkowiak-Baldys, J. & Hannun, Y. A. The sphingolipid salvage pathway in ceramide metabolism and signaling. *Cellular Signalling* **20**, 1010–8 (2008).
58. Bock, J., Liebisch, G., Schweimer, J., Schmitz, G. & Rogler, G. Exogenous sphingomyelinase causes impaired intestinal epithelial barrier function. *World Journal of Gastroenterology* **13**, 5217–25 (2007).
59. Han, S., Lone, M. a, Schneiter, R. & Chang, A. Orm1 and Orm2 are conserved endoplasmic reticulum membrane proteins regulating lipid homeostasis and protein quality control. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **107**, 5851–6 (2010).
60. Kaser, A. & Blumberg, R. S. Endoplasmic reticulum stress and intestinal inflammation. *Mucosal Immunology* **3**, 11–6 (2010).
61. Kohno, K. Stress-sensing mechanisms in the unfolded protein response: similarities and differences between yeast and mammals. *Journal of Biochemistry* **147**, 27–33 (2010).
62. Hotamisligil, G. S. & Erbay, E. Nutrient sensing and inflammation in metabolic diseases. *Nature Reviews Immunology* **8**, 923–34 (2008).
63. Yoshida, H. ER stress and diseases. *The FEBS Journal* **274**, 630–58 (2007).
64. Cyr, D. M. & Hebert, D. N. Protein quality control—linking the unfolded protein response to disease. Conference on “From Unfolded Proteins in the Endoplasmic Reticulum to Disease”. *EMBO reports* **10**, 1206–10 (2009).
65. Lisbona, F. *et al.* BAX inhibitor-1 is a negative regulator of the ER stress sensor IRE1 α . *Molecular Cell* **33**, 679–91 (2009).
66. Carreras-Sureda, A. *et al.* ORMDL3 modulates store-operated calcium entry and lymphocyte activation. *Human Molecular Genetics* **22**, 1–35 (2012).
67. Barrett, J. C. *et al.* Genome-wide association defines more than 30 distinct susceptibility loci for Crohn’s disease. *Nature Genetics* **40**, 955–62 (2008).
68. Kaser, A., Martínez-Naves, E. & Blumberg, R. S. Endoplasmic reticulum stress: implications for inflammatory bowel disease pathogenesis. *Current Opinion in Gastroenterology* **26**, 318–26 (2010).
69. Chen, J., Veras, M. M. S., Liu, C. & Lin, J. Methotrexate for ankylosing spondylitis. *Cochrane Database of Systematic Reviews* **2**, CD004524 (2013).
70. Robinson, P. C. & Brown, M. A. The genetics of ankylosing spondylitis and axial spondyloarthritis. *Rheumatic Diseases Clinics of North America* **38**, 539–53 (2012).
71. Kaser, A., Zeissig, S. & Blumberg, R. S. Inflammatory bowel disease. *Annual Review of Immunology* **28**, 573–621 (2010).
72. Frei, R., Lauener, R. P., Cramer, R. & O’Mahony, L. Microbiota and dietary interactions - an update to the hygiene hypothesis? *Allergy* **67**, 451–461 (2012).
73. Fava, F. & Danese, S. Intestinal microbiota in inflammatory bowel disease: friend of foe? *World Journal of Gastroenterology* **17**, 557–66 (2011).
74. Holgate, S. T. Epithelium dysfunction in asthma. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* **120**, 1233–44; quiz 1245–6 (2007).
75. Kuwano, K. Epithelial cell apoptosis and lung remodeling. *Cellular & Molecular Immunology* **4**, 419–29 (2007).
76. Fischbeck, A. *et al.* Sphingomyelin induces cathepsin D-mediated apoptosis in intestinal epithelial cells and increases inflammation in DSS colitis. *Gut* **60**, 55–65 (2011).
77. Gilmour, M. I., Jaakkola, M. S., London, S. J., Nel, A. E. & Rogers, C. a. How Exposure to Environmental Tobacco Smoke, Outdoor Air Pollutants, and

- Increased Pollen Burdens Influences the Incidence of Asthma. *Environmental Health Perspectives* **114**, 627–633 (2006).
78. Van der Heide, F. *et al.* Effects of active and passive smoking on disease course of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Inflammatory Bowel Diseases* **15**, 1199–207 (2009).
 79. Coppieters, K. T. *et al.* Demonstration of islet-autoreactive CD8 T cells in insulinitic lesions from recent onset and long-term type 1 diabetes patients. *The Journal of Experimental Medicine* **209**, 51–60 (2012).
 80. Vaarala, O., Atkinson, M. a & Neu, J. The “perfect storm” for type 1 diabetes: the complex interplay between intestinal microbiota, gut permeability, and mucosal immunity. *Diabetes* **57**, 2555–62 (2008).
 81. Almawi, W. Y., Tamim, H. & Azar, S. T. Clinical review 103: T helper type 1 and 2 cytokines mediate the onset and progression of type I (insulin-dependent) diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* **84**, 1497–502 (1999).
 82. Uibo, R., Kisand, K., Yang, C.-Y. & Gershwin, M. E. Primary biliary cirrhosis: a multi-faced interactive disease involving genetics, environment and the immune response. *Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica* **120**, 857–71 (2012).
 83. Selmi, C. & Gershwin, M. E. Bacteria and human autoimmunity: the case of primary biliary cirrhosis. *Current Opinion in Rheumatology* **16**, 406–10 (2004).
 84. Granlund, A. van B. *et al.* Whole Genome Gene Expression Meta-Analysis of Inflammatory Bowel Disease Colon Mucosa Demonstrates Lack of Major Differences between Crohn's Disease and Ulcerative Colitis. *PLoS ONE* **8**, e56818 (2013).
 85. Quarcoo, D. *et al.* Inhibition of signal transducer and activator of transcription 1 attenuates allergen-induced airway inflammation and hyperreactivity. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* **114**, 288–95 (2004).
 86. Kaplan, M. H., Schindler, U., Smiley, S. T. & Grusby, M. J. Stat6 is required for mediating responses to IL-4 and for development of Th2 cells. *Immunity* **4**, 313–9 (1996).
 87. Takeda, K. *et al.* Essential role of Stat6 in IL-4 signalling. *Nature* **380**, 627–30 (1996).
 88. Shimoda, K. *et al.* Lack of IL-4-induced Th2 response and IgE class switching in mice with disrupted Stat6 gene. *Nature* **380**, 630–3 (1996).
 89. Sampath, D., Castro, M., Look, D. C. & Holtzman, M. J. Constitutive activation of an epithelial signal transducer and activator of transcription (STAT) pathway in asthma. *The Journal of Clinical Investigation* **103**, 1353–61 (1999).
 90. Schumann, R. R. *et al.* The lipopolysaccharide-binding protein is a secretory class 1 acute-phase protein whose gene is transcriptionally activated by APRF/STAT3 and other cytokine-inducible nuclear proteins. *Molecular and Cellular Biology* **16**, 3490–503 (1996).
 91. Takeda, K. *et al.* Enhanced Th1 activity and development of chronic enterocolitis in mice devoid of Stat3 in macrophages and neutrophils. *Immunity* **10**, 39–49 (1999).
 92. Najjar, I. & Fagard, R. STAT1 and pathogens, not a friendly relationship. *Biochimie* **92**, 425–44 (2010).
 93. Litonjua, A. A. *et al.* Polymorphisms in signal transducer and activator of transcription 3 and lung function in asthma. *Respiratory Research* **6**, 52 (2005).

94. Tamura, K., Suzuki, M., Arakawa, H., Tokuyama, K. & Morikawa, A. Linkage and Association Studies of STAT6 Gene Polymorphisms and Allergic Diseases. *International Archives of Allergy and Immunology* **131**, 33–38 (2003).
95. Simeone-Penney, M. C. *et al.* Airway epithelial STAT3 is required for allergic inflammation in a murine model of asthma. *Journal of Immunology* **178**, 6191–9 (2007).
96. Goenka, S. & Kaplan, M. H. Transcriptional regulation by STAT6. *Immunologic Research* **50**, 87–96 (2011).
97. Tian, X.-R. *et al.* Inhibition of allergic airway inflammation by antisense-induced blockade of STAT6 expression. *Chinese Medical Journal* **124**, 26–31 (2011).
98. Pernis, A. B. & Rothman, P. B. JAK-STAT signaling in asthma. *The Journal of Clinical Investigation* **109**, 1279–83 (2002).
99. Agaisse, H. & Perrimon, N. The roles of JAK/STAT signaling in *Drosophila* immune responses. *Immunological reviews* **198**, 72–82 (2004).
100. Bach, E. A. *et al.* GFP reporters detect the activation of the *Drosophila* JAK/STAT pathway in vivo. *Gene Expression Patterns* **7**, 323–31 (2007).
101. Buchon, N., Broderick, N. a, Chakrabarti, S. & Lemaitre, B. Invasive and indigenous microbiota impact intestinal stem cell activity through multiple pathways in *Drosophila*. *Genes & Development* **23**, 2333–44 (2009).
102. Singh, S. R., Chen, X. & Hou, S. X. JAK/STAT signaling regulates tissue outgrowth and male germline stem cell fate in *Drosophila*. *Cell Research* **15**, 1–5 (2005).
103. Holgate, S. T. & Davies, D. E. Rethinking the pathogenesis of asthma. *Immunity* **31**, 362–7 (2009).
104. Holgate, S. T. *et al.* A new look at the pathogenesis of asthma. *Clinical Science* **118**, 439–50 (2010).
105. Holgate, S. T. The airway epithelium is central to the pathogenesis of asthma. *Allergology International* **57**, 1–10 (2008).
106. Lambrecht, B. N. & Hammad, H. The airway epithelium in asthma. *Nature Medicine* **18**, 684–92 (2012).
107. Al-Muhsen, S., Johnson, J. R. & Hamid, Q. Remodeling in asthma. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* **128**, 451–62; quiz 463–4 (2011).
108. Roth, H. M., Wadsworth, S. J., Kahn, M. & Knight, D. A. The airway epithelium in asthma: Developmental issues that scar the airways for life? *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics* 420–6 (2012).
109. Hammad, H. *et al.* House dust mite allergen induces asthma via Toll-like receptor 4 triggering of airway structural cells. *Nature Medicine* **15**, 410–6 (2009).
110. Knight, D. A. & Holgate, S. T. The airway epithelium: structural and functional properties in health and disease. *Respirology* **8**, 432–46 (2003).
111. Hackett, T.-L. & Knight, D. A. The role of epithelial injury and repair in the origins of asthma. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology* **7**, 63–8 (2007).
112. Proud, D. & Leigh, R. Epithelial cells and airway diseases. *Immunological reviews* **242**, 186–204 (2011).
113. Holgate, S. T. The sentinel role of the airway epithelium in asthma pathogenesis. *Immunological Reviews* **242**, 205–19 (2011).
114. Bier, E. *Drosophila*, the golden bug, emerges as a tool for human genetics. *Nature Reviews Genetics* **6**, 9–23 (2005).

115. Wagner, C., Isermann, K. & Roeder, T. Infection induces a survival program and local remodeling in the airway epithelium of the fly. *FASEB Journal* **23**, 2045–54 (2009).
116. Warmbold, C. *et al.* Dermatophagoides pteronyssinus Major Allergen 1 Activates the Innate Immune Response of the Fruit Fly *Drosophila melanogaster*. *Journal of Immunology* **190**, 366–71 (2013).
117. Kim, S. K. Common aging pathways in worms, flies, mice and humans. *The Journal of Experimental Biology* **210**, 1607–12 (2007).
118. Ashburner, M., Golic, K. G. & Hawley, R. S. *Drosophila: A Laboratory Handbook*. 1409 (Cold Spring Harbor Laboratory Press: 2004).
119. Mulcahy, H., Sibley, C. D., Surette, M. G. & Lewenza, S. *Drosophila melanogaster* as an animal model for the study of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm infections in vivo. *PLoS Pathogens* **7**, e1002299 (2011).
120. Brand, A. H. & Perrimon, N. Targeted gene expression as a means of altering cell fates and generating dominant phenotypes. *Development* **118**, 401–15 (1993).
121. Abdelsadik, A. Hypoxia induces processes related to inflammation and remodelling in the airways of the fruit fly *Drosophila melanogaster*. (2012).
122. Huang, D. W., Sherman, B. T. & Lempicki, R. A. Bioinformatics enrichment tools: paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists. *Nucleic Acids Research* **37**, 1–13 (2009).
123. Huang, D. W., Sherman, B. T. & Lempicki, R. A. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. *Nature Protocols* **4**, 44–57 (2009).
124. McGuire, S. E., Le, P. T., Osborn, A. J., Matsumoto, K. & Davis, R. L. Spatiotemporal rescue of memory dysfunction in *Drosophila*. *Science* **302**, 1765–8 (2003).
125. Bligh, E. G. & Dyer, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* **37**, 911–7 (1959).
126. Hübner, G., Crone, C. & Lindner, B. lipid--a software tool for automated assignment of lipids in mass spectra. *Journal of Mass Spectrometry* **44**, 1676–83 (2009).
127. Boxall, C., Holgate, S. T. & Davies, D. E. The contribution of transforming growth factor-beta and epidermal growth factor signalling to airway remodelling in chronic asthma. *The European Respiratory Journal* **27**, 208–29 (2006).
128. Ahmad, T. *et al.* Hypoxia response in asthma: differential modulation on inflammation and epithelial injury. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* **47**, 1–10 (2012).
129. Wingrove, J. A. & O'Farrell, P. H. Nitric oxide contributes to behavioral, cellular, and developmental responses to low oxygen in *Drosophila*. *Cell* **98**, 105–14 (1999).
130. Marsolais, D. & Rosen, H. Chemical modulators of sphingosine-1-phosphate receptors as barrier-oriented therapeutic molecules. *Nature Reviews Drug Discovery* **8**, 297–307 (2009).
131. Tepass, U., Tanentzapf, G., Ward, R. & Fehon, R. Epithelial cell polarity and cell junctions in *Drosophila*. *Annual Review of Genetics* **35**, 747–84 (2001).
132. Noirot-Timothee, C., Smith, D. S., Cayer, M. L. & Noirot, C. Septate junctions in insects: comparison between intercellular and intramembranous structures. *Tissue & Cell* **10**, 125–36 (1978).

133. Lee, K. S., Lee, H. K., Hayflick, J. S., Lee, Y. C. & Puri, K. D. Inhibition of phosphoinositide 3-kinase delta attenuates allergic airway inflammation and hyperresponsiveness in murine asthma model. *FASEB Journal* **20**, 455–65 (2006).
134. Grewal, S. S. Insulin/TOR signaling in growth and homeostasis: a view from the fly world. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* **41**, 1006–10 (2009).
135. Yee Koh, M., Spivak-Kroizman, T. R. & Powis, G. HIF-1 regulation: not so easy come, easy go. *Trends in Biochemical Sciences* **33**, 526–34 (2008).
136. Guertin, D. A., Guntur, K. V. P., Bell, G. W., Thoreen, C. C. & Sabatini, D. M. Functional genomics identifies TOR-regulated genes that control growth and division. *Current Biology* **16**, 958–70 (2006).
137. McGovern, D. P. B. *et al.* Genome-wide association identifies multiple ulcerative colitis susceptibility loci. *Nature Genetics* **42**, 332–7 (2010).
138. Schuske, K., Hooper, J. E. & Scott, M. P. patched overexpression causes loss of wingless expression in *Drosophila* embryos. *Developmental Biology* **164**, 300–11 (1994).
139. Cadigan, K. M., Fish, M. P., Rulifson, E. J. & Nusse, R. Wingless repression of *Drosophila* frizzled 2 expression shapes the Wingless morphogen gradient in the wing. *Cell* **93**, 767–77 (1998).
140. Zeng, Y. A. & Verheyen, E. M. Nemo is an inducible antagonist of Wingless signaling during *Drosophila* wing development. *Development* **131**, 2911–20 (2004).
141. Dale, T. C. Signal transduction by the Wnt family of ligands. *The Biochemical Journal* **329 (Pt 2)**, 209–23 (1998).
142. Babaoglan, A. B. *et al.* Sanpodo: a context-dependent activator and inhibitor of Notch signaling during asymmetric divisions. *Development* **136**, 4089–98 (2009).
143. Shalaby, N. A. *et al.* A screen for modifiers of notch signaling uncovers Amun, a protein with a critical role in sensory organ development. *Genetics* **182**, 1061–76 (2009).
144. Bland, C. E., Kimberly, P. & Rand, M. D. Notch-induced proteolysis and nuclear localization of the Delta ligand. *The Journal of Biological Chemistry* **278**, 13607–10 (2003).
145. Van Doren, M., Ellis, H. M. & Posakony, J. W. The *Drosophila* extramacrochaetae protein antagonizes sequence-specific DNA binding by daughterless/achaete-scute protein complexes. *Development* **113**, 245–55 (1991).
146. Miura, G. I. *et al.* Palmitoylation of the EGFR ligand Spitz by Rasp increases Spitz activity by restricting its diffusion. *Developmental Cell* **10**, 167–76 (2006).
147. Lamb, R. S., Ward, R. E., Schweizer, L. & Fehon, R. G. *Drosophila* coracle, a member of the protein 4.1 superfamily, has essential structural functions in the septate junctions and developmental functions in embryonic and adult epithelial cells. *Molecular Biology of the Cell* **9**, 3505–19 (1998).
148. Apidianakis, Y. & Rahme, L. G. *Drosophila melanogaster* as a model for human intestinal infection and pathology. *Disease Models & Mechanisms* **4**, 21–30 (2011).
149. Buchon, N., Broderick, N. A., Kuraishi, T. & Lemaitre, B. *Drosophila* EGFR pathway coordinates stem cell proliferation and gut remodeling following infection. *BMC Biology* **8**, 152 (2010).

150. Amcheslavsky, A., Jiang, J. & Ip, Y. T. Tissue damage-induced intestinal stem cell division in *Drosophila*. *Cell Stem Cell* **4**, 49–61 (2009).
151. Tang, H., Kambris, Z., Lemaitre, B. & Hashimoto, C. A serpin that regulates immune melanization in the respiratory system of *Drosophila*. *Developmental Cell* **15**, 617–26 (2008).
152. Rusten, T. E., Cantera, R., Kafatos, F. C. & Barrio, R. The role of TGF beta signaling in the formation of the dorsal nervous system is conserved between *Drosophila* and chordates. *Development* **129**, 3575–84 (2002).
153. Shrivage, B. V., Altmann, G., Technau, M. & Roth, S. The role of Dpp and its inhibitors during eggshell patterning in *Drosophila*. *Development (Cambridge, England)* **134**, 2261–71 (2007).
154. Liang, H.-L., Xu, M., Chuang, Y.-C. & Rushlow, C. Response to the BMP gradient requires highly combinatorial inputs from multiple patterning systems in the *Drosophila* embryo. *Development* **139**, 1956–64 (2012).
155. Sánchez, J. *et al.* *Drosophila* Sal and Salr are transcriptional repressors. *The Biochemical Journal* **438**, 437–45 (2011).
156. Schweitzer, K. S. *et al.* Mechanisms of lung endothelial barrier disruption induced by cigarette smoke: role of oxidative stress and ceramides. *American Journal of Physiology* **301**, L836–46 (2011).
157. Mattila, P., Joenväärä, S., Renkonen, J., Toppila-Salmi, S. & Renkonen, R. Allergy as an epithelial barrier disease. *Clinical and Translational Allergy* **1**, 5 (2011).
158. Crosby, L. M. & Waters, C. M. Epithelial repair mechanisms in the lung. *American Journal of Physiology* **298**, L715–31 (2010).
159. Burgel, P.-R. & Nadel, J. a Epidermal growth factor receptor-mediated innate immune responses and their roles in airway diseases. *The European Respiratory Journal* **32**, 1068–81 (2008).
160. Holgate, S. T., Roberts, G., Arshad, H. S., Howarth, P. H. & Davies, D. E. The role of the airway epithelium and its interaction with environmental factors in asthma pathogenesis. *Proceedings of the American Thoracic Society* **6**, 655–9 (2009).
161. Tessitore, A. *et al.* GM1-ganglioside-mediated activation of the unfolded protein response causes neuronal death in a neurodegenerative gangliosidosis. *Molecular Cell* **15**, 753–66 (2004).
162. Ramanadham, S. *et al.* Apoptosis of insulin-secreting cells induced by endoplasmic reticulum stress is amplified by overexpression of group VIA calcium-independent phospholipase A2 (iPLA2 beta) and suppressed by inhibition of iPLA2 beta. *Biochemistry* **43**, 918–30 (2004).
163. Hotamisligil, G. S. Endoplasmic reticulum stress and atherosclerosis. *Nature Medicine* **16**, 396–9 (2010).
164. Masamune, A. *et al.* Lysophosphatidylcholine induces apoptosis in AR42J cells. *Pancreas* **22**, 75–83 (2001).
165. Qiao, J. *et al.* Lysophosphatidylcholine impairs endothelial barrier function through the G protein-coupled receptor GPR4. *American Journal of Physiology* **291**, L91–101 (2006).
166. Ternes, P., Brouwers, J. F. H. M., Van den Dikkenberg, J. & Holthuis, J. C. M. Sphingomyelin synthase SMS2 displays dual activity as ceramide phosphoethanolamine synthase. *Journal of Lipid Research* **50**, 2270–7 (2009).
167. Ikeda, Y., Fukuoka, S. & Kito, M. Increase in lysophosphatidylethanolamine in the cell membrane upon the regulated exocytosis of pancreatic acinar AR42J cells. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* **61**, 207–9 (1997).

168. Sly, P. D. & Holt, P. G. Role of innate immunity in the development of allergy and asthma. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology* **11**, 127–31 (2011).
169. Chihara, T. & Hayashi, S. Control of tracheal tubulogenesis by Wingless signaling. *Development* **127**, 4433–42 (2000).
170. Bae, S. *et al.* Beta-catenin promoter polymorphism is associated with asthma risk in Korean subjects. *Clinical Biochemistry* **45**, 1187–91 (2012).
171. Sharma, S. *et al.* A role for Wnt signaling genes in the pathogenesis of impaired lung function in asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* **181**, 328–36 (2010).
172. Lee, K. S. *et al.* Phosphoinositide 3-kinase-delta inhibitor reduces vascular permeability in a murine model of asthma. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* **118**, 403–9 (2006).
173. Okamoto, R. *et al.* Requirement of Notch activation during regeneration of the intestinal epithelia. *American Journal of Physiology* **296**, G23–35 (2009).
174. Holgate, S. T. *et al.* Epithelial-mesenchymal interactions in the pathogenesis of asthma. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* **105**, 193–204 (2000).
175. Debarry, J. *et al.* Acinetobacter Iwoffii and Lactococcus lactis strains isolated from farm cowsheds possess strong allergy-protective properties. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* **119**, 1514–21 (2007).
176. Holgate, S. T. *et al.* Epithelial-mesenchymal communication in the pathogenesis of chronic asthma. *Proceedings of the American Thoracic Society* **1**, 93–8 (2004).
177. Holgate, S. T., Lackie, P. M., Davies, D. E., Roche, W. R. & Walls, a F. The bronchial epithelium as a key regulator of airway inflammation and remodelling in asthma. *Clinical and Experimental Allergy* **29 Suppl 2**, 90–5 (1999).
178. Szegezdi, E., Logue, S. E., Gorman, A. M. & Samali, A. Mediators of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *EMBO Reports* **7**, 880–5 (2006).
179. Park, J.-A., Drazen, J. M. & Tschumperlin, D. J. The chitinase-like protein YKL-40 is secreted by airway epithelial cells at base line and in response to compressive mechanical stress. *The Journal of Biological Chemistry* **285**, 29817–25 (2010).
180. Heijink, I. H., Postma, D. S., Noordhoek, J. a, Broekema, M. & Kapus, A. House dust mite-promoted epithelial-to-mesenchymal transition in human bronchial epithelium. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* **42**, 69–79 (2010).
181. Moore, K. A. & Hollien, J. The unfolded protein response in secretory cell function. *Annual Review of Genetics* **46**, 165–83 (2012).
182. Gregory, L. G. *et al.* Overexpression of Smad2 drives house dust mite-mediated airway remodeling and airway hyperresponsiveness via activin and IL-25. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* **182**, 143–54 (2010).
183. Maloy, K. J. & Powrie, F. Intestinal homeostasis and its breakdown in inflammatory bowel disease. *Nature* **474**, 298–306 (2011).
184. Kaser, A. *et al.* XBP1 links ER stress to intestinal inflammation and confers genetic risk for human inflammatory bowel disease. *Cell* **134**, 743–56 (2008).
185. Sotillos, S., Espinosa-Vázquez, J. M., Foglia, F., Hu, N. & Hombría, J. C.-G. An efficient approach to isolate STAT regulated enhancers uncovers STAT92E fundamental role in Drosophila tracheal development. *Developmental Biology* **340**, 571–82 (2010).

186. Xiao, C. *et al.* Defective epithelial barrier function in asthma. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* **128**, 549–56.e1–12 (2011).
187. Wang, S. Z. *et al.* Adhesion molecule expression on epithelial cells infected with respiratory syncytial virus. *The European Respiratory Journal* **15**, 358–66 (2000).
188. Hackett, T.-L. Epithelial-mesenchymal transition in the pathophysiology of airway remodelling in asthma. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology* **12**, 53–9 (2012).
189. Alcorn, J. F. *et al.* Transforming growth factor-beta1 suppresses airway hyperresponsiveness in allergic airway disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* **176**, 974–82 (2007).
190. Morin, P. J. Beta-catenin signaling and cancer. *BioEssays* **21**, 1021–30 (1999).
191. Logan, C. Y. & Nusse, R. The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* **20**, 781–810 (2004).
192. Lemaitre, B. & Hoffmann, J. The host defense of *Drosophila melanogaster*. *Annual Review of Immunology* **25**, 697–743 (2007).
193. Cookson, W. The immunogenetics of asthma and eczema: a new focus on the epithelium. *Nature Reviews Immunology* **4**, 978–88 (2004).
194. Kumar, R. K. *et al.* Responses of airway epithelium to environmental injury: role in the induction phase of childhood asthma. *Journal of Allergy* **2011**, 257017 (2011).
195. Fulda, S., Gorman, A. M., Hori, O. & Samali, A. Cellular stress responses: cell survival and cell death. *International Journal of Cell Biology* **2010**, 214074 (2010).
196. Kourtis, N. & Tavernarakis, N. Cellular stress response pathways and ageing: intricate molecular relationships. *The EMBO Journal* **30**, 2520–31 (2011).
197. Kyriakis, J. M. Making the connection: coupling of stress-activated ERK/MAPK (extracellular-signal-regulated kinase/mitogen-activated protein kinase) core signalling modules to extracellular stimuli and biological responses. *Biochemical Society Symposium* **64**, 29–48 (1999).
198. Tattersfield, A. E., Knox, A. J., Britton, J. R. & Hall, I. P. Asthma. *Lancet* **360**, 1313–22 (2002).
199. Shifren, A., Witt, C., Christie, C. & Castro, M. Mechanisms of remodeling in asthmatic airways. *Journal of Allergy* **2012**, 316049 (2012).

8 Abkürzungsverzeichnis

<i>ac</i>	<i>achaete</i>
AJ	<i>Adherens Junction</i>
AP-1	<i>jun proto-oncogene</i>
<i>ash2</i>	<i>absent, small, or homeotic discs 2</i>
ATF6	<i>activating transcription factor 6</i>
ATP	Adenosintriphosphat
BAL	bronchoalveoläre Lavage
BiP	<i>heat shock 70kDa protein 5</i>
CCL20	CC-Chemokin-Ligand 20
cDNA	komplementäre Desoxyribonukleinsäure
Cer	Ceramid
Cer-PE	Ceramid-Phosphoethanolamin
<i>cora</i>	<i>Coracle</i>
CTP	Cytidintriphosphat
<i>dad</i>	<i>daughters against dpp</i>
DAG	Diacylglycerol
DAPI	4',6-Diamidin-2-phenylindol
DC	Dendritische Zelle
DDC	Dopa-Decarboxylase
DHPR	Dihydropteridin-Reduktase
<i>dl</i>	<i>delta</i>
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxynukleosidtriphosphat
DSS	Natrium-Dextransulfat
dTOR	<i>Drosophila target of rapamycin</i>
ECM	Extrazelluläre Matrix
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EGF	<i>epidermal growth factor</i>
EGFR	<i>epidermal growth factor receptor</i>
<i>en</i>	<i>engrailed</i>
ER	Endoplasmatisches Retikulum
ERAD	ER-assoziierte Degradierung
ERK	<i>extracellular signal-regulated kinase</i>
eIF2 α	<i>Eukaryotic Initiation Factor 2α</i>
FA	Fettsäure
<i>fz</i>	<i>frizzled</i>
FZB	Forschungszentrum Borstel
GM-CSF	<i>granulocyte-macrophage colony-stimulating factor</i>
GSDML	<i>gasdermin-like</i>
GTP	Guanosintriphosphat
GWAS	genomweite Assoziationsstudie
H ₂ O	Wasser
HAI	<i>Hemiadherens Junction</i>
HEK	<i>Human Embryonic Kidney</i>
HexCer	Hexa-Ceramid
<i>hsc3</i>	<i>heat shock protein cognate 3</i>
IBD	chronisch-entzündliche Darmerkrankung
Ig	Immunglobulin

IL	Interleukin
<i>inos</i>	<i>myo-inositol-1-phosphate-synthase</i>
IRE1	<i>inositol-requiring enzyme-1</i>
JAK	Januskinase
JNK	<i>c-Jun N-terminal kinase</i>
KCl	Kaliumchlorid
KH ₂ PO ₄	Kaliumdihydrogenphosphat
LPC	Lysophosphatidylcholin
LPE	Lysophosphatidylethanolamin
MAPK	Mitogen-aktivierte Proteinkinase
MHC	Haupthistokompatibilitätskomplex
MP1	<i>melanization protease 1</i>
MP2	<i>melanization protease 2</i>
Na ₂ HPO ₄	Dinatriumhydrogenphosphat
NaCl	Natriumchlorid
NaH ₂ PO ₄	Natriumdihydrogenphosphat
NaHCO ₃	Natriumhydrogencarbonat
NF-κB	<i>nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells</i>
NGS	normales Ziegenserum
NHLF	<i>Normal Human Bronchial Epithelial</i>
NP-HPLC-MS	<i>Normal-Phase High Performance Liquid Chromatography Mass Spectrometry</i>
<i>ORMDL</i>	<i>orosomucoid1-like</i>
PC	Phosphatidylcholin
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PE	Phosphatidylethanolamin
PERK	<i>eukaryotic translation initiation factor 2-alpha kinase 3</i>
PFA	Paraformaldehyd
Pfu	<i>Pyrococcus furiosus</i>
PG	Phosphatidylglycerol
PI	Phosphatidylinositol
PI3K	Phosphoinositid-3-Kinase
<i>pnr</i>	<i>pannier</i>
pPC	Phosphatidylcholin-Plasmalogen
pPE	Phosphatidylethanolamin-Plasmalogen
PPO	Porphenoloxidase
PS	Phosphatidylserin
qRT-PCR	Quantitative <i>Real-Time</i> -Polymerase-Kettenreaktion
RNA	Ribonukleinsäure
ROS	reaktive Sauerstoffspezies
S1P	Sphingosin-1-phosphat
SAJ	<i>Spot Adherens Junction</i>
<i>salm</i>	<i>spalt major</i>
SJ	<i>Septate Junction</i>
SM	Sphingomyelin
SNP	Einzelnukleotid-Polymorphismus
SP10	<i>serine protease 10</i>
SPE	<i>spätzle processing enzyme</i>
<i>spi</i>	<i>spitz</i>
STAT	<i>signal transducer and activator of transcription</i>

TAG	Triacylglycerol
TER	transepithelialer Widerstand
TGF	<i>transforming growth factor</i>
T _H	T-Helfer
TJ	<i>Tight Junction</i>
tRNA	Transfer-Ribonukleinsäure
TSLP	<i>thymic stromal lymphopoietin</i>
UAS	<i>Upstream Activation Sequence</i>
UPD	Unpaired
UPR	<i>Unfolded Protein Response</i>
UTP	Uridintriphosphat
<i>xbp1</i>	<i>x-box binding protein 1</i>
ZA	<i>Zonula Adherens</i>
ZO-1	<i>Zonula Occludens-1</i>

Einheiten und Präfixe wurden gemäß dem Internationalen Einheitensystem (SI) vergeben. Des Weiteren wurden die Elementsymbole des Periodensystems nach IUPAC verwendet.

9 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Die zellulären Mechanismen der allergischen Sensibilisierung.....	2
Abbildung 2: Die Anatomie asthmatischer Atemwege	4
Abbildung 3: Die <i>Unfolded Protein Response</i>	8
Abbildung 4: Der JAK/STAT-Signalweg bei <i>Drosophila melanogaster</i>	12
Abbildung 5: Versuchsaufbau zur Behandlung der Fliegen mit Zigarettenrauch	28
Abbildung 6: <i>Ormdl</i> -Überexpression in den adulten Tracheen verstärkt die Morbidität infolge von Zigarettenrauch.....	37
Abbildung 7: <i>Ormdl</i> -Überexpression in den larvalen Tracheen verstärkt die Hypoxie- Antwort.....	38
Abbildung 8: <i>Ormdl</i> -Überexpression hat keinen Einfluss auf die Struktur der <i>Septate Junctions</i>	39
Abbildung 9: Funktionelle Zusammenfassung der Gen-Ontologie-Funktionsklassen mit Anreicherung von assoziierten Genen durch <i>ormdl</i> -Deregulierung bei der Hypoxie-Antwort in den Tracheen	40
Abbildung 10: Modulation der UPR und des dTOR/PI3K-Signalweges bei der Hypoxie-Antwort durch <i>ormdl</i> -Überexpression.....	41
Abbildung 11: <i>Ormdl</i> -Überexpression moduliert die Lipid-Abundanz in den larvalen Tracheen	43
Abbildung 12: Funktionelle Zusammenfassung der Gen-Ontologie-Funktionsklassen mit Anreicherung von assoziierten Genen durch <i>ormdl</i> -Deregulierung in den Tracheen	45
Abbildung 13: Modulation des Wnt-Signalweges durch <i>ormdl</i> -Deregulierung in den Tracheen	47
Abbildung 14: Modulation des Notch-Signalweges durch <i>ormdl</i> -Deregulierung in den Tracheen	48
Abbildung 15: Modulation des EGFR-Signalweges durch <i>ormdl</i> -Deregulierung in den Tracheen	49
Abbildung 16: Modulation des dTOR/PI3K/Akt-Signalweges durch <i>ormdl</i> - Deregulierung in den Tracheen.....	50
Abbildung 17: <i>Ormdl</i> -Überexpression erhöht die Morbidität infolge der Aufnahme von DSS.....	52

Abbildung 18: Funktionelle Zusammenfassung der Gen-Ontologie-Funktionsklassen mit Anreicherung von assoziierten Genen durch <i>ormdl</i> -Deregulierung im Darm	53
Abbildung 19: Modulation der Notch- und EGFR-Signalwege durch <i>ormdl</i> -Deregulierung im Darm – regulierte und mit den Signalwegen assoziierte Gene	54
Abbildung 20: Modulation der Notch- und EGFR-Signalwege durch <i>ormdl</i> -Deregulierung im Darm - Analyse der Expression von Zielgenen	55
Abbildung 21: Modulation der UPR durch <i>ormdl</i> -Deregulierung im Darm	56
Abbildung 22: <i>Ormdl</i> -Überexpression reduziert die Lysophosphatidylcholin-Abundanz im Darm	57
Abbildung 23: <i>Ormdl</i> -Überexpression modifiziert die Abundanz verschiedener Lipide im larvalen Darm	58
Abbildung 24: Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges in den larvalen Tracheen induziert eine Barrierestörung und Melanisierung	60
Abbildung 25: Die Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges hat keinen Einfluss auf die <i>Septate-Junction</i> -Struktur der Tracheen	61
Abbildung 26: Funktionelle Zusammenfassung der Gen-Ontologie-Funktionsklassen mit Anreicherung von assoziierten Genen durch JAK/STAT-Aktivierung in den Tracheen	62
Abbildung 27: Modulation der Wnt- und TGF- β -Signalwege durch JAK/STAT-Aktivierung - regulierte und mit den Signalwegen assoziierte Gene	63
Abbildung 28: Modulation der Wnt- und TGF- β -Signalwege durch JAK/STAT-Aktivierung - Analyse der Expression von Zielgenen	64
Abbildung 29: JAK/STAT-Aktivierung induziert keine Translokation des Wnt-Transkriptionsfaktors Armadillo in den Zellkern.....	65
Abbildung 30: Deregulierung des Wnt-Signalwegs induziert eine Barrierestörung und Melanisierung in den Tracheen	66
Abbildung 31: Die Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges hat keinen Einfluss auf die Genexpression von Enzymen der Melanisierungskaskade	68
Abbildung 32: Modell zur Rolle des asthmatischen Epithels bei der Asthma-Pathogenese	83

10 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Gemeinsamkeiten und Unterschiede der mit <i>ORMDL3</i> -Polymorphismen assoziierten Krankheiten Asthma und Morbus Crohn	10
Tabelle 2: Funktionelle Eigenschaften des asthmatischen Epithels im Vergleich zu der Modulation von Homologen der Asthma-Suszeptibilitätsgene bei <i>Drosophila</i>	81

11 Curriculum vitae

Name: Kimberley Kallsen
Anschrift: Preetzer Chaussee 77
24222 Schwentimental
Geburtsdatum: 15. März 1983
Geburtsort: Eckernförde

Bildung

seit 12/2009 Dissertation am Forschungszentrum Borstel, Leibniz-Zentrum für Medizin und Biowissenschaften

01/2009-11/2009 Diplomarbeit am Forschungszentrum Borstel, Leibniz-Zentrum für Medizin und Biowissenschaften
Titel: Molekulare Mechanismen der Defensin-Gen-Expression
Note: mit Auszeichnung bestanden

10/2004-01/2010 Studium der Biologie an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

1993-2003 Hans-Geiger-Gymnasium Kiel

1989-1993 Gorch-Fock-Grundschule Kiel

Preise

Posterpreis - wissenschaftlicher Beirat des Forschungszentrums Borstel, 2012

Posterpreis - Symposium "Remodeling, Repair and Regeneration on Lung Diseases" in Marburg, 2012

Diplompreis - Verein zur Erforschung infektiologischer und allergischer Prozesse e.V. (VEIAP), 2010

Publikationen

- Roeder, T., Isermann, K., Kallsen, K., Uliczka, K. & Wagner, C. A *Drosophila* asthma model - what the fly tells us about inflammatory diseases of the lung. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 710, 37–47 (2012).
- Kallsen, K., Andresen, E. & Heine, H. Histone Deacetylase (HDAC) 1 Controls the Expression of Beta Defensin 1 in Human Lung Epithelial Cells. *PLoS ONE* 7, e50000 (2012).
- Roeder, T., Kallsen, K. & Uliczka, K. *Drosophila* als Modell in der Asthma-Forschung. *BIOspektrum* 17, 302–305 (2011).

ausgewählte Beiträge zu Kongressen, Symposia und Retreats

- | | |
|----------------|---|
| Februar 2013 | Keystone-Symposium "The Gut Microbiome: The Effector/Regulatory Immune Network", Taos, New Mexico, USA
Poster: ORMDL dysregulation leads to an abnormal intestinal epithelium and impacts on the microbial community in <i>Drosophila melanogaster</i> |
| September 2012 | 3 rd European Congress of Immunology, Glasgow, Schottland
Poster: Ectopic activation of the JAK/STAT pathway leads to loss of barrier function in <i>Drosophila melanogaster</i> airways |
| Juni 2012 | Symposium Remodeling, Repair and Regeneration in Lung Diseases, Marburg
Poster: Analysis of the relevance of the Asthma susceptibility gene <i>ORMDL3</i> using the model organism <i>Drosophila melanogaster</i> |
| März 2012 | Doktorandenretreat des SFB/Transregio 22, Angerer Alm, Österreich
Vortrag: Characterization of asthma susceptibility genes in <i>Drosophila melanogaster</i> |
| März 2011 | 52 nd Annual <i>Drosophila</i> Research Conference, San Diego, USA
Poster: Analysis of the relevance of the Asthma susceptibility gene <i>ORMDL3</i> using the model organism <i>Drosophila melanogaster</i> |
| Januar 2011 | Doktorandenretreat des SFB/Transregio 22, Angerer Alm, Österreich
Vortrag: Analysis of the relevance of the Asthma susceptibility gene <i>ORMDL3</i> using the model organism <i>Drosophila melanogaster</i> |

- Oktober 2010 Retreat der Borstel Biomedical Research School,
Ammersbek
Vortrag: Analysis of the relevance of the Asthma
susceptibility gene *ORMDL3* using the model organism
Drosophila melanogaster
- Oktober 2010 2nd Autumn School “Current Concepts in Immunology”,
Bad Schandau
Vortrag: Analysis of the relevance of Asthma susceptibility
genes using the model organism *Drosophila melanogaster*

12 Danksagung

Mein Dank gilt an erster Stelle meinen Betreuern **Prof. Dr. Thomas Roeder** und **Prof. Dr. Holger Heine** für die Bereitstellung des Themas, die Förderung dieser Arbeit und die herausragende Betreuung. Vielen Dank für die wertvollen und hilfreichen Ratschläge und das von euch entgegengebrachte Vertrauen. Einen besonderen Dank auch für eure stets freundliche und humorvolle Art, durch die ich mich immer gut aufgehoben gefühlt habe, so dass mir die Zusammenarbeit viel Spaß gemacht hat.

Eine unentbehrliche Hilfe im Labor waren **Celia Chang**, **Ina Goroncy** und **Verena Conson**. Ihr habt mir mit vorausschauender Hilfsbereitschaft und großer Kompetenz so manche Arbeit im Labor erleichtert. Hierfür bin ich euch sehr dankbar.

Bei **Dr. Christine Fink** möchte ich mich für ihre Diskussionsbereitschaft und die unzähligen Anregungen bedanken. Durch dein enormes Fachwissen und deine stets freundliche und geduldige Art warst du ein unentbehrlicher Ansprechpartner bei vielen Herausforderungen im Labor. Danke!

Auch den weiteren aktuellen und ehemaligen Mitarbeitern der Forschungsgruppe „Angeborene Immunität“, **André Jenckel**, **Anna Störmer**, **Christine Fahrenkrog**, **Dr. Christine Warmbold**, **Dr. Erwin Duitman**, **Jenni Ratten**, **Prof. Dr. Jochen Ulmer**, **Dr. Karin Uliczka**, **Dr. Karina Stein**, **Dr. Katja Farhat**, **Katrin Böhnstedt**, **Dr. Kristina Röschmann**, **Dr. Sabine Rieckenberg**, **Suhad Al-Badri** und **Dr. Thomas Scholzen** möchte ich für das großartige Arbeitsklima, die zahlreichen Diskussionen und Anregungen und die stets kooperative und nette Zusammenarbeit danken.

Bei **Dr. Thomas Scholzen** möchte ich mich zusätzlich für die Einweisung in das Konfokale Laserscanmikroskop und seine Unterstützung am Gerät bedanken.

PD Dr. Buko Lindner und **Nicole Zehethofer** danke ich für die Durchführung und die Auswertung der Massenspektrometrie-Experimente.

Ein großes Dankeschön geht auch an **Julia Hoffmann, Dr. Kerstin Isermann,** und **Dr. Renja Romey,** die mir bei meiner Arbeit in Kiel stets hilfreich zur Seite standen.

Vielen Dank an **Anne Claes** für die nette und humorvolle Gesellschaft beim Schreiben, für das Ablenken und Mitdenken.

Corinna Bang möchte ich für ihre Unterstützung in jeder Hinsicht danken, hier insbesondere für das stete Interesse an meiner Arbeit, das konstruktive Mitdenken und die gemeinsame Zeit im Labor.

Kjell Aewerdieck; vielen Dank dafür, dass du immer zugehört hast und für mich da warst. Deine Unterstützung, dein Verständnis und deine Aufmunterungen sind Alles für mich.

Meiner Familie, **Dr. Birgit Pabst, Hans Kallsen** und **Yannik Kallsen,** danke ich dafür, dass sie mich immer bedingungslos unterstützen und mir stets den Rücken stärken.

Für die inspirierende und lehrreiche Zeit während meiner Promotion an alle Beteiligten ein herzliches

Danke!

13 Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass die vorliegende Abhandlung, abgesehen von der Beratung durch die Betreuer, in Inhalt und Form selbständig von mir angefertigt wurde. Hierbei wurden ausschließlich die benannten Hilfsmittel und Quellen verwendet. Wörtlich oder sinngemäß übernommenes Gedankengut wurde als solches kenntlich gemacht.

Teile dieser Arbeit wurden im Rahmen des Prüfungsverfahrens von Nicole Zehethofer an der Universität Lübeck vorgelegt.

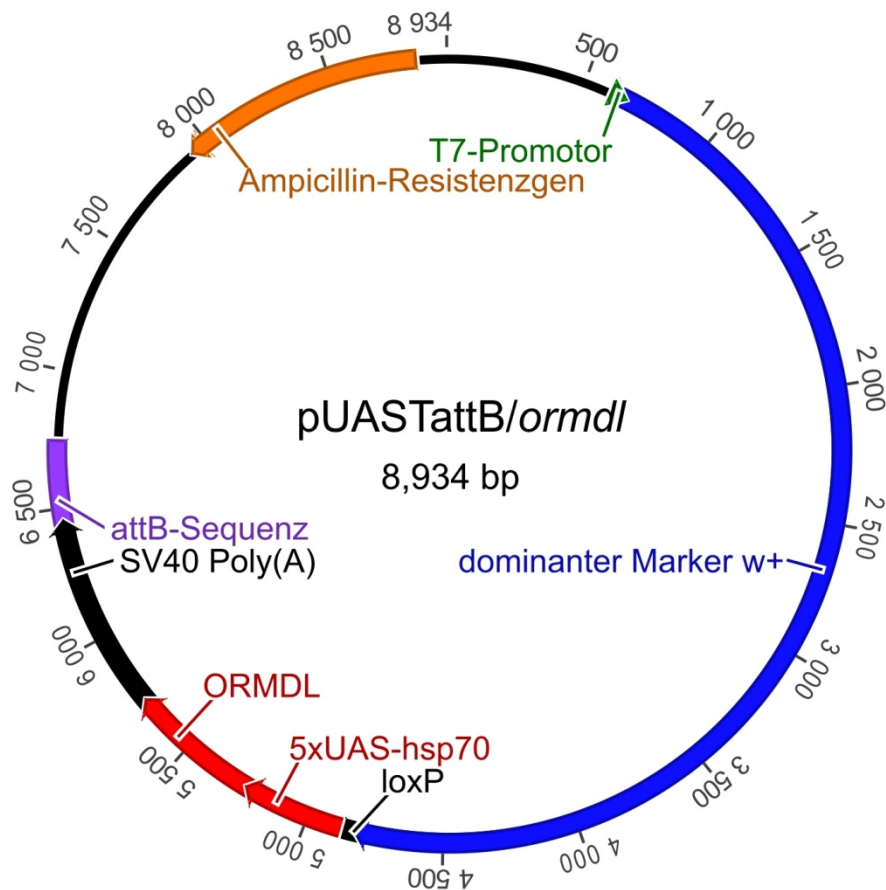
Diese Arbeit ist unter Einhaltung der Regeln guter wissenschaftlicher Praxis der Deutschen Forschungsgemeinschaft entstanden.

Ort, Datum

Unterschrift

14 Anhang

I. Plasmidkarte des pUASTattB/ORMDL-Vektors



Im Folgenden werden die Resultate der Mikroarray-Analysen tabellarisch aufgeführt.

II. PPK4-Gal4xw¹¹¹⁸, Hypoxie-behandelt/PPK4-Gal4xUAS-ORMDL, Hypoxie-behandelt

Gen-ID	Gen-Symbol	relative Expression
CG4187	CG34411	80.8
CG10295	Pak	17.8
CG8494	CG8494	16.3
CG3265	Eb1	14.9
CG40130	CG40130	13.4
CG12918	sel	12.3
CG30493	CG30493	12.1
CG4785	CG4785	10.0
CG5709	ari-2	9.9
CG9032	sun	9.5
CG30059	CG30059	9.4

CG17970	Cyp4ac2	8.2
CG5125	ninaC	8.2
CG7659	tap	8.0
CG9381	mura	7.9
CG3187	Sirt4	7.7
CG7362	CG7362	7.7
CG10211	CG10211	7.7
CG4692	CG4692	7.6
CG8963	CG8963	7.6
CG17648	CG17648	7.4
CG1506	Ac3	7.2
CG5567	CG5567	7.2
CG30121	CR30121	7.1

CG6416	<i>Zasp66</i>	6.7	CG7879	<i>CG7879</i>	3.6
CG3119	<i>CG3119</i>	6.7	CG8472	<i>Cam</i>	3.5
CG31828	<i>CG31828</i>	6.5	CG3359	<i>mfas</i>	3.5
CG12610	<i>CG32547</i>	6.5	CG4084	<i>l(2)not</i>	3.5
CG5116	<i>CG5116</i>	6.5	CG9536	<i>CG9536</i>	3.5
CG1998	<i>CG1998</i>	6.2	CG18177	<i>Naa60</i>	3.5
CG17245	<i>plexB</i>	6.1	CG5683	<i>Aef1</i>	3.5
CG5185	<i>Tom</i>	6.0	CG2540	<i>CG2540</i>	3.4
CG5433	<i>Klc</i>	5.8	CG9878	<i>Tim10</i>	3.4
CG10119	<i>LamC</i>	5.6	CG12279	<i>CG12279</i>	3.4
CG5652	<i>drd</i>	5.5	CG11151	<i>CG11151</i>	3.3
CG31117	<i>CG31117</i>	5.5	CG32030	<i>Fhos</i>	3.3
CG9000	<i>ste24a</i>	5.4	CG9097	<i>bab1</i>	3.3
CG8722	<i>Nup44A</i>	5.3	CG32343	<i>Atac3</i>	3.3
CG1774	<i>CG1774</i>	5.2	CG31517	<i>CG31517</i>	3.2
CG7875	<i>trp</i>	5.2	CG17947	<i>alpha-Cat</i>	3.2
CG6680	<i>Spn77Ba</i>	5.0	CG15863	<i>CG15863</i>	3.2
CG17437	<i>wds</i>	5.0	CG8886	<i>l(2)05714</i>	3.2
CG2926	<i>CG2926</i>	5.0	CG8485	<i>CG8485</i>	3.1
CG4623	<i>CG4623</i>	5.0	CG6847	<i>CG6847</i>	3.1
CG9060	<i>Zpr1</i>	4.9	CG33070	<i>Sxl</i>	3.1
CG2469	<i>CG2469</i>	4.8	CG8449	<i>CG8449</i>	3.1
CG31955	<i>CG31955</i>	4.7	CG17697	<i>fz</i>	3.1
CG10084	<i>swm</i>	4.7	CR31696	<i>pncr003:2L</i>	3.0
CG5099	<i>msi</i>	4.6	CG3136	<i>Atf6</i>	3.0
CG7910	<i>CG7910</i>	4.6	CG3315	<i>TrxT</i>	3.0
CG30503	<i>CG30503</i>	4.6	CG1648	<i>CG1648</i>	3.0
CG33227	<i>CG34370</i>	4.5	CG9992	<i>CG9992</i>	3.0
CG16834	<i>lectin-33A</i>	4.5	CR32658	<i>CR32658</i>	2.9
CG7967	<i>CG7967</i>	4.4	CG8367	<i>cg</i>	2.9
CG33202	<i>dpr11</i>	4.4	CR31400	<i>Hsromega</i>	2.9
CG5938	<i>CG5938</i>	4.4	CG9415	<i>Xbp1</i>	2.9
CG11840	<i>Spp</i>	4.3	CG9453	<i>Spn42Da</i>	2.9
CG32718	<i>CG32718</i>	4.2	CG8321	<i>CG8321</i>	2.9
CG4122	<i>svr</i>	4.2	CG31122	<i>CG31122</i>	2.9
CG17612	<i>CG17612</i>	4.2	CG6451	<i>blue</i>	2.8
CG8135	<i>CG8135</i>	4.1	CG6901	<i>CG6901</i>	2.8
CG1685	<i>pen</i>	4.1	CR32862	<i>snRNA:U1:82Eb</i>	2.8
CG9805	<i>eIF3-S10</i>	4.1	CR33465	<i>CG33465</i>	2.8
CG5656	<i>CG5656</i>	4.1	CG15707	<i>krimp</i>	2.8
CG30376	<i>CG30376</i>	4.1	CG3367	<i>CG42340</i>	2.8
CG17949	<i>His2B:CG17949</i>	4.0	CG9998	<i>U2af50</i>	2.8
CG10092	<i>CG10092</i>	4.0	CG1799	<i>ras</i>	2.8
CG8256	<i>Gpo-1</i>	4.0	CG6236	<i>CG6236</i>	2.7
CG8431	<i>Aats-cys</i>	4.0	CG10175	<i>CG10175</i>	2.7
CG31548	<i>CG31548</i>	3.9	CG31012	<i>cindr</i>	2.7
CG8602	<i>CG8602</i>	3.9	CG3198	<i>CG3198</i>	2.7
CG3705	<i>aay</i>	3.9	CG33200	<i>ventrally-expressed-protein-D</i>	2.7
CG1244	<i>MEP-1</i>	3.8	CG8032	<i>CG8032</i>	2.7
CG10230	<i>Rpn9</i>	3.8	CG13348	<i>Aats-phe</i>	2.7
CG33245	<i>Ste:CG33245</i>	3.8	CG33188	<i>CG43674</i>	2.7
CG13732	<i>qjt</i>	3.7	CG14949	<i>CG14949</i>	2.6
CG18404	<i>CG18404</i>	3.7	CR41110	<i>fog</i>	2.6
CG5986	<i>CG5986</i>	3.7	CG40002	<i>CG40002</i>	2.6
CG12177	<i>CG12177</i>	3.6			

CG32089	<i>Vha16-2</i>	2.6	CG5399	<i>CG5399</i>	2.1
CG13691	<i>BBS8</i>	2.6	CG8651	<i>trx</i>	2.1
CG11326	<i>Tsp</i>	2.6	CG7212	<i>cdm</i>	2.1
CG8771	<i>CG8771</i>	2.6	CG12796	<i>CG12796</i>	2.1
CG14955	<i>CG14955</i>	2.6	CG14191	<i>CG14191</i>	2.1
CG4889	<i>wg</i>	2.6	CG32401	<i>Or65a</i>	2.1
CG5608	<i>CG5608</i>	2.6	CG12323	<i>Prosbeta5</i>	2.1
CG9517	<i>CG9517</i>	2.6	CG5345	<i>Eip55E</i>	2.1
CG18096	<i>Tep1</i>	2.5	CG9042	<i>Gpdh</i>	2.1
CG14343	<i>CG42329</i>	2.5	CG8422	<i>Dh44-R1</i>	2.1
CG9297	<i>CG9297</i>	2.5	CG6605	<i>BicD</i>	2.1
CG16721	<i>CG16721</i>	2.5	CG8229	<i>CG8229</i>	2.1
CG18617	<i>Vha100-2</i>	2.5	CG2488	<i>phr6-4</i>	2.1
CG7779	<i>Cng</i>	2.5	CG9325	<i>hts</i>	2.1
CG13716	<i>CG13716</i>	2.5	CG6707	<i>CG6707</i>	2.1
CG3902	<i>CG3902</i>	2.5	CG13186	<i>CG13186</i>	2.1
CG9245	<i>Pis</i>	2.5	CG7573	<i>CG7573</i>	2.0
CG7753	<i>mei-W68</i>	2.4	CG10626	<i>Lkr</i>	2.0
CG8031	<i>CG8031</i>	2.4	CG12655	<i>CG12655</i>	2.0
CG16840	<i>Art8</i>	2.4	CG12800	<i>Cyp6d4</i>	2.0
CG16833	<i>CG16833</i>	2.4	CG7236	<i>CG7236</i>	2.0
CG6721	<i>Gap1</i>	2.4	CG3621	<i>CG3621</i>	2.0
CG5279	<i>Rh5</i>	2.4	CG6417	<i>Oatp33Eb</i>	2.0
CG14131	<i>CG14131</i>	2.4	CG4978	<i>Mcm7</i>	2.0
CG14032	<i>Cyp4ac1</i>	2.4	CG13131	<i>CG13131</i>	2.0
CG13925	<i>Dbx</i>	2.4	CG7177	<i>Wnk</i>	2.0
CG33348	<i>CheB42a</i>	2.4	CG10863	<i>CG10863</i>	2.0
CG4446	<i>CG34455</i>	2.4	CG7973	<i>CG33986</i>	2.0
CG5227	<i>sdk</i>	2.3	CG3889	<i>CSN1b</i>	2.0
CG5441	<i>tx</i>	2.3	CG10738	<i>CG10738</i>	2.0
CG1499	<i>nyo</i>	2.3	CG5741	<i>orb2</i>	2.0
CG15550	<i>CG15550</i>	2.3	CG10504	<i>Ilk</i>	2.0
CG15375	<i>CG15375</i>	2.3	CG13054	<i>CG13054</i>	1.9
CG14945	<i>CG14945</i>	2.3	CG9272	<i>CG9272</i>	1.9
CG5915	<i>Rab7</i>	2.3	CG4849	<i>CG4849</i>	1.9
CG9127	<i>ade2</i>	2.3	CG4593	<i>CG4593</i>	1.9
CG1658	<i>Doa</i>	2.3	CG13169	<i>CG43316</i>	1.9
CG6856	<i>dysb</i>	2.3	CG4909	<i>POSH</i>	1.9
CG1890	<i>CG1890</i>	2.2	CG8725	<i>CSN4</i>	1.9
CG3541	<i>pio</i>	2.2	CG12026	<i>Tmhs</i>	1.9
CG16935	<i>CG16935</i>	2.2	CG4547	<i>Atx-1</i>	1.9
CG8312	<i>CG8312</i>	2.2	CG7049	<i>CG7049</i>	1.9
CG6933	<i>CG6933</i>	2.2	CG6794	<i>Dif</i>	1.9
CG8207	<i>CG8207</i>	2.2	CG2675	<i>Csat</i>	1.9
CG6038	<i>crim</i>	2.2	CG8023	<i>eIF4E-3</i>	1.9
CG1877	<i>lin19</i>	2.2	CG3441	<i>Nplp1</i>	1.9
CG1252	<i>Ccp84Ab</i>	2.2	CG4691	<i>CG4691</i>	1.9
CG12755	<i>l(3)mbn</i>	2.2	CG18540	<i>CG18540</i>	1.9
CG33218	<i>CR33218</i>	2.2	CG17735	<i>ctrip</i>	1.9
CG40500	<i>CG42346</i>	2.2	CG5952	<i>Fer2</i>	1.9
CG5245	<i>CG5245</i>	2.2	CG6289	<i>Spn77Bc</i>	1.9
CG32164	<i>CG32164</i>	2.2	CG32940	<i>Pif1B</i>	1.9
CG7320	<i>CG7320</i>	2.1	CG13530	<i>CG42260</i>	1.8
CG33338	<i>p38c</i>	2.1	CG13359	<i>CG13359</i>	1.8
CG9377	<i>CG9377</i>	2.1	CG8735	<i>CG8735</i>	1.8

CG7974	<i>CG7974</i>	1.8
CG32552	<i>CG32552</i>	1.8
CG8005	<i>CG8005</i>	1.8
CG6379	<i>CG6379</i>	1.8
CG18554	<i>Octbeta3R</i>	1.8
CG15267	<i>dao</i>	1.8
CG1126	<i>CG1126</i>	1.8
CG3955	<i>CG3955</i>	1.8
CG1692	<i>mal</i>	1.8
CG18744	<i>CG18744</i>	1.8
CG7979	<i>CG7979</i>	1.8
CG18622	<i>CG18622</i>	1.8
CG16734	<i>CG16734</i>	1.8
CG10763	<i>Gbeta5</i>	1.7
CG5188	<i>CG5188</i>	1.7
CG9188	<i>sip2</i>	1.7
CG11888	<i>Rpn2</i>	1.7
CG3651	<i>CG3651</i>	1.7
CG1849	<i>run</i>	1.7
CG31057	<i>tau</i>	1.7
CG15436	<i>CG15436</i>	1.7
CG9068	<i>CG9068</i>	1.7
CG6342	<i>lrp-1B</i>	1.7
CG8681	<i>clumsy</i>	1.7
CG32700	<i>CG32700</i>	1.7
CG9021	<i>CG9021</i>	1.7
CG6863	<i>tok</i>	1.7
CG31136	<i>Syx1A</i>	1.7
CG11111	<i>rdgB</i>	1.7
CG8211	<i>IntS2</i>	1.7
CG6890	<i>Tollo</i>	1.7
CG10272	<i>gpp</i>	1.7
CG5397	<i>CG5397</i>	1.7
CG5525	<i>CG5525</i>	1.7
CG11896	<i>m-cup</i>	1.7
CG6889	<i>tara</i>	1.6
CG8269	<i>Dmn</i>	1.6
CG2157	<i>CG2157</i>	1.6
CG10421	<i>Cad96Cb</i>	1.6
CG40300	<i>AGO3</i>	1.6
CG5319	<i>lute</i>	1.6
CG13901	<i>CG13901</i>	1.6
CG1120	<i>IntS10</i>	1.6
CG13331	<i>CG13331</i>	1.6
CG3420	<i>CG3420</i>	1.6
CG7685	<i>CG7685</i>	1.6
CG13675	<i>CG13675</i>	1.6
CG10625	<i>CG10625</i>	1.6
CG10013	<i>CG10013</i>	1.6
CG14035	<i>Msp-300</i>	1.6
CG1709	<i>Vha100-1</i>	1.6
CG1862	<i>Ephrin</i>	1.6
CG6666	<i>SdhC</i>	1.6
CG32653	<i>CG43921</i>	1.6
CG18437	<i>CG18437</i>	1.6

CG32067	<i>simj</i>	1.6
CG12078	<i>CG12078</i>	1.6
CG31064	<i>CG31064</i>	1.5
CG32604	<i>I(1)G0007</i>	1.5
CG11619	<i>CG11619</i>	1.5
CG9129	<i>CG9129</i>	1.5
CG4312	<i>MtnB</i>	1.5
CG5304	<i>dmGlut</i>	1.5
CG14029	<i>vri</i>	1.5
CG5315	<i>CG5315</i>	-1.5
CG15276	<i>CG42313</i>	-1.5
CG17033	<i>elgi</i>	-1.5
CR31808	<i>CG31808</i>	-1.5
CG12286	<i>kar</i>	-1.5
CG6530	<i>mthl3</i>	-1.5
CG8896	<i>18w</i>	-1.5
CG11172	<i>NFAT</i>	-1.5
CG8205	<i>fus</i>	-1.6
CG9988	<i>CG9988</i>	-1.6
CG1634	<i>Nrg</i>	-1.6
CG1941	<i>CG1941</i>	-1.6
CG8905	<i>Sod2</i>	-1.6
CG13280	<i>CG13280</i>	-1.6
CG32280	<i>CG32280</i>	-1.6
CG6054	<i>Su(fu)</i>	-1.6
CG30475	<i>aPKC</i>	-1.6
CG9013	<i>Vha16-4</i>	-1.6
CG2005	<i>Ptp99A</i>	-1.6
CG18405	<i>Sema-1a</i>	-1.6
CG3536	<i>CG42260</i>	-1.7
CG31283	<i>CG31283</i>	-1.7
CG12781	<i>nahoda</i>	-1.7
CG4531	<i>aos</i>	-1.7
CG18416	<i>CG18416</i>	-1.7
CG7051	<i>Dic61B</i>	-1.7
CG33455	<i>mute</i>	-1.7
CG3688	<i>I(2)35Bd</i>	-1.7
CG1722	<i>CG1722</i>	-1.7
CG1381	<i>RpLP0-like</i>	-1.7
CG3655	<i>CG3655</i>	-1.7
CG12467	<i>CG43867</i>	-1.7
CG11092	<i>CG11092</i>	-1.7
CG32504	<i>CG32504</i>	-1.8
CG33220	<i>CG33220</i>	-1.8
CG2135	<i>CG2135</i>	-1.8
CG2259	<i>Gclc</i>	-1.8
CG12105	<i>CG12105</i>	-1.8
CG8928	<i>Rrp47</i>	-1.8
CG5711	<i>Arr1</i>	-1.8
CG4936	<i>CG4936</i>	-1.8
CG7639	<i>CG7639</i>	-1.8
CG11771	<i>CG11771</i>	-1.8
CG8616	<i>BHD</i>	-1.8
CG32176	<i>CG32176</i>	-1.8
CG13297	<i>CG13297</i>	-1.8

CG11870	<i>CG43143</i>	-1.8	CG5684	<i>Pop2</i>	-2.0
CG14806	<i>CG14806</i>	-1.8	CG7637	<i>CG7637</i>	-2.1
CG4479	<i>Mst35Ba</i>	-1.8	CG9125	<i>CG9125</i>	-2.1
CG31763	<i>bru-2</i>	-1.8	CG5163	<i>TfIIA-S</i>	-2.1
CG3114	<i>ewg</i>	-1.8	CG5417	<i>Srp14</i>	-2.1
CG10145	<i>mspo</i>	-1.8	CG13255	<i>CG13255</i>	-2.1
CG4370	<i>lrk2</i>	-1.9	CG6808	<i>CG6808</i>	-2.1
CG6113	<i>Lip4</i>	-1.9	CG6620	<i>ial</i>	-2.1
CG7223	<i>htl</i>	-1.9	CG8600	<i>CG43781</i>	-2.1
CG10360	<i>ref(2)P</i>	-1.9	CG30409	<i>CG30409</i>	-2.1
CG13305	<i>CG13305</i>	-1.9	CG5722	<i>Npc1a</i>	-2.1
CG10908	<i>Der-1</i>	-1.9	CG9076	<i>Cpr47Ed</i>	-2.1
CG4220	<i>eIB</i>	-1.9	CG3100	<i>b6</i>	-2.1
CG33113	<i>Rtnl1</i>	-1.9	CG33337	<i>CG33337</i>	-2.1
CG10822	<i>CG10822</i>	-1.9	CG5352	<i>SmB</i>	-2.1
CG17732	<i>CG17732</i>	-1.9	CG7494	<i>mRpL1</i>	-2.1
CG17885	<i>Or1a</i>	-1.9	CG6426	<i>CG6426</i>	-2.1
CG5510	<i>CG5510</i>	-1.9	CG7588	<i>Eig71Ej</i>	-2.1
CG4684	<i>nwk</i>	-1.9	CG1298	<i>kune</i>	-2.1
CG9003	<i>CG9003</i>	-1.9	CG10660	<i>CG10660</i>	-2.1
CG14969	<i>CG14969</i>	-1.9	CG9471	<i>CG9471</i>	-2.1
CG7415	<i>DppIII</i>	-1.9	CG12028	<i>dib</i>	-2.2
CG33261	<i>Trl</i>	-1.9	CG3413	<i>wdp</i>	-2.2
CG7831	<i>ncd</i>	-1.9	CG9774	<i>rok</i>	-2.2
CG17029	<i>CG17029</i>	-1.9	CG9226	<i>WDR79</i>	-2.2
CG18250	<i>Dg</i>	-1.9	CG10327	<i>TBPH</i>	-2.2
CG4467	<i>CG4467</i>	-1.9	CG3032	<i>CG3032</i>	-2.2
CG33111	<i>CG33111</i>	-1.9	CG1702	<i>GstT3</i>	-2.2
CG2674	<i>Sam-S</i>	-1.9	CG6637	<i>lsn</i>	-2.2
CG4807	<i>ab</i>	-1.9	CG6598	<i>Fdh</i>	-2.2
CG8937	<i>Hsc70-1</i>	-1.9	CG9384	<i>CG9384</i>	-2.2
CG4206	<i>Mcm3</i>	-1.9	CG7184	<i>Mkrn1</i>	-2.2
CG12843	<i>Tsp42Ei</i>	-2.0	CG11881	<i>dgt6</i>	-2.2
CG8961	<i>tef</i>	-2.0	CG9045	<i>Myb</i>	-2.3
CG32138	<i>CG32138</i>	-2.0	CG7276	<i>CG7276</i>	-2.3
CG14809	<i>CG14809</i>	-2.0	CG5554	<i>CG5554</i>	-2.3
CG10118	<i>ple</i>	-2.0	CG4896	<i>CG4896</i>	-2.3
CG6304	<i>CG6304</i>	-2.0	CG3762	<i>Vha68-2</i>	-2.3
CG5121	<i>MED28</i>	-2.0	CG9760	<i>CG9760</i>	-2.3
CG32692	<i>CG32692</i>	-2.0	CG8996	<i>wal</i>	-2.3
CG10673	<i>CG10673</i>	-2.0	CG9539	<i>Sec61alpha</i>	-2.3
CG31389	<i>CG31389</i>	-2.0	CG15224	<i>CklIbeta</i>	-2.4
CG14701	<i>CG14701</i>	-2.0	CG17777	<i>CG17777</i>	-2.4
CG6293	<i>CG6293</i>	-2.0	CG11527	<i>Tig</i>	-2.4
CG4922	<i>sala</i>	-2.0	CG6011	<i>Prp18</i>	-2.4
CG40381	<i>CG40381</i>	-2.0	CG3727	<i>dock</i>	-2.4
CG10388	<i>Ubx</i>	-2.0	CG11009	<i>Wbp2</i>	-2.4
CG7823	<i>RhoGDI</i>	-2.0	CG15033	<i>CheA7a</i>	-2.4
CG6057	<i>SMC1</i>	-2.0	CG2046	<i>CG2046</i>	-2.4
CG14678	<i>CG34113</i>	-2.0	CG9596	<i>CG9596</i>	-2.4
CG3333	<i>Nop60B</i>	-2.0	CG32802	<i>CG32802</i>	-2.4
CG13245	<i>CG13245</i>	-2.0	CG7296	<i>CG7296</i>	-2.4
CG12007	<i>CG12007</i>	-2.0	CG5111	<i>CG5111</i>	-2.5
CG2053	<i>CG2053</i>	-2.0	CG9752	<i>CG9752</i>	-2.5
CG3429	<i>swaPsi</i>	-2.0	CG15219	<i>CG15219</i>	-2.5

CG8176	<i>CG8176</i>	-2.5
CG8195	<i>CG8195</i>	-2.5
CG5630	<i>CG5630</i>	-2.5
CG2009	<i>bip2</i>	-2.5
CG10354	<i>Rat1</i>	-2.5
CG2857	<i>Tpc2</i>	-2.5
CG14815	<i>Pex5</i>	-2.5
CG5669	<i>Spps</i>	-2.5
CG13598	<i>sba</i>	-2.5
CG14050	<i>CG14050</i>	-2.5
CG33114	<i>Gyc32E</i>	-2.5
CG2014	<i>CG2014</i>	-2.5
CG17952	<i>LBR</i>	-2.6
CG13323	<i>CG13323</i>	-2.6
CG6571	<i>rdgC</i>	-2.6
CG15629	<i>CG15629</i>	-2.6
CG4615	<i>CG4615</i>	-2.6
CG11994	<i>Ada</i>	-2.6
CG32950	<i>CG14246</i>	-2.6
CG1146	<i>CG1146</i>	-2.6
CG4314	<i>st</i>	-2.6
CG15920	<i>resilin</i>	-2.6
CG3744	<i>CG3744</i>	-2.6
CG8508	<i>CG8508</i>	-2.6
CR33327		-2.6
CG8309	<i>Tango7</i>	-2.6
CG9775	<i>CG9775</i>	-2.6
CG33217	<i>CG33217</i>	-2.7
CG14355	<i>CG14355</i>	-2.7
CG1835	<i>CG1835</i>	-2.7
CG12449	<i>Gfat1</i>	-2.7
CG7886	<i>CG7886</i>	-2.7
CG18477	<i>CG18477</i>	-2.7
CG12787	<i>hoe1</i>	-2.7
CG4675	<i>Ndae1</i>	-2.7
CG3774	<i>Efr</i>	-2.7
CG5887	<i>desat1</i>	-2.7
CG8515	<i>Cpr49Ah</i>	-2.7
CG3862	<i>CG3862</i>	-2.7
CG11353	<i>CG11353</i>	-2.8
CG5045	<i>CG5045</i>	-2.8
CG3819	<i>CG3819</i>	-2.8
CG12094	<i>CG34104</i>	-2.8
CG11245	<i>Pkcdelta</i>	-2.8
CG33249	<i>CG42271</i>	-2.8
CG9386	<i>CG9386</i>	-2.8
CG6860	<i>Lrch</i>	-2.8
CG7568	<i>CG7568</i>	-2.8
CG32150	<i>CG32150</i>	-2.8
CG14259	<i>CG14259</i>	-2.8
CG9916	<i>Cyp1</i>	-2.8
CG9347	<i>ninaB</i>	-2.8
CG1794	<i>Mmp2</i>	-2.8
CG5429	<i>Atg6</i>	-2.9
CG13924	<i>CG13924</i>	-2.9

CG9289	<i>CG9289</i>	-2.9
CG12390	<i>dare</i>	-2.9
CG12086	<i>cue</i>	-2.9
CG9162	<i>CR9162</i>	-2.9
CG9664	<i>CG9664</i>	-2.9
CG13631	<i>CG13631</i>	-2.9
CG5581	<i>Ote</i>	-2.9
CG11778	<i>CNT1</i>	-3.0
CG3260	<i>Zfrp8</i>	-3.0
CG8440	<i>Lis-1</i>	-3.0
CG15517	<i>CG15517</i>	-3.0
CG7279	<i>Lip1</i>	-3.0
CG6883	<i>trh</i>	-3.0
CG8118	<i>mam</i>	-3.0
CG30035	<i>Tret1-1</i>	-3.0
CG4135	<i>beat-IIb</i>	-3.0
CG8997	<i>CG8997</i>	-3.1
CG32193	<i>CG32193</i>	-3.1
CG11466	<i>Cyp9f2</i>	-3.1
CG10052	<i>Rx</i>	-3.1
CG31961	<i>CG31961</i>	-3.1
CG8556	<i>Rac2</i>	-3.2
CG1440	<i>CG1440</i>	-3.2
CG5705	<i>CG5705</i>	-3.2
CG1391	<i>sol</i>	-3.2
CG9100	<i>Rab30</i>	-3.2
CG7592	<i>Obp99b</i>	-3.2
CG3711	<i>CG3711</i>	-3.2
CG5558	<i>CG42359</i>	-3.2
CG5069	<i>croc</i>	-3.3
CG13809	<i>osm-1</i>	-3.3
CG8605	<i>CG8605</i>	-3.3
CG1090	<i>CG1090</i>	-3.3
CG3799	<i>Exn</i>	-3.3
CG5269	<i>vib</i>	-3.3
CG2173	<i>Rs1</i>	-3.4
CG6995	<i>Saf-B</i>	-3.4
CG6765	<i>CG6765</i>	-3.4
CG8843	<i>sec5</i>	-3.4
CG7772	<i>CG7772</i>	-3.4
CG4925	<i>CG4925</i>	-3.5
CG7563	<i>CalpA</i>	-3.5
CG6805	<i>CG6805</i>	-3.5
CG5994	<i>Nelf-E</i>	-3.5
CG10851	<i>B52</i>	-3.6
CG6461	<i>Ggt-1</i>	-3.6
CG1049	<i>Cct1</i>	-3.6
CG8290	<i>CG8290</i>	-3.7
CG10336	<i>CG10336</i>	-3.7
CG32856	<i>CG32856</i>	-3.7
CG11892	<i>CG11892</i>	-3.8
CG8607	<i>CG8607</i>	-3.8
CG5166	<i>Atx2</i>	-3.8
CG3502	<i>CG3502</i>	-3.8
CG33009	<i>CG33672</i>	-3.8

CG4459	<i>CG4459</i>	-3.9	CG12737	<i>Crag</i>	-14.3
CG31732	<i>yuri</i>	-3.9	CG8127	<i>Eip75B</i>	-15.9
CG3665	<i>Fas2</i>	-3.9	CG8878	<i>CG8878</i>	-55.3
CG13096	<i>CG13096</i>	-4.0	CG7333	<i>CG7333</i>	-70.5
CG8044	<i>HP4</i>	-4.0	CG3764	<i>CG3764</i>	13.7
CG11007	<i>CG11007</i>	-4.1	CG13707	<i>CG13707</i>	13.4
CG9171	<i>CG9171</i>	-4.1	CG6033	<i>drk</i>	11.0
CG31617	<i>His1:CG31617</i>	-4.1	CG6354	<i>Rb97D</i>	9.1
CG10124	<i>eIF4E-4</i>	-4.1	CG2559	<i>Lsp1alpha</i>	6.9
CG5590	<i>CG5590</i>	-4.1	CG7395	<i>sNPF-R</i>	6.2
CG10967	<i>Atg1</i>	-4.1	CG9362	<i>GstZ1</i>	5.3
CG6724	<i>CG6724</i>	-4.1	CG4266	<i>CG4266</i>	5.0
CG6155	<i>Roe1</i>	-4.1	CG15067	<i>CG15067</i>	4.8
CG9029	<i>CG9029</i>	-4.2	CG5942	<i>brm</i>	4.5
CG9186	<i>CG9186</i>	-4.4	CG15286	<i>CG15286</i>	4.4
CG32625	<i>CG32625</i>	-4.4	CG2855	<i>aph-1</i>	4.4
CG8805	<i>wun2</i>	-4.4	CG16713	<i>CG16713</i>	4.0
CG12897	<i>CG42732</i>	-4.4	CG9862	<i>Rae1</i>	4.0
CG10041	<i>CG10041</i>	-4.4	CG10478	<i>alphaKap4</i>	3.9
CG30321	<i>CG30321</i>	-4.5	CG18081	<i>CG18081</i>	3.8
CG14443	<i>CG14443</i>	-4.5	CG9375	<i>Ras85D</i>	3.8
CG30391	<i>CG30391</i>	-4.5	CG5067	<i>cic</i>	3.7
CG15085	<i>edl</i>	-4.6	CG10108	<i>phyl</i>	3.5
CG4865	<i>dgt4</i>	-4.6	CG11356	<i>CG11356</i>	3.5
CG10759	<i>Or7a</i>	-4.6	CG1429	<i>Mef2</i>	3.4
CG12936	<i>mms4</i>	-4.6	CG33197	<i>mbl</i>	3.4
CG10539	<i>S6k</i>	-4.6	CG15829	<i>CG15829</i>	3.4
CG12128	<i>CG12128</i>	-4.6	CG11414	<i>CG11414</i>	3.4
CG9765	<i>tacc</i>	-4.7	CG8426	<i>l(2)NC136</i>	3.3
CG8144	<i>ps</i>	-4.7	CG10038	<i>CG10038</i>	3.3
CG6758	<i>CG6758</i>	-4.9	CG17562	<i>CG17562</i>	3.2
CG31104	<i>CG31104</i>	-5.0	CG9428	<i>ZIP1</i>	2.9
CG9854	<i>hrg</i>	-5.2	CG3201	<i>Mlc-c</i>	2.8
CG14283	<i>mRpL55</i>	-5.3	CG4869	<i>betaTub97EF</i>	2.8
CG2316	<i>CG2316</i>	-5.3	CG10045	<i>GstD1</i>	2.8
CG10506	<i>Aats-gln</i>	-5.3	CG8972	<i>rho-7</i>	2.8
CG17058	<i>Peritrophin-A</i>	-5.4	CG6692	<i>Cp1</i>	2.7
CG5996	<i>trpgamma</i>	-5.4	CG14299	<i>CG14299</i>	2.7
CG32042	<i>PGRP-LA</i>	-5.6	CG15282	<i>CG15282</i>	2.6
CG7818	<i>CG7818</i>	-5.7	CG10447	<i>Nf-YB</i>	2.5
CG31305	<i>fabp</i>	-6.2	CG6016	<i>bbc</i>	2.5
CG8239	<i>CG8239</i>	-6.2	CG3565	<i>CG3565</i>	2.5
CG11122	<i>CG11122</i>	-6.7	CG13227	<i>CG13227</i>	2.5
CG32148	<i>CG32148</i>	-6.7	CG9983	<i>Hrb98DE</i>	2.5
CG4569	<i>Pros28.1B</i>	-7.0	CG10200	<i>CG10200</i>	2.4
CG31171	<i>CG31171</i>	-7.3	CG31301	<i>CG31301</i>	2.3
CG9149	<i>CG9149</i>	-8.4	CG1435	<i>CBP</i>	2.3
CG3812	<i>CG3812</i>	-8.7	CG6742	<i>cenB1A</i>	2.3
CG10537	<i>Rdl</i>	-8.9	CG10305	<i>RpS26</i>	2.3
CG8885	<i>Scox</i>	-8.9	CG15280	<i>CR15280</i>	2.3
CG14540	<i>CG14540</i>	-8.9	CG12883	<i>CG12883</i>	2.2
CG2412	<i>Rad51C</i>	-9.3	CG8481	<i>CG8481</i>	2.2
CG4079	<i>Taf11</i>	-9.8	CG8417	<i>CG8417</i>	2.1
CG7532	<i>l(2)34Fc</i>	-9.8	CG5001	<i>CG5001</i>	2.1
CG17327	<i>CG17327</i>	-11.7	CG14243	<i>TwidD</i>	2.1

CG9470	<i>MtnA</i>	2.0	CG40091	<i>CG40091</i>	-2.1
CG10203	<i>x16</i>	1.9	CG30029	<i>CR30029</i>	-2.2
CG17689	<i>Spt20</i>	1.9	CG18428	<i>CG18428</i>	-2.2
CG8416	<i>Rho1</i>	1.9	CG8589	<i>tej</i>	-2.3
CG5271	<i>RpS27A</i>	1.9	CG9745	<i>D1</i>	-2.3
CG8085	<i>RN-tre</i>	1.8	CG18179	<i>CG18179</i>	-2.3
CG4654	<i>Dp</i>	1.8	CG4600	<i>yip2</i>	-2.3
CG12141	<i>Aats-lys</i>	1.8	CG13587	<i>CG13587</i>	-2.4
CG3004	<i>Lst8</i>	1.7	CG5730	<i>AnnIX</i>	-2.4
CG1623	<i>hebe</i>	1.7	CG11219	<i>PIP82</i>	-2.4
CG8369	<i>CG8369</i>	1.7	CR40465	<i>CR40465</i>	-2.4
CG4157	<i>Rpn12</i>	1.7	CG5266	<i>Pros25</i>	-2.5
CG10653	<i>hk</i>	1.7	CG9742	<i>SmG</i>	-2.5
CG13120	<i>CG44152</i>	1.7	CG30429	<i>CG30429</i>	-2.5
CG10477	<i>CG10477</i>	1.7	CG4536	<i>iav</i>	-2.5
CG9412	<i>rin</i>	1.7	CG4380	<i>usp</i>	-2.5
CG5784	<i>Mapmodulin</i>	1.6	CG33006	<i>CG43164</i>	-2.6
CG6838	<i>ArfGAP3</i>	1.6	CG11109	<i>CG11109</i>	-2.6
CG6593	<i>Pp1alpha-96A</i>	1.6	CG14897	<i>CG42232</i>	-2.8
CG2512	<i>alphaTub84D</i>	1.6	CG11271	<i>CG17672</i>	-2.9
CG7809	<i>Grasp65</i>	1.5	CG12391	<i>CG12391</i>	-2.9
CG14754	<i>CG14754</i>	1.5	CG13202	<i>CG13202</i>	-2.9
CG11642	<i>TRAM</i>	1.5	CG10959	<i>CG10959</i>	-2.9
CG2522	<i>Gtp-bp</i>	1.5	CG8841	<i>CG8841</i>	-2.9
CG7130	<i>CG7130</i>	-1.5	CG15785	<i>CG42749</i>	-2.9
CG5855	<i>cni</i>	-1.5	CG3542	<i>CG3542</i>	-3.0
CG3973	<i>pigs</i>	-1.6	CG10679	<i>Nedd8</i>	-3.1
CG2790	<i>CG2790</i>	-1.6	CG12021	<i>Patj</i>	-3.1
CG13394	<i>CG42820</i>	-1.7	CG7638	<i>CG7638</i>	-3.1
CG7288	<i>CG7288</i>	-1.7	CG16786	<i>CG16786</i>	-3.1
CG2209	<i>CG2209</i>	-1.7	CG41130	<i>Mitf</i>	-3.2
CG7440	<i>tgyl</i>	-1.7	CG10956	<i>Spn53F</i>	-3.2
CG15213	<i>CG15213</i>	-1.7	CG8889	<i>Mppe</i>	-3.3
CG8979	<i>PI31</i>	-1.8	CG8409	<i>Su(var)205</i>	-3.3
CG11099	<i>CG11099</i>	-1.8	CG5588	<i>Mtl</i>	-3.3
CG7986	<i>Atg18</i>	-1.8	CG5454	<i>snRNP-U1-C</i>	-3.4
CG32666	<i>Drak</i>	-1.8	CG8396	<i>Ssb-c31a</i>	-3.6
CG8460	<i>CG8460</i>	-1.8	CG14229	<i>CG14229</i>	-3.6
CG10419	<i>Gem2</i>	-1.8	CG4012	<i>gek</i>	-3.7
CG10376	<i>CG10376</i>	-1.8	CG1490	<i>Usp7</i>	-3.7
CG6203	<i>Fmr1</i>	-1.9	CG5867	<i>CG5867</i>	-4.0
CG6854	<i>CTPsyn</i>	-1.9	CG5576	<i>imd</i>	-4.1
CG2924	<i>CG2924</i>	-1.9	CG4790	<i>fs(1)M3</i>	-4.1
CG3314	<i>RpL7A</i>	-1.9	CG8067	<i>CG8067</i>	-4.1
CG5676	<i>CG5676</i>	-1.9	CG4067	<i>pug</i>	-4.3
CG10165	<i>CG10165</i>	-1.9	CG32663	<i>CG43154</i>	-4.3
CG8544	<i>sd</i>	-1.9	CG5522	<i>CG5522</i>	-5.4
CG2813	<i>cold</i>	-2.0	CG14584	<i>lr20a</i>	-5.4
CG10264	<i>CG10264</i>	-2.0	CG15261	<i>UK114</i>	-6.4
CG11053	<i>CG34345</i>	-2.0	CG18468	<i>Lhr</i>	-6.7
CG8948	<i>Graf</i>	-2.0	CG13420	<i>CG42335</i>	-7.6
CG11259	<i>MICAL-like</i>	-2.1	CG1600	<i>CG1600</i>	-11.2
CG16817	<i>CG16817</i>	-2.1			
CG8914	<i>Ckllbeta2</i>	-2.1			
CG1964	<i>Kul</i>	-2.1			

III. PPK4-Gal4xw¹¹¹⁸/PPK4-Gal4xUAS-ORMDL

Gen-ID	Gen-Symbol	relative Expression			
CG11414	CG11414	18.0	CG12200	CG12200	3.5
CG8631	<i>msl-3</i>	9.2	CG6016	CG6016	3.5
CG5890	CG5890	8.3	CG18081	CG18081	3.5
CG33006		8.0	CG9326	CG9326	3.5
CG13843	CG13843	7.9	CG10575	CG10575	3.4
CG3174	<i>Fmo-2</i>	7.7	CG6203	<i>Fmr1</i>	3.4
CG16901	<i>sqd</i>	7.2	CG1906	CG1906	3.3
CG4975	CG4975	7.2	CR12953		3.3
CG8643	<i>rgr</i>	7.2	CG18428	CG18428	3.3
CG6425	CG6425	6.8	CG30203		3.3
CG15831		6.8	CG8749	<i>snRNP70K</i>	3.3
CG11120	CG11120	6.7	CG7749	<i>fat2</i>	3.3
CG31791	CG31791	6.6	CG14367	CG14367	3.2
CG5939	<i>Prm</i>	6.4	CG4610	CG4610	3.2
CG5177	CG5177	6.2	CG12602	CG12602	3.1
CG5016	<i>Mst57Db</i>	6.0	CG4372	CG4372	3.1
CG9362	CG9362	6.0	CG31411	CG31411	3.1
CG18356	CG18356	5.7	CG1274	<i>Jafrac2</i>	3.1
CG4859	<i>Mmp1</i>	5.6	CG93251		3.0
CG9983	<i>Hrb98DE</i>	5.1	CG17821	CG17821	3.0
CG31764	<i>vir-1</i>	5.0	CG10264	CG10264	3.0
CG3781	CG3781	5.0	CG2262	<i>Smox</i>	3.0
CG31666	CG31666	4.9	CG14690	<i>tomboy20</i>	3.0
CG6817	<i>foi</i>	4.9	CG106265		3.0
CG6742	<i>cenB1A</i>	4.8	CG17117	<i>hth</i>	3.0
CG1550	CG1550	4.7	CG11666	CG11666	2.9
CG3734	CG3734	4.5	CG5067	<i>cic</i>	2.9
CG31355	CG31355	4.4	CG33110	CG33110	2.9
CG11807	CG11807	4.4	CG30360	CG30360	2.9
CG10200	CG10200	4.4	CG6884	<i>MED11</i>	2.9
CG10747	CG10747	4.3	CG6492	<i>Ucp4A</i>	2.9
CG13090	CG13090	4.1	CG11000	CG11000	2.9
CG3033	CG3033	4.1	CG8640	CG8640	2.9
CR31490		4.0	CG3322	<i>LanB2</i>	2.9
CG33017	CG33017	4.0	CG10837		2.9
CG18519	CG18519	4.0	CG5848	<i>cact</i>	2.9
CG14762	CG14762	4.0	CG15614	CG15614	2.9
CG5580	<i>sbb</i>	4.0	CG17047	CG17047	2.9
CG7937	<i>C15</i>	4.0	CG30429	CG30429	2.8
CR40456		3.9	CG13641	CG13641	2.8
CG13230	CG13230	3.8	CG11905	CG11905	2.8
CG13707	CG13707	3.8	CG3827	<i>sc</i>	2.8
CG2727	<i>emp</i>	3.8	CG4759	<i>RpL27</i>	2.8
CG17470	CG17470	3.8	CG40203		2.8
CG55183		3.8	CG5414	CG5414	2.8
CG9102	<i>bab2</i>	3.7	CG1268	CG1268	2.8
CG4380	<i>usp</i>	3.6	CG8157	CG8157	2.8
CG18778	CG18778	3.6	CG40463		2.8
CG5748	<i>Hsf</i>	3.6	CG14597	CG14597	2.7
CG8571	<i>smid</i>	3.6	CG11852	CG11852	2.7
CG4382	CG4382	3.6	CG33123	CG33123	2.7
CG1837	<i>pretaporter</i>	3.6	CG41135		2.7
			CG9862	<i>Rae1</i>	2.7
			CG10045	<i>GstD1</i>	2.7

CG30051	<i>CG30051</i>	2.7	CG7893	<i>vav</i>	2.3
CG33189	<i>CG33189</i>	2.6	CG31464	<i>CG31464</i>	2.3
CG6022	<i>CG6022</i>	2.6	CG4536	<i>CG4536</i>	2.3
CG109431		2.6	CG8025	<i>Mtr3</i>	2.3
CG5935	<i>Dek</i>	2.6	CG11207	<i>feo</i>	2.3
CG6689	<i>CG6689</i>	2.6	CG6838	<i>CG6838</i>	2.3
CG16713	<i>CG16713</i>	2.6	CG4938	<i>Aats-ser</i>	2.3
CG5461	<i>bun</i>	2.6	CG2647	<i>per</i>	2.3
CG6005	<i>CG6005</i>	2.6	CG2559		2.3
CG15155	<i>CG15155</i>	2.6	CG6985	<i>CG6985</i>	2.2
CG6472	<i>CG6472</i>	2.6	CG10788	<i>ng3</i>	2.2
CG30395	<i>CG30395</i>	2.6	CG10543	<i>CG10543</i>	2.2
CG9412	<i>rin</i>	2.6	CG13426	<i>CG13426</i>	2.2
CG3896	<i>NADPH oxidase</i>	2.6	CG9438	<i>Cyp6a2</i>	2.2
CG19136		2.6	CG2791	<i>CG2791</i>	2.2
CG12505	<i>CG12505</i>	2.6	CG5725	<i>fbl</i>	2.2
CG7288	<i>CG7288</i>	2.6	CG2845	<i>phl</i>	2.2
CG32356	<i>ImpE1</i>	2.6	CG18212	<i>CG18212</i>	2.2
CG32264	<i>CG32264</i>	2.6	CG32556	<i>CG32556</i>	2.2
CG3788	<i>CG3788</i>	2.6	CG5730	<i>AnnIX</i>	2.2
CG331290		2.5	CG32511	<i>CG32511</i>	2.2
CG5355	<i>CG5355</i>	2.5	CG15157	<i>CG15157</i>	2.2
CG14299	<i>CG14299</i>	2.5	CG1636	<i>CG1636</i>	2.2
CG5381	<i>CG5381</i>	2.5	CG2253	<i>Upf2</i>	2.2
CG1842	<i>Dhc98D</i>	2.5	CG30190	<i>CG30190</i>	2.2
CG5436	<i>Hsp68</i>	2.5	CG2304	<i>Trc8</i>	2.2
CG8160	<i>CG8160</i>	2.5	CG8562	<i>CG8562</i>	2.2
CG11337	<i>CG11337</i>	2.5	CG17255	<i>CG17255</i>	2.2
CG13091	<i>CG13091</i>	2.5	CG12158		2.2
CG14655	<i>CG14655</i>	2.5	CG10479	<i>CG10479</i>	2.2
CG15010	<i>ago</i>	2.5	CG13120	<i>CG13120</i>	2.2
CG12358	<i>Paip2</i>	2.5	CG30093	<i>CG30093</i>	2.2
CG17923	<i>CG17923</i>	2.5	CG15631	<i>CG15631</i>	2.2
CG11251	<i>CG11251</i>	2.4	CG40178		2.1
CG10598	<i>CG10598</i>	2.4	CG14792	<i>sta</i>	2.1
CG8417	<i>CG8417</i>	2.4	CG3731	<i>CG3731</i>	2.1
CG30264	<i>CG30264</i>	2.4	CG2952	<i>Dox-A3</i>	2.1
CG3921	<i>CG3921</i>	2.4	CG5654	<i>yps</i>	2.1
CG4860	<i>CG4860</i>	2.4	CG10281		2.1
CG32663	<i>CG32663</i>	2.4	CG2224	<i>CG2224</i>	2.1
CG11624	<i>Ubi-p63E</i>	2.4	CG1878		2.1
CG10379	<i>mbc</i>	2.4	CG3152	<i>Trap1</i>	2.1
CG5216	<i>Sir2</i>	2.4	CG6788	<i>CG6788</i>	2.1
CG12021	<i>Patj</i>	2.4	CG1435	<i>CBP</i>	2.1
CG2139	<i>aralar1</i>	2.4	CG4212	<i>Rab14</i>	2.1
CG14760	<i>CG14760</i>	2.4	CG5001	<i>CG5001</i>	2.1
CG8128	<i>CG8128</i>	2.4	CG31804	<i>CG31804</i>	2.1
CG8182	<i>GalNAc-T1</i>	2.4	CG31257	<i>CG31257</i>	2.1
CG14534	<i>CG14534</i>	2.3	CG33048		2.1
CG10374	<i>Lsd-1</i>	2.3	CG7283		2.1
CG12420	<i>CG12420</i>	2.3	CG2747	<i>CG2747</i>	2.1
CG5813	<i>chif</i>	2.3	CG4318	<i>CG4318</i>	2.1
CG11779	<i>CG11779</i>	2.3	CG6514	<i>TpnC25D</i>	2.1
CG13954	<i>CG13954</i>	2.3	CG11723	<i>CG11723</i>	2.1
CG17149	<i>CG17149</i>	2.3	CG10006	<i>CG10006</i>	2.1

CG18132	<i>CG18132</i>	2.1	CG40120		2.0
CG7793	<i>Sos</i>	2.1	CG1109	<i>CG1109</i>	2.0
CG5744	<i>Frq1</i>	2.1	CG7851		2.0
CG12403	<i>Vha68-1</i>	2.1	CG40043		2.0
CG32666	<i>CG32666</i>	2.1	CG30173	<i>SIP1</i>	2.0
CG13231	<i>CG13231</i>	2.1	CG12290	<i>CG12290</i>	1.9
CG56839		2.1	CG13658	<i>CG13658</i>	1.9
CG8516	<i>CG8516</i>	2.1	CG30324	<i>CG30324</i>	1.9
CG11356	<i>CG11356</i>	2.1	CG1582	<i>CG1582</i>	1.9
CG9498	<i>CG9498</i>	2.1	CG4244	<i>Su(dx)</i>	1.9
CG4433	<i>CG4433</i>	2.1	CG9761	<i>Nep2</i>	1.9
CG11348		2.0	CG4943	<i>lack</i>	1.9
CG7548	<i>CG7548</i>	2.0	CG6488	<i>CG6488</i>	1.9
CG17260	<i>CG17260</i>	2.0	CG5546	<i>MED19</i>	1.9
CG13126	<i>CG13126</i>	2.0	CG5326	<i>CG5326</i>	1.9
CG17042	<i>CG17042</i>	2.0	CG13861	<i>CG13861</i>	1.9
CG1942	<i>CG1942</i>	2.0	CG30457	<i>CG30457</i>	1.9
CG32845	<i>CG32845</i>	2.0	CG30126	<i>CG30126</i>	1.9
CG11133	<i>CG11133</i>	2.0	CG4881	<i>salr</i>	1.9
CG14270	<i>CG14270</i>	2.0	CG15166	<i>CG15166</i>	1.9
CG3626	<i>CG3626</i>	2.0	CG12171	<i>CG12171</i>	1.9
CG15169	<i>CG15169</i>	2.0	CG8419	<i>CG8419</i>	1.9
CG8177	<i>CG8177</i>	2.0	CG6593		1.9
CG5643	<i>wdb</i>	2.0	CG14162	<i>dpr6</i>	1.9
CG14543	<i>CG14543</i>	2.0	CG17086	<i>CG17086</i>	1.9
CG5478	<i>CG5478</i>	2.0	CG13956	<i>kat80</i>	1.9
CG10516	<i>CG10516</i>	2.0	CG8132	<i>CG8132</i>	1.9
CG15067	<i>CG15067</i>	2.0	CG10959	<i>CG10959</i>	1.9
CG6364	<i>CG6364</i>	2.0	CG7188	<i>CG7188</i>	1.9
CG10233	<i>CG10233</i>	2.0	CG30163	<i>CG30163</i>	1.9
CG10163	<i>CG10163</i>	2.0	CG6495	<i>CG6495</i>	1.9
CG33475		2.0	CG33269	<i>CG33269</i>	1.9
CG9697	<i>PGRP-SB2</i>	2.0	CG9253	<i>CG9253</i>	1.9
CG3835	<i>CG3835</i>	2.0	CG13957	<i>CG13957</i>	1.9
CG11929	<i>CG11929</i>	2.0	CG1523	<i>CG1523</i>	1.9
CG32817	<i>CG32817</i>	2.0	CG12398	<i>CG12398</i>	1.9
CG5505	<i>mule</i>	2.0	CG10476	<i>CG10476</i>	1.9
CG13893	<i>CG13893</i>	2.0	CG4328	<i>CG4328</i>	1.9
CG10138	<i>PpD5</i>	2.0	CG3035	<i>cm</i>	1.9
CG95200		2.0	CG15057	<i>CG15057</i>	1.9
CG4163	<i>Cyp303a1</i>	2.0	CG12389	<i>Fpps</i>	1.9
CG8841	<i>CG8841</i>	2.0	CG6091	<i>CG6091</i>	1.9
CG10038	<i>CG10038</i>	2.0	CG11522	<i>RpL6</i>	1.9
CG6340	<i>CG6340</i>	2.0	CG31704		1.9
CG9428	<i>ZIP1</i>	2.0	CG3991	<i>Tppl1</i>	1.9
CG31198	<i>CG31198</i>	2.0	CG6358	<i>Xpac</i>	1.9
CG13364	<i>CG13364</i>	2.0	CG14110	<i>CG14110</i>	1.9
CG3994	<i>CG3994</i>	2.0	CG9476		1.9
CG14119	<i>CG14119</i>	2.0	CG10031	<i>CG10031</i>	1.9
CG16700	<i>CG16700</i>	2.0	CG1889	<i>CG1889</i>	1.9
CG4362	<i>CG4362</i>	2.0	CG9166	<i>312</i>	1.9
CG17534	<i>GstE9</i>	2.0	CG16870	<i>Acyp</i>	1.9
CG18420		2.0	CG5971	<i>CG5971</i>	1.9
CG5175	<i>kuk</i>	2.0	CG14254	<i>CG14254</i>	1.9
CG15395	<i>CG15395</i>	2.0	CG9938	<i>CG9938</i>	1.8

CG32677	<i>CG32677</i>	1.8
CG6762	<i>CG6762</i>	1.8
CG49930		1.8
CG2924	<i>CG2924</i>	1.8
CG3081	<i>CG3081</i>	1.8
CG40497		1.8
CG6899	<i>Ptp4E</i>	1.8
CG10101	<i>CG10101</i>	1.8
CG1750	<i>CG1750</i>	1.8
CG13582	<i>CG13582</i>	1.8
CG7990	<i>CG7990</i>	1.8
CG10219	<i>CG10219</i>	1.8
CG11750	<i>CG11750</i>	1.8
CG8889	<i>CG8889</i>	1.8
CG17623	<i>CG17623</i>	1.8
CG18418	<i>CG18418</i>	1.8
CG4012	<i>gek</i>	1.8
CG14992	<i>Ack</i>	1.8
CG6094	<i>CG6094</i>	1.8
CG9449	<i>CG9449</i>	1.8
CG6050	<i>EftuM</i>	1.8
CG5458	<i>CG5458</i>	1.8
CG5989	<i>CG5989</i>	1.8
CG10947	<i>CG10947</i>	1.8
CG11266	<i>CG11266</i>	1.8
CG9689	<i>CG9689</i>	1.8
CG10173	<i>Best2</i>	1.8
CG8862	<i>CG8862</i>	1.8
CG3009	<i>CG3009</i>	1.8
CG7379	<i>CG7379</i>	1.8
CG4921	<i>Rab4</i>	1.8
CG15438	<i>CG15438</i>	1.8
CG18284	<i>CG18284</i>	1.8
CG2794	<i>CG2794</i>	1.8
CG5277	<i>Ip259</i>	1.8
CG5834	<i>Hsp70Bbb</i>	1.8
CG8172	<i>CG8172</i>	1.8
CG9088	<i>lid</i>	1.8
CG6684	<i>RpS25</i>	1.8
CG9200	<i>CG9200</i>	1.8
CG33041	<i>CG33041</i>	1.8
CG6524	<i>Cp19</i>	1.8
CG2979	<i>Yp2</i>	1.8
CG31148	<i>CG31148</i>	1.8
CG14759	<i>CG14759</i>	1.8
CR32873		1.8
CG11518	<i>pygo</i>	1.8
CG12883	<i>CG12883</i>	1.8
CG4424	<i>CG4424</i>	1.8
CG32854	<i>mRpS21</i>	1.8
CG11604	<i>CG11604</i>	1.8
CG1028	<i>Antp</i>	1.8
CG6870	<i>CG6870</i>	1.8
CG15877	<i>CG15877</i>	1.8
CG8693	<i>CG8693</i>	1.8

CG2928		1.8
CG11430	<i>olf186-F</i>	1.8
CG10287	<i>Gasp</i>	1.8
CG5959	<i>CG5959</i>	1.8
CG5498	<i>CG5498</i>	1.8
CG1327	<i>Ccp84Ac</i>	1.8
CG9480	<i>Glycogenin</i>	1.8
CG8426	<i>I(2)NC136</i>	1.8
CG30338	<i>CG30338</i>	1.8
CG4307	<i>Oscp</i>	1.8
CG17192	<i>CG17192</i>	1.8
CG7351	<i>CG7351</i>	1.8
CG30384	<i>CG30384</i>	1.8
CG4051	<i>egl</i>	1.8
CG6565	<i>CG6565</i>	1.8
CG6699		1.8
CG18301	<i>CG18301</i>	1.7
CG4184	<i>MED15</i>	1.7
CG6033	<i>drk</i>	1.7
CG2125	<i>ci</i>	1.7
CG14215	<i>CG14215</i>	1.7
CG31132		1.7
CG15261	<i>CG15261</i>	1.7
CG4073	<i>CG4073</i>	1.7
CG31840	<i>CG31840</i>	1.7
CG15615	<i>CG15615</i>	1.7
CG11029	<i>CG11029</i>	1.7
CG66711		1.7
CG40164		1.7
CG5208	<i>CG5208</i>	1.7
CG11099	<i>CG11099</i>	1.7
CG9631	<i>CG9631</i>	1.7
CG5250	<i>CG5250</i>	1.7
CG15204	<i>CG15204</i>	1.7
CG3939	<i>CG3939</i>	1.7
CG15130	<i>CG15130</i>	1.7
CG30116	<i>CG30116</i>	1.7
CG4068	<i>CG4068</i>	1.7
CG8405	<i>CG8405</i>	1.7
CG7338	<i>CG7338</i>	1.7
CG5889	<i>Mdh</i>	1.7
CG10284	<i>CG10284</i>	1.7
CG7986	<i>Atg18</i>	1.7
CG15154	<i>Socs36E</i>	1.7
CG32551	<i>CG32551</i>	1.7
CG32227	<i>CG32227</i>	1.7
CG7330	<i>CG7330</i>	1.7
CG1524	<i>RpS14a</i>	1.7
CG9307	<i>CG9307</i>	1.7
CG32956		1.7
CG16813	<i>CG16813</i>	1.7
CG32846	<i>CG32846</i>	1.7
CG9016	<i>CG9016</i>	1.7
CG9057		1.7
CG17386	<i>CG17386</i>	1.7

CG14684	<i>CG14684</i>	1.7	CG40068		1.6
CR33315		1.7	CG4899	<i>Pdh</i>	1.6
CG4038	<i>CG4038</i>	1.7	CG5359	<i>CG5359</i>	1.6
CG32811	<i>CG32811</i>	1.7	CG5942	<i>brm</i>	1.6
CG9861	<i>CG9861</i>	1.7	CG15456	<i>CG15456</i>	1.6
CG13634	<i>CG13634</i>	1.7	CG18332	<i>CSN3</i>	1.6
CG16857	<i>CG16857</i>	1.7	CG31106	<i>CG31106</i>	1.6
CG8481	<i>CG8481</i>	1.7	CG9540	<i>Ag5r2</i>	1.6
CG18064	<i>Met75Cb</i>	1.7	CG11872	<i>CG11872</i>	1.6
CG15147	<i>CG15147</i>	1.7	CG32799		1.6
CG319194		1.7	CG40485		1.6
CG13085	<i>CG13085</i>	1.7	CG13036	<i>CG13036</i>	1.6
CG15319	<i>nej</i>	1.7	CG12849	<i>CG12849</i>	1.6
CG11877	<i>CG11877</i>	1.7	CG13442	<i>CG13442</i>	1.6
CG5768	<i>CG5768</i>	1.7	CG4326	<i>mRpS17</i>	1.6
CG8505	<i>CG8505</i>	1.7	CG5053	<i>CG5053</i>	1.6
CG12187	<i>CG12187</i>	1.7	CG5029	<i>SamDC</i>	1.6
CG10927		1.7	CG2947	<i>CG2947</i>	1.6
CG15167	<i>CG15167</i>	1.7	CG10207	<i>NaPi-T</i>	1.6
CG31663	<i>CG31663</i>	1.7	CG40354		1.6
CG5588	<i>Mtl</i>	1.7	CG6683	<i>CG6683</i>	1.6
CG14184	<i>CG14184</i>	1.7	CG15585	<i>Osi1</i>	1.6
CG11893	<i>CG11893</i>	1.7	CG14080	<i>Mkp3</i>	1.6
CG5721	<i>CG5721</i>	1.7	CG11112	<i>CG11112</i>	1.6
CG8346	<i>HLHm3</i>	1.7	CG15213	<i>CG15213</i>	1.6
CG40053		1.7	CG12161	<i>CG12161</i>	1.6
CG31773	<i>CG31773</i>	1.7	CG7748	<i>OstStt3</i>	1.6
CG10035	<i>CG10035</i>	1.7	CG3353	<i>CG3353</i>	1.6
CG15364	<i>CG15364</i>	1.7	CG15663		1.6
CG7454	<i>Or85a</i>	1.7	CG11992	<i>Rel</i>	1.6
CG6639	<i>CG6639</i>	1.7	CG12477	<i>CG12477</i>	1.6
CG1349		1.7	CG30195	<i>CG30195</i>	1.6
CG11798	<i>chn</i>	1.7	CG11525	<i>CycG</i>	1.6
CG3004	<i>CG3004</i>	1.7	CG7993	<i>CG7993</i>	1.6
CG15171	<i>robl37BC</i>	1.7	CG12818	<i>CG12818</i>	1.6
CG1250	<i>sec23</i>	1.7	CG1829	<i>Cyp6v1</i>	1.6
CG14079	<i>CG14079</i>	1.6	CG11727	<i>CG11727</i>	1.6
CG2964		1.6	CG3967	<i>CG3967</i>	1.6
CG4926	<i>Ror</i>	1.6	CG6845	<i>CG6845</i>	1.6
CG9375	<i>Ras85D</i>	1.6	CG13717	<i>CG13717</i>	1.6
CG9984	<i>TH1</i>	1.6	CG4770	<i>CG4770</i>	1.6
CG17111	<i>CG17111</i>	1.6	CG2976	<i>CG2976</i>	1.6
CG6701	<i>CG6701</i>	1.6	CG10277	<i>CG10277</i>	1.6
CG11622	<i>Rlip</i>	1.6	CG3313	<i>CG3313</i>	1.6
CG15209	<i>CG15209</i>	1.6	CG11423	<i>CG11423</i>	1.6
CG176973		1.6	CG7918	<i>CG7918</i>	1.6
CG18596	<i>CG18596</i>	1.6	CG5013	<i>CG5013</i>	1.6
CG15884	<i>CG15884</i>	1.6	CG10975	<i>Ptp69D</i>	1.6
CG6145	<i>CG6145</i>	1.6	CG7449	<i>hbs</i>	1.6
CG1864	<i>Hr38</i>	1.6	CG5027	<i>CG5027</i>	1.6
CG14714	<i>CG14714</i>	1.6	CG7908	<i>Tace</i>	1.6
CG9871	<i>CG9871</i>	1.6	CG13719	<i>CG13719</i>	1.6
CG18193	<i>CG18193</i>	1.6	CG4030	<i>CG4030</i>	1.6
CG15015	<i>Cip4</i>	1.6	CG7832	<i>CG7832</i>	1.5
CG30372	<i>CG30372</i>	1.6	CG8299	<i>CG8299</i>	1.5

CG31688	<i>CG31688</i>	1.5	CG15883	<i>Obp18a</i>	-1.6
CG30100	<i>CG30100</i>	1.5	CG2790	<i>CG2790</i>	-1.6
CG10121	<i>SP1173</i>	1.5	CG6562	<i>synj</i>	-1.6
CG32464	<i>l(3)82Fd</i>	1.5	CG5184	<i>mRpS11</i>	-1.6
CG31247	<i>tinc</i>	1.5	CG13278	<i>CG13278</i>	-1.6
CG31851	<i>CG31851</i>	1.5	CG11259	<i>MICAL-like</i>	-1.6
CG31062	<i>side</i>	1.5	CG17520		-1.6
CG40378		1.5	CG15200	<i>CG15200</i>	-1.6
CG40244		1.5	CG67657		-1.6
CG4686	<i>CG4686</i>	1.5	CG5502	<i>RpL4</i>	-1.6
CG3975	<i>CG3975</i>	1.5	CG6452	<i>CG6452</i>	-1.6
CG33172	<i>CG33172</i>	1.5	CG8972	<i>rho-7</i>	-1.6
CG323810		1.5	CG12861	<i>CG12861</i>	-1.6
CG14650	<i>CG14650</i>	1.5	CG4869		-1.6
CG13713	<i>CG13713</i>	1.5	CG7864	<i>CG7864</i>	-1.6
CG9451	<i>CG9451</i>	1.5	CG17494		-1.6
CG78671		1.5	CG12263	<i>CG12263</i>	-1.6
CG15427	<i>tutl</i>	1.5	CG5896	<i>CG5896</i>	-1.6
CG10697	<i>Ddc</i>	1.5	CG3411	<i>bs</i>	-1.6
CG14057	<i>CG14057</i>	1.5	CG7075	<i>CG7075</i>	-1.6
CG15001		1.5	CG5539	<i>CG5539</i>	-1.6
CG4083	<i>Mo25</i>	1.5	CG11793	<i>Sod</i>	-1.6
CG17757	<i>CG17757</i>	1.5	CG2948	<i>rev7</i>	-1.6
CG10531	<i>CG10531</i>	1.5	CG12384	<i>CG12384</i>	-1.6
CG8544	<i>sd</i>	1.5	CR32078		-1.6
CG6181	<i>CG6181</i>	1.5	CG6028	<i>CG6028</i>	-1.7
CG9738	<i>Mkk4</i>	1.5	CG14324	<i>CG14324</i>	-1.7
CG7011	<i>CG7011</i>	1.5	CG16947	<i>CG16947</i>	-1.7
CG17081	<i>CG17081</i>	1.5	CG10241	<i>Cyp6a17</i>	-1.7
CG30282	<i>CG30282</i>	1.5	CG3604	<i>CG3604</i>	-1.7
CG7148	<i>CG7148</i>	1.5	CG31839	<i>CG31839</i>	-1.7
CG1502	<i>tsg</i>	1.5	CG5454	<i>CG5454</i>	-1.7
CG32849	<i>Hex-t2</i>	1.5	CG10447	<i>CG10447</i>	-1.7
CG6126	<i>CG6126</i>	1.5	CG6074	<i>CG6074</i>	-1.7
CG11329	<i>CG11329</i>	1.5	CG6854	<i>CG6854</i>	-1.7
CG10459	<i>CG10459</i>	-1.5	CG32217	<i>Su(Tpl)</i>	-1.7
CG6842	<i>CG6842</i>	-1.5	CG7587	<i>CG7587</i>	-1.7
CG8254	<i>exex</i>	-1.5	CG30352	<i>CG30352</i>	-1.7
CG12391	<i>CG12391</i>	-1.5	CG8877	<i>CG8877</i>	-1.7
CG7199	<i>Hr78</i>	-1.5	CG14469	<i>dpr12</i>	-1.7
CG8282	<i>Snx6</i>	-1.5	CG11053	<i>CG11053</i>	-1.7
CG3338	<i>CG3338</i>	-1.5	CG15730	<i>CG15730</i>	-1.7
CG11109	<i>CG11109</i>	-1.5	CG8090	<i>CG8090</i>	-1.7
CG5825		-1.5	CG3664	<i>Rab5</i>	-1.7
CG10473	<i>CG10473</i>	-1.5	CG4600	<i>yip2</i>	-1.7
CG18582	<i>mbt</i>	-1.5	CG9356	<i>CG9356</i>	-1.7
CG33156	<i>CG33156</i>	-1.5	CG7953	<i>CG7953</i>	-1.7
CG30044	<i>CG30044</i>	-1.6	CG30034	<i>CG30034</i>	-1.7
CG32679	<i>CG32679</i>	-1.6	CG31842	<i>mRpS23</i>	-1.7
CR31615		-1.6	CG4945	<i>CG4945</i>	-1.7
CG13221	<i>Vhl</i>	-1.6	CG137801		-1.7
CG7929	<i>ocn</i>	-1.6	CG17906	<i>CG17906</i>	-1.7
CG15278	<i>CG15278</i>	-1.6	CG1883	<i>RpS7</i>	-1.7
CG62248		-1.6	CG3085	<i>CG3085</i>	-1.7
CG5596	<i>Mlc1</i>	-1.6	CG32694	<i>CG32694</i>	-1.7

CG2021	<i>CG2021</i>	-1.7
CG6692	<i>Cp1</i>	-1.7
CG7529	<i>CG7529</i>	-1.7
CG15871	<i>mRpL38</i>	-1.7
CG30385	<i>CG30385</i>	-1.7
CG14573	<i>CG14573</i>	-1.7
CG15617	<i>CG15617</i>	-1.7
CG5266	<i>Pros25</i>	-1.8
CG186220		-1.8
CG40085		-1.8
CR32881		-1.8
CG31316		-1.8
CG4144	<i>GNBP2</i>	-1.8
CG11951	<i>CG11951</i>	-1.8
CG2519	<i>CG2519</i>	-1.8
CG15286	<i>CG15286</i>	-1.8
CG14214	<i>sec61gamma</i>	-1.8
CG12519	<i>CG12519</i>	-1.8
CG17689	<i>CG17689</i>	-1.8
CG11405		-1.8
CG14328	<i>CG14328</i>	-1.8
CG11271	<i>RpS12</i>	-1.8
CG5452	<i>dnk</i>	-1.8
CG6610	<i>CG6610</i>	-1.8
CG16972	<i>CG16972</i>	-1.8
CG17766	<i>CG17766</i>	-1.8
CG12141	<i>Aats-lys</i>	-1.8
CG1490	<i>CG1490</i>	-1.8
CG8629	<i>CG8629</i>	-1.8
CG14490	<i>CG14490</i>	-1.8
CG25200		-1.8
CG4760	<i>bol</i>	-1.8
CG30000	<i>CG30000</i>	-1.8
CG3589	<i>CG3589</i>	-1.8
CG10687	<i>Aats-asn</i>	-1.8
CG12002	<i>Pxn</i>	-1.8
CG16786	<i>CG16786</i>	-1.8
CG6756	<i>Tom70</i>	-1.8
CG9333	<i>Oseg5</i>	-1.8
CG9345	<i>Adgf-C</i>	-1.8
CG6746	<i>CG6746</i>	-1.8
CG13587	<i>CG13587</i>	-1.9
CG9867		-1.9
CG1507		-1.9
CG32224	<i>CG32224</i>	-1.9
CG2493	<i>CG2493</i>	-1.9
CG10847	<i>enc</i>	-1.9
CG4910	<i>Ccap</i>	-1.9
CG5180	<i>CG5180</i>	-1.9
CG8046	<i>CG8046</i>	-1.9
CG10309	<i>CG10309</i>	-1.9
CG31291	<i>CG31291</i>	-1.9
CG16817	<i>CG16817</i>	-1.9
CG18539	<i>CG18539</i>	-1.9
CG3941	<i>pita</i>	-1.9

CG4790	<i>fs(1)M3</i>	-1.9
CG18455	<i>Optix</i>	-1.9
CG4654	<i>Dp</i>	-1.9
CG6253	<i>RpL14</i>	-1.9
CG13420	<i>CG13420</i>	-1.9
CG10956	<i>CG10956</i>	-1.9
CG3597	<i>CG3597</i>	-1.9
CG11621		-1.9
CG4268	<i>Pitslre</i>	-1.9
CG32068	<i>CG32068</i>	-1.9
CG9358		-1.9
CG4935	<i>CG4935</i>	-1.9
CG6447	<i>CG6447</i>	-1.9
CG1640	<i>CG1640</i>	-2.0
CG3903	<i>Gli</i>	-2.0
CG4716	<i>CG4716</i>	-2.0
CG6207	<i>GlcAT-P</i>	-2.0
CG11796	<i>CG11796</i>	-2.0
CG5262	<i>CG5262</i>	-2.0
CG10105	<i>CG10105</i>	-2.0
CG11391	<i>CG11391</i>	-2.0
CG9081	<i>Cyp4s3</i>	-2.0
CG16724	<i>tra</i>	-2.0
CG30007	<i>CG30007</i>	-2.0
CG30174	<i>CG30174</i>	-2.0
CG4341	<i>CG4341</i>	-2.0
CG13044	<i>CG13044</i>	-2.0
CG33171	<i>CG33171</i>	-2.0
CG15354		-2.0
CG14497	<i>CG14497</i>	-2.0
CG10108	<i>phyl</i>	-2.0
CG32230	<i>CG32230</i>	-2.0
CG7130	<i>CG7130</i>	-2.0
CG16952	<i>CG16952</i>	-2.0
CG4662	<i>CG4662</i>	-2.0
CG20827		-2.0
CG17272	<i>CG17272</i>	-2.0
CG10419	<i>CG10419</i>	-2.1
CG11284	<i>CG11284</i>	-2.1
CG31765	<i>CG31765</i>	-2.1
CG18649		-2.1
CG10679	<i>Nedd8</i>	-2.1
CG9799	<i>CG9799</i>	-2.1
CG1707	<i>CG1707</i>	-2.1
CG40470		-2.1
CG33298	<i>CG33298</i>	-2.1
CG10131	<i>CG10131</i>	-2.1
CG7395	<i>NPFR76F</i>	-2.1
CG11523	<i>CG11523</i>	-2.1
CG7259	<i>Best4</i>	-2.1
CG13415	<i>Cby</i>	-2.1
CG16812	<i>CG16812</i>	-2.1
CG18468	<i>CG18468</i>	-2.1
CG4157	<i>Rpn12</i>	-2.1
CG5676	<i>CG5676</i>	-2.2

CG8314	<i>CG8314</i>	-2.2
CG2209	<i>CG2209</i>	-2.2
CG16793	<i>CG16793</i>	-2.2
CG6026	<i>CG6026</i>	-2.2
CG31313	<i>CG31313</i>	-2.2
CG1495	<i>CaMKI</i>	-2.2
CG8067	<i>CG8067</i>	-2.2
CG5804	<i>CG5804</i>	-2.2
CG7305		-2.2
CG16771	<i>CG16771</i>	-2.2
CG7292	<i>Rrp6</i>	-2.2
CG10752	<i>CG10752</i>	-2.2
CG2863	<i>Nle</i>	-2.2
CG17489		-2.2
CG17991	<i>CG17991</i>	-2.2
CG6090	<i>RpL34a</i>	-2.2
CG16970	<i>CG16970</i>	-2.2
CG15280		-2.3
CG1841	<i>CG1841</i>	-2.3
CG6803		-2.3
CG9695	<i>Dab</i>	-2.3
CG11060	<i>CG11060</i>	-2.3
CG33115	<i>CG33115</i>	-2.3
CG14417	<i>CG14417</i>	-2.3
CG8760	<i>CG8760</i>	-2.3
CG2968	<i>I(1)G0230</i>	-2.3
CG3024	<i>torp4a</i>	-2.3
CG7936	<i>mex1</i>	-2.3
CG6198	<i>CHORD</i>	-2.3
CG8396	<i>Ssb-c31a</i>	-2.3
CG10068	<i>CG10068</i>	-2.3
CG10781	<i>ng1</i>	-2.3
CG1705	<i>Rst(1)JH</i>	-2.3
CG15306	<i>CG15306</i>	-2.3
CG2855	<i>aph-1</i>	-2.3
CG8058	<i>CG8058</i>	-2.4
CG7391	<i>Clk</i>	-2.4
CG32528	<i>CG32528</i>	-2.4
CG92961		-2.4
CG4462	<i>CG4462</i>	-2.4
CG16704	<i>CG16704</i>	-2.4
CG1623	<i>CG1623</i>	-2.4
CG30437	<i>CG30437</i>	-2.4
CG40049		-2.4
CG3542	<i>CG3542</i>	-2.4
CG5492	<i>Tsp74F</i>	-2.4
CG17514		-2.4
CG14584	<i>CG14584</i>	-2.4
CG11686	<i>CG11686</i>	-2.4
CG11143	<i>Inos</i>	-2.4
CG13390	<i>CG13390</i>	-2.4
CG10683	<i>rhi</i>	-2.4
CG10376	<i>CG10376</i>	-2.4
CG17290	<i>CG17290</i>	-2.5
CG5855	<i>cni</i>	-2.5

CG13394	<i>CG13394</i>	-2.5
CG114943		-2.5
CG7245		-2.5
CG13802	<i>CG13802</i>	-2.5
CG6015	<i>CG6015</i>	-2.5
CG5793	<i>CG5793</i>	-2.5
CG11233	<i>I(1)19Ec</i>	-2.5
CG122233		-2.5
CG5110	<i>CG5110</i>	-2.5
CG1662	<i>CG1662</i>	-2.5
CG12231		-2.5
CG10339	<i>CG10339</i>	-2.5
CG33213	<i>CG33213</i>	-2.5
CG10604	<i>bsh</i>	-2.5
CG9150	<i>CG9150</i>	-2.5
CG4914	<i>CG4914</i>	-2.5
CG8013	<i>Su(z)12</i>	-2.5
CG11280	<i>trn</i>	-2.6
CG30274	<i>CG30274</i>	-2.6
CG12126	<i>CG12126</i>	-2.6
CG5885	<i>CG5885</i>	-2.6
CG10203	<i>xl6</i>	-2.6
CG7382	<i>CG7382</i>	-2.6
CG32070	<i>CG32070</i>	-2.6
CG8416	<i>Rho1</i>	-2.6
CG5718	<i>CG5718</i>	-2.6
CG18654	<i>Dgk</i>	-2.6
CG17559	<i>dnt</i>	-2.6
CG9577	<i>CG9577</i>	-2.6
CG41120		-2.6
CG7293	<i>Klp68D</i>	-2.6
CG5330	<i>Nap1</i>	-2.6
CG4140	<i>CG4140</i>	-2.6
CG3347	<i>CG3347</i>	-2.6
CG4022	<i>CG4022</i>	-2.6
CG5920	<i>sop</i>	-2.6
CG10827	<i>CG10827</i>	-2.6
CG9093	<i>Tsp26A</i>	-2.7
CG9335	<i>CG9335</i>	-2.7
CG12977	<i>CG12977</i>	-2.7
CG17738	<i>CG17738</i>	-2.7
CR40465		-2.7
CG12400	<i>CG12400</i>	-2.7
CG13214	<i>CG13214</i>	-2.7
CG5723	<i>Ten-m</i>	-2.7
CG5413		-2.7
CG9293	<i>CG9293</i>	-2.8
CG11902	<i>CG11902</i>	-2.8
CG7218	<i>CG7218</i>	-2.8
CG3714	<i>CG3714</i>	-2.8
CG8994	<i>exu</i>	-2.8
CG44670		-2.8
CG1742	<i>Mgstl</i>	-2.8
CG11986	<i>CG11986</i>	-2.8
CG17903	<i>Cyt-c-p</i>	-2.8

CG3186	<i>eIF-5A</i>	-2.9	CG1693	<i>tty</i>	-3.7
CG9284	<i>CG9284</i>	-2.9	CG17814	<i>Peritrophin-15a</i>	-3.7
CG4843	<i>Tm2</i>	-2.9	CG7935	<i>msk</i>	-3.7
CG9434	<i>Fst</i>	-3.0	CG6258	<i>RfC38</i>	-3.7
CG1569	<i>rod</i>	-3.0	CG12123	<i>CG12123</i>	-3.7
CG9470	<i>MtnA</i>	-3.0	CG1058		-3.8
CG15098	<i>CG15098</i>	-3.0	CG32026	<i>CG32026</i>	-3.8
CG33321		-3.0	CG7431	<i>CG7431</i>	-3.8
CG33467		-3.0	CG15534	<i>CG15534</i>	-3.8
CG31815	<i>CG31815</i>	-3.1	CG9926	<i>CG9926</i>	-3.8
CG10305	<i>RpS26</i>	-3.1	CG15708	<i>CG15708</i>	-3.8
CG7730	<i>CG7730</i>	-3.1	CG1161	<i>CG1161</i>	-3.8
CG8210	<i>Vha14</i>	-3.1	CG10484	<i>Dox-A2</i>	-3.8
CG10335	<i>Pbgs</i>	-3.1	CG15081	<i>l(2)03709</i>	-3.8
CG8509	<i>CG8509</i>	-3.1	CG3201	<i>Mlc-c</i>	-3.9
CG170520		-3.2	CG7533	<i>chrb</i>	-3.9
CG9790	<i>Cks85A</i>	-3.2	CG6822	<i>ergic53</i>	-3.9
CG32080	<i>CG32080</i>	-3.2	CG5827	<i>RpL37A</i>	-3.9
CG10806	<i>CG10806</i>	-3.2	CR32864		-3.9
CG8925	<i>CG8925</i>	-3.2	CG14897	<i>CG14897</i>	-4.0
CG17522	<i>GstE10</i>	-3.2	CG17105	<i>CG17105</i>	-4.1
CG7644	<i>beat-lb</i>	-3.2	CG18234	<i>CG18234</i>	-4.1
CG17026	<i>CG17026</i>	-3.2	CG40006		-4.1
CG31121	<i>CG31121</i>	-3.2	CG10307	<i>CG10307</i>	-4.2
CG40128		-3.2	CG8726	<i>CG8726</i>	-4.2
CG3314	<i>RpL7A</i>	-3.3	CG9668	<i>Rh4</i>	-4.2
CG5271	<i>RpS27A</i>	-3.3	CG9843		-4.3
CG8226	<i>Tom7</i>	-3.3	CG13073	<i>CG13073</i>	-4.3
CG30005	<i>CG30005</i>	-3.3	CG12899	<i>CG12899</i>	-4.3
CG4185		-3.3	CG14488	<i>CG14488</i>	-4.4
CG18743	<i>Hsp70Ab</i>	-3.3	CG4180	<i>l(2)35Bg</i>	-4.4
CG32595	<i>CG32595</i>	-3.4	CG30460	<i>CG30460</i>	-4.4
CG12372	<i>spt4</i>	-3.4	CG5842	<i>nan</i>	-4.5
CG14966	<i>CG14966</i>	-3.4	CG7704	<i>Taf5</i>	-4.5
CG41130		-3.4	CG9915	<i>CG9915</i>	-4.6
CG33151	<i>Gr59e</i>	-3.4	CG10478	<i>CG10478</i>	-4.6
CG32276	<i>CG32276</i>	-3.4	CG10345	<i>CG10345</i>	-4.6
CG30158	<i>CG30158</i>	-3.4	CG31327	<i>CG31327</i>	-4.6
CG9717	<i>CG9717</i>	-3.4	CG30383	<i>CG30383</i>	-4.7
CG17723	<i>CG17723</i>	-3.5	CG10477	<i>CG10477</i>	-4.7
CR32895		-3.5	CG14888	<i>CG14888</i>	-4.7
CG7231	<i>CG7231</i>	-3.5	CG5282	<i>CG5282</i>	-4.7
CG9359		-3.5	CG18176	<i>defl</i>	-4.8
CG8280		-3.5	CG5695	<i>jar</i>	-4.8
CG14847	<i>CG14847</i>	-3.5	CG8460	<i>CG8460</i>	-4.8
CG32267	<i>CG32267</i>	-3.5	CG31784	<i>CG31784</i>	-4.8
CG7809	<i>Grasp65</i>	-3.5	CG2998	<i>RpS28b</i>	-4.8
CG8828	<i>CG8828</i>	-3.5	CG10414	<i>CG10414</i>	-4.9
CG30080	<i>CG30080</i>	-3.6	CG8334	<i>CG8334</i>	-5.0
CG2522	<i>Gtp-bp</i>	-3.6	CG14450	<i>CG14450</i>	-5.1
CG11219	<i>PIP82</i>	-3.6	CG12780	<i>CG12780</i>	-5.1
CG16894	<i>CG16894</i>	-3.6	CG1631	<i>CG1631</i>	-5.1
CG14258	<i>CG14258</i>	-3.6	CG31776	<i>CG31776</i>	-5.2
CG8498	<i>CG8498</i>	-3.6	CG7638	<i>CG7638</i>	-5.3
CG11650	<i>Lcp1</i>	-3.7	CG14549	<i>CG14549</i>	-5.3

CG148895		-5.3
CG9271	<i>Vm34Ca</i>	-5.4
CG1964	<i>Kul</i>	-5.4
CG3027	<i>pyd3</i>	-5.5
CG10428	<i>CG10428</i>	-5.5
CG11856	<i>Nup358</i>	-5.6
CG7429	<i>CG7429</i>	-5.7
CR30478		-5.7
CG11330	<i>cort</i>	-5.8
CG30485	<i>CG30485</i>	-5.8
CG7595	<i>ck</i>	-5.9
CG10800	<i>Rca1</i>	-5.9
CG5192	<i>Rh6</i>	-6.2
CG8745	<i>CG8745</i>	-6.2
CG10653	<i>hk</i>	-6.2
CG1922	<i>onecut</i>	-6.3
CG1621	<i>CG1621</i>	-6.3
CG15113	<i>5-HT1B</i>	-6.6

CG7321		-6.7
CG7012	<i>nct</i>	-6.7
CG7756	<i>Hsc70-2</i>	-6.8
CG32284	<i>CG32284</i>	-7.1
CG12311	<i>Pomt2</i>	-7.4
CG31308	<i>CG31308</i>	-7.5
CG15817	<i>CG15817</i>	-8.1
CG3764	<i>CG3764</i>	-8.2
CG6772	<i>Slob</i>	-8.6
CG18012	<i>CG18012</i>	-8.7
CG15785		-9.2
CG31509	<i>TotA</i>	-11.2
CG15282	<i>CG15282</i>	-13.6
CG7161	<i>Oseg1</i>	-16.6
CG18088	<i>CG18088</i>	-18.3
CG5070	<i>CG5070</i>	-20.2

IV. PPK4-Gal4xw¹¹¹⁸/PPK4-Gal4xUAS-ORMDL-RNAi

Gen-ID	Gen-Symbol	relative Expression
CG13425	<i>bl</i>	135.7
CG5819	<i>CG5819</i>	127.5
CG11807	<i>CG11807</i>	9.4
CG10531	<i>CG10531</i>	9.0
CG16713	<i>CG16713</i>	8.5
CG13641	<i>CG13641</i>	8.3
CG10516	<i>CG10516</i>	5.7
CG5939	<i>Prm</i>	5.7
CG13090	<i>CG13090</i>	5.4
CG8631	<i>msl-3</i>	5.3
CG18778	<i>CG18778</i>	5.3
CG14690	<i>tomboy20</i>	4.9
CG2262	<i>Smox</i>	4.6
CG12964	<i>CG12964</i>	4.5
CG12839	<i>Tsp42En</i>	4.3
CG13091	<i>CG13091</i>	4.2
CG16742	<i>CG16742</i>	4.2
CG18777	<i>CG18777</i>	3.9
CG16752	<i>CG16752</i>	3.9
CG18787	<i>CG18787</i>	3.8
CG11251	<i>CG11251</i>	3.5
CG15614	<i>CG15614</i>	3.5
CG11105	<i>CG11105</i>	3.5
CG14754	<i>CG14754</i>	3.4
CG8516	<i>CG8516</i>	3.2
CG10958	<i>CG10958</i>	3.2
CG18212	<i>CG18212</i>	3.2
CG32114	<i>CG32114</i>	3.2
CG14456	<i>CG14456</i>	3.2
CG40203		3.2
CG6472	<i>CG6472</i>	3.2
CG10200	<i>CG10200</i>	3.1

CG2071	<i>Ser6</i>	3.1
CG10068	<i>CG10068</i>	3.1
CG3033	<i>CG3033</i>	3.1
CG14762	<i>CG14762</i>	3.0
CG6817	<i>foi</i>	3.0
CG30360	<i>CG30360</i>	3.0
CG15213	<i>CG15213</i>	3.0
CG13227	<i>CG13227</i>	2.9
CG18519	<i>CG18519</i>	2.9
CG31936	<i>Gr22e</i>	2.9
CG8604	<i>Amph</i>	2.9
CG2901	<i>CG2901</i>	2.8
CG5890	<i>CG5890</i>	2.8
CG15884	<i>CG15884</i>	2.8
CG5804	<i>CG5804</i>	2.8
CG9374	<i>lkb1</i>	2.8
CG13364	<i>CG13364</i>	2.7
CG8893	<i>Gapdh2</i>	2.7
CG9077	<i>CG9077</i>	2.7
CG32268	<i>dro6</i>	2.6
CG30203		2.6
CG5177	<i>CG5177</i>	2.6
CG12161	<i>CG12161</i>	2.6
CG11310	<i>CG11310</i>	2.6
CG31336	<i>Gr93b</i>	2.5
CG9005	<i>CG9005</i>	2.5
CG16711	<i>CG16711</i>	2.5
CG2559		2.5
CG11839	<i>CG11839</i>	2.5
CG8862	<i>CG8862</i>	2.5
CG6957	<i>Oscillin</i>	2.5
CG5867	<i>CG5867</i>	2.5
CG12873	<i>CG12873</i>	2.5
CG14567	<i>CG14567</i>	2.5

CG11144		2.4
CG8614	<i>Neos</i>	2.4
CG8784	<i>CG8784</i>	2.4
CG11779	<i>CG11779</i>	2.4
CG11815	<i>CG11815</i>	2.4
CG2915	<i>CG2915</i>	2.4
CG11799	<i>Mnf</i>	2.3
CG8198	<i>l(1)G0136</i>	2.3
CG11356	<i>CG11356</i>	2.3
CG16716	<i>CG16716</i>	2.3
CG41075		2.3
CG9078	<i>ifc</i>	2.3
CG11887	<i>CG11887</i>	2.3
CG11861	<i>gft</i>	2.3
CG30036	<i>CG30036</i>	2.3
CG4180	<i>l(2)35Bg</i>	2.3
CG8912	<i>Psi</i>	2.2
CG30188	<i>CG30188</i>	2.2
CG17329	<i>CG17329</i>	2.2
CG8640	<i>CG8640</i>	2.2
CG2083	<i>CG2083</i>	2.2
CG18156	<i>CG18156</i>	2.1
CG16837		2.1
CG8924	<i>CG8924</i>	2.1
CG11929	<i>CG11929</i>	2.1
CG17928	<i>CG17928</i>	2.1
CG15829	<i>CG15829</i>	2.1
CG11207	<i>feo</i>	2.1
CG30272	<i>CG30272</i>	2.1
CG12149		2.1
CG6454	<i>CG6454</i>	2.1
CG31558	<i>Obp83g</i>	2.1
CG9319	<i>CG9319</i>	2.1
CG30330	<i>Gr59d</i>	2.1
CG12896	<i>CG12896</i>	2.1
CG6838	<i>CG6838</i>	2.1
CG32918		2.1
CG15663		2.1
CG11859	<i>CG11859</i>	2.1
CG1878		2.1
CG30179	<i>CG30179</i>	2.1
CG11125	<i>CG11125</i>	2.0
CG9541	<i>CG9541</i>	2.0
CG11922	<i>fd96Cb</i>	2.0
CG5768	<i>CG5768</i>	2.0
CG33278	<i>CG33278</i>	2.0
CG18675	<i>CG18675</i>	2.0
CG12541	<i>CG12541</i>	2.0
CG7917	<i>Nlp</i>	2.0
CG12845	<i>Tsp42Ef</i>	2.0
CG12117	<i>Sptr</i>	2.0
CG7288	<i>CG7288</i>	2.0
CG40043		2.0
CG1021	<i>CG1021</i>	2.0
CG11404	<i>CG11404</i>	2.0
CG8299	<i>CG8299</i>	2.0
CG30264	<i>CG30264</i>	2.0
CG8363	<i>Paps</i>	2.0
CG15729	<i>CG15729</i>	2.0
CG30183	<i>CG30183</i>	2.0
CG10959	<i>CG10959</i>	2.0
CG4039	<i>Mcm6</i>	2.0
CG31668	<i>CG31668</i>	2.0
CG14773	<i>CG14773</i>	2.0
CG31481	<i>pb</i>	2.0
CG31804	<i>CG31804</i>	2.0
CG11852	<i>CG11852</i>	1.9
CG5027	<i>CG5027</i>	1.9
CG8369	<i>CG8369</i>	1.9
CG31547	<i>CG31547</i>	1.9
CG12163		1.9
CG14550	<i>CG14550</i>	1.9
CG7851		1.9
CG8408	<i>CG8408</i>	1.9
CG14805	<i>CG14805</i>	1.9
CG10688	<i>CG10688</i>	1.9
CG5062	<i>CG5062</i>	1.9
CG10855	<i>CG10855</i>	1.9
CG30401	<i>CG30401</i>	1.9
CG30479	<i>CG30479</i>	1.9
CG3540	<i>Cyp4d14</i>	1.9
CG1925	<i>mus205</i>	1.9
CG9484	<i>hyd</i>	1.9
CG17118	<i>CG17118</i>	1.9
CG16857	<i>CG16857</i>	1.9
CG30285	<i>CG30285</i>	1.9
CG9438	<i>Cyp6a2</i>	1.9
CG16792	<i>DebB</i>	1.9
CG7959	<i>Bgb</i>	1.9
CG15604		1.9
CG30269	<i>CG30269</i>	1.9
CG5971	<i>CG5971</i>	1.9
CG8414	<i>CG8414</i>	1.9
CG10165	<i>CG10165</i>	1.9
CG8524		1.9
CG8888	<i>CG8888</i>	1.9
CG9934	<i>CG9934</i>	1.9
CR33356		1.9
CG12171	<i>CG12171</i>	1.8
CG30076	<i>CG30076</i>	1.8
CG12253	<i>CG12253</i>	1.8
CG10750	<i>CG10750</i>	1.8
CG1973	<i>CG1973</i>	1.8
CG7697	<i>CstF-64</i>	1.8
CG17226	<i>Or59c</i>	1.8
CG11397	<i>glu</i>	1.8
CG2127	<i>CG2127</i>	1.8
CG16758	<i>CG16758</i>	1.8
CG13991	<i>CG13991</i>	1.8
CG31426	<i>ligatin</i>	1.8

CG15711	<i>CG15711</i>	1.8	CG6363	<i>MRG15</i>	1.7
CG17011	<i>lectin-30A</i>	1.8	CG13101	<i>CG13101</i>	1.7
CG11626	<i>CG11626</i>	1.8	CG40390		1.7
CG40080		1.8	CG6696	<i>CG6696</i>	1.7
CG3981	<i>Unc-76</i>	1.8	CG17757	<i>CG17757</i>	1.7
CG5576	<i>imd</i>	1.8	CG10711	<i>CG10711</i>	1.7
CG1676	<i>cactin</i>	1.8	CG2163	<i>Pabp2</i>	1.7
CG3973	<i>CG3973</i>	1.8	CG33084		1.7
CG9543	<i>CG9543</i>	1.8	CG18449	<i>CG18449</i>	1.7
CG16777	<i>CG16777</i>	1.8	CG11600	<i>CG11600</i>	1.7
CG7873	<i>Src42A</i>	1.8	CG9474	<i>Snap24</i>	1.7
CG10969	<i>CG10969</i>	1.8	CG14827	<i>mei-P22</i>	1.7
CG33478	<i>Or46a</i>	1.8	CG13334	<i>CG13334</i>	1.7
CG14049	<i>llp6</i>	1.8	CG32754	<i>vanin-like</i>	1.7
CG3021	<i>CG3021</i>	1.8	CG1937	<i>sip3</i>	1.7
CG8288	<i>mRpL3</i>	1.8	CG33146	<i>Mctp</i>	1.7
CG14151	<i>CG14151</i>	1.8	CG7440	<i>tgy</i>	1.7
CG2929		1.8	CG31421	<i>Tak1</i>	1.7
CG10999	<i>CG10999</i>	1.8	CG6163	<i>CG6163</i>	1.7
CG11164	<i>CG11164</i>	1.8	CG32498	<i>dnc</i>	1.7
CG15062		1.8	CG18636		1.7
CG1977		1.8	CG13999	<i>CG13999</i>	1.7
CG18273	<i>CG18273</i>	1.8	CG8360	<i>CG8360</i>	1.7
CG31478	<i>mRpL9</i>	1.8	CG2091	<i>CG2091</i>	1.7
CG30161	<i>CG30161</i>	1.8	CG32032	<i>CG32032</i>	1.7
CG14891	<i>CG14891</i>	1.8	CG9506	<i>slam</i>	1.7
CG17149	<i>CG17149</i>	1.8	CG1898	<i>HBS1</i>	1.7
CG6271	<i>CG6271</i>	1.8	CG4038	<i>CG4038</i>	1.7
CG32763	<i>l(1)G0045</i>	1.8	CG1429	<i>Mef2</i>	1.7
CG6410	<i>CG6410</i>	1.8	CG17184	<i>CG17184</i>	1.7
CG15055	<i>CG15055</i>	1.8	CG5342	<i>CG5342</i>	1.7
CG18363	<i>CG18363</i>	1.7	CG7999	<i>MED24</i>	1.7
CG14125	<i>CG14125</i>	1.7	CG14523	<i>CG14523</i>	1.7
CG17186	<i>CG17186</i>	1.7	CG11168	<i>CG11168</i>	1.7
CG15777	<i>CG15777</i>	1.7	CG11307	<i>CG11307</i>	1.7
CG1888	<i>CG1888</i>	1.7	CG30163	<i>CG30163</i>	1.7
CG12104	<i>CG12104</i>	1.7	CG7933	<i>janA</i>	1.7
CG7908	<i>Tace</i>	1.7	CG10138	<i>PpD5</i>	1.7
CG15005	<i>CG15005</i>	1.7	CG8591	<i>CTCF</i>	1.7
CG1815	<i>CG1815</i>	1.7	CG7450	<i>CrebA</i>	1.7
CG3223	<i>CG3223</i>	1.7	CG14542	<i>CG14542</i>	1.7
CG5430	<i>a5</i>	1.7	CG4946	<i>CG4946</i>	1.7
CG14079	<i>CG14079</i>	1.7	CG14672	<i>Spec2</i>	1.7
CG4950	<i>CG4950</i>	1.7	CG11630	<i>CG11630</i>	1.7
CG9483	<i>CG9483</i>	1.7	CG15314	<i>CG15314</i>	1.6
CG1690	<i>CG1690</i>	1.7	CG30329	<i>Vha100-3</i>	1.6
CG9154	<i>CG9154</i>	1.7	CG18251		1.6
CG9115	<i>myotubularin</i>	1.7	CG32713	<i>CG32713</i>	1.6
CG18102		1.7	CG33136	<i>CG33136</i>	1.6
CG14617	<i>CG14617</i>	1.7	CG6059	<i>CG6059</i>	1.6
CG12689	<i>CG12689</i>	1.7	CG33344		1.6
CG18013	<i>CG18013</i>	1.7	CG7903	<i>CG7903</i>	1.6
CG17737	<i>CG17737</i>	1.7	CG10286	<i>CG10286</i>	1.6
CG15077	<i>Cyp12b2</i>	1.7	CG4899	<i>Pdh</i>	1.6
CG18536	<i>CG18536</i>	1.7	CR41115		1.6

CG9406	<i>CG9406</i>	1.6	CG10093	<i>Cyp313a3</i>	1.6
CG11411	<i>fs(1)N</i>	1.6	CG30182	<i>CG30182</i>	1.6
CG31464	<i>CG31464</i>	1.6	CG31128	<i>CG31128</i>	1.6
CG6939	<i>Sbf</i>	1.6	CG31031	<i>CG31031</i>	1.6
CG32561	<i>xmas-1</i>	1.6	CG10620	<i>Tsf2</i>	1.6
CG18039	<i>KaiRIA</i>	1.6	CG32016	<i>CG32016</i>	1.6
CG33005		1.6	CG6046	<i>Bin1</i>	1.6
CG1372	<i>yl</i>	1.6	CG15671	<i>cv-2</i>	1.6
CG9595	<i>osm-6</i>	1.6	CG17623	<i>CG17623</i>	1.6
CG7331	<i>CG7331</i>	1.6	CG9413	<i>CG9413</i>	1.6
CG14147	<i>CG14147</i>	1.6	CG15514	<i>CG15514</i>	1.6
CG18321	<i>miple2</i>	1.6	CG17172		1.6
CG9403	<i>jing</i>	1.6	CG17082		1.6
CG7773	<i>fidipidine</i>	1.6	CG7764	<i>Tfb2</i>	1.6
CG11734	<i>HERC2</i>	1.6	CG17141	<i>CG17141</i>	1.6
CG40383		1.6	CG9861	<i>CG9861</i>	1.6
CG10311	<i>CG10311</i>	1.6	CG8390	<i>vlc</i>	1.6
CG6639	<i>CG6639</i>	1.6	CG4944	<i>cib</i>	1.6
CG15664		1.6	CG3167	<i>CG3167</i>	1.6
CG17282	<i>CG17282</i>	1.6	CG14799	<i>CG14799</i>	1.6
CG3074	<i>CG3074</i>	1.6	CG6292	<i>CycT</i>	1.6
CG7860	<i>CG7860</i>	1.6	CG30189	<i>Gr59a</i>	1.6
CG15256	<i>CG15256</i>	1.6	CG31923	<i>CG31923</i>	1.6
CG15313	<i>CG15313</i>	1.6	CG10077	<i>CG10077</i>	1.6
CG14627	<i>CG14627</i>	1.6	CG8236	<i>CG8236</i>	1.5
CG14568	<i>CG14568</i>	1.6	CG8203	<i>Cdk5</i>	1.5
CG32407	<i>CG32407</i>	1.6	CG5815	<i>CG5815</i>	1.5
CG31618	<i>His2A:CG31618</i>	1.6	CG30287	<i>CG30287</i>	1.5
CG11709	<i>PGRP-SA</i>	1.6	CG32814	<i>CG32814</i>	1.5
CG8506	<i>CG8506</i>	1.6	CG3285	<i>CG3285</i>	1.5
CG14708	<i>CG14708</i>	1.6	CG18001		1.5
CG5219	<i>mRpL15</i>	1.6	CG4709	<i>CG4709</i>	1.5
CG13363	<i>Suv4-20</i>	1.6	CG15771	<i>CG15771</i>	1.5
CG13279	<i>Cyt-b5-r</i>	1.6	CG14102	<i>CG14102</i>	1.5
CG31092	<i>LpR2</i>	1.6	CG8405	<i>CG8405</i>	1.5
CG13026	<i>CG13026</i>	1.6	CG15277	<i>CG15277</i>	1.5
CG32301	<i>CG32301</i>	1.6	CG8920	<i>CG8920</i>	1.5
CG5549	<i>CG5549</i>	1.6	CG15245	<i>CG15245</i>	1.5
CG16886	<i>CG16886</i>	1.6	CG9160	<i>mtacp1</i>	1.5
CG13248	<i>CG13248</i>	1.6	CG10098	<i>CG10098</i>	1.5
CG7941	<i>CG7941</i>	1.6	CG9337		1.5
CG6186	<i>Tsf1</i>	1.6	CG30173	<i>SIP1</i>	1.5
CG5167	<i>CG5167</i>	1.6	CG6514	<i>TpnC25D</i>	1.5
CG17959	<i>CG17959</i>	1.6	CG13157	<i>CG13157</i>	1.5
CG9463	<i>CG9463</i>	1.6	CG31639	<i>CG31639</i>	1.5
CG15876	<i>CG15876</i>	1.6	CG5834	<i>Hsp70Bbb</i>	1.5
CG15760	<i>CG15760</i>	1.6	CG11030	<i>CG11030</i>	1.5
CG7741	<i>CG7741</i>	1.6	CG12283	<i>kek1</i>	1.5
CG8370	<i>CG8370</i>	1.6	CG3488	<i>CG3488</i>	1.5
CG2093	<i>CG2093</i>	1.6	CG10810	<i>Drs</i>	1.5
CG15218	<i>CycK</i>	1.6	CG16799	<i>CG16799</i>	1.5
CG8979	<i>CG8979</i>	1.6	CG31976	<i>CG31976</i>	1.5
CG12818	<i>CG12818</i>	1.6	CG8132	<i>CG8132</i>	1.5
CG12321	<i>CG12321</i>	1.6	CG7386	<i>CG7386</i>	1.5
CG15458	<i>CG15458</i>	1.6	CG5889	<i>Mdh</i>	1.5

CG7921	<i>Mgat2</i>	1.5
CG3508	<i>CG3508</i>	1.5
CG11066	<i>scarface</i>	1.5
CG11201	<i>CG11201</i>	1.5
CG5499	<i>His2Av</i>	1.5
CG4924	<i>icl</i>	1.5
CG3982	<i>CG3982</i>	1.5
CG7943	<i>CG7943</i>	1.5
CG9882	<i>Art7</i>	-1.5
CG62248		-1.5
CG14059	<i>CG14059</i>	-1.5
CG16903	<i>CG16903</i>	-1.5
CG7730	<i>CG7730</i>	-1.5
CG9856	<i>PTP-ER</i>	-1.5
CG5384	<i>CG5384</i>	-1.5
CG11461		-1.5
CG4363	<i>CG4363</i>	-1.5
CG3353	<i>CG3353</i>	-1.6
CG32313	<i>CG32313</i>	-1.6
CG4813	<i>CG4813</i>	-1.6
CG9577	<i>CG9577</i>	-1.6
CG1742	<i>Mgstl</i>	-1.6
CG8948	<i>Graf</i>	-1.6
CG31301	<i>CG31301</i>	-1.6
CG183433		-1.6
CG13278	<i>CG13278</i>	-1.6
CG10108	<i>phyl</i>	-1.6
CG1236	<i>CG1236</i>	-1.6
CG5191	<i>CG5191</i>	-1.6
CG8007	<i>CG8007</i>	-1.6
CG12085	<i>pUf68</i>	-1.6
CG5492	<i>Tsp74F</i>	-1.6
CG13463	<i>CG13463</i>	-1.6
CG1841	<i>CG1841</i>	-1.6
CG44670		-1.6
CG12119	<i>CG12119</i>	-1.6
CG11901		-1.6
CG8448	<i>mrj</i>	-1.6
CG3941	<i>pita</i>	-1.6
CG8877	<i>CG8877</i>	-1.6
CG2054	<i>Cht2</i>	-1.6
CG32556	<i>CG32556</i>	-1.6
CG2209	<i>CG2209</i>	-1.6
CG10207	<i>NaPi-T</i>	-1.6
CG7668	<i>CG7668</i>	-1.6
CG4641	<i>CG4641</i>	-1.7
CG5580	<i>sbb</i>	-1.7
CG14904	<i>Scp2</i>	-1.7
CG2247	<i>CG2247</i>	-1.7
CG6492	<i>Ucp4A</i>	-1.7
CG5336	<i>Ced-12</i>	-1.7
CG32038	<i>CG32038</i>	-1.7
CG18428	<i>CG18428</i>	-1.7
CG8914		-1.7
CG14080	<i>Mkp3</i>	-1.7

CG32417	<i>Myt1</i>	-1.7
CG33083	<i>Gr97a</i>	-1.7
CG4590	<i>inx2</i>	-1.7
CG5920	<i>sop</i>	-1.7
CG4163	<i>Cyp303a1</i>	-1.7
CG332170		-1.7
CG14820	<i>CG14820</i>	-1.7
CG30177	<i>CG30177</i>	-1.7
CG8085	<i>RN-tre</i>	-1.7
CG30485	<i>CG30485</i>	-1.7
CG7749	<i>fat2</i>	-1.7
CG5266	<i>Pros25</i>	-1.7
CG1571	<i>CG1571</i>	-1.7
CG12899	<i>CG12899</i>	-1.7
CG3244	<i>CG3244</i>	-1.8
CG5654	<i>yps</i>	-1.8
CG3423	<i>SA</i>	-1.8
CG10287	<i>Gasp</i>	-1.8
CG7695	<i>CG7695</i>	-1.8
CG7912	<i>CG7912</i>	-1.8
CG15081	<i>l(2)03709</i>	-1.8
CG32353	<i>CG32353</i>	-1.8
CG6750	<i>CG6750</i>	-1.8
CG14229	<i>CG14229</i>	-1.8
CG7593	<i>CG7593</i>	-1.8
CG8409	<i>Su(var)205</i>	-1.8
CG11418	<i>CG11418</i>	-1.8
CG13861	<i>CG13861</i>	-1.8
CG41120		-1.8
CG11786	<i>CG11786</i>	-1.8
CG6767	<i>CG6767</i>	-1.8
CG92961		-1.8
CG2253	<i>Upf2</i>	-1.8
CG15200	<i>CG15200</i>	-1.8
CG11219	<i>PIP82</i>	-1.8
CG7259	<i>Best4</i>	-1.8
CG9717	<i>CG9717</i>	-1.8
CG109431		-1.8
CG31110	<i>CG31110</i>	-1.8
CG1275		-1.8
CG17905	<i>CG17905</i>	-1.8
CG14872	<i>CG14872</i>	-1.8
CG11893	<i>CG11893</i>	-1.8
CG33503	<i>Cyp12d1-d</i>	-1.8
CG6989		-1.8
CG7188	<i>CG7188</i>	-1.8
CG5792	<i>CG5792</i>	-1.8
CG11330	<i>cort</i>	-1.9
CG17562	<i>CG17562</i>	-1.9
CG33321		-1.9
CG4326	<i>mRpS17</i>	-1.9
CG33197	<i>mbl</i>	-1.9
CG15744		-1.9
CG7825	<i>Rad17</i>	-1.9
CG6852	<i>CG6852</i>	-1.9

CG18654	<i>Dgk</i>	-1.9
CG2890	<i>PPP4R2r</i>	-1.9
CG3589	<i>CG3589</i>	-1.9
CG13634	<i>CG13634</i>	-1.9
CG10344	<i>CG10344</i>	-1.9
CG9571	<i>CG9571</i>	-1.9
CG31304	<i>CG31304</i>	-1.9
CG30051	<i>CG30051</i>	-1.9
CG1693	<i>tty</i>	-1.9
CG5300	<i>Klp31E</i>	-1.9
CG32447	<i>CG32447</i>	-1.9
CG1124	<i>CG1124</i>	-1.9
CG172710		-1.9
CG5784	<i>Mapmodulin</i>	-1.9
CG6143	<i>Pep</i>	-2.0
CG9620	<i>Gfr</i>	-2.0
CG7919		-2.0
CG8282	<i>Snx6</i>	-2.0
CG15708	<i>CG15708</i>	-2.0
CG2411	<i>ptc</i>	-2.0
CG15286	<i>CG15286</i>	-2.0
CG4928		-2.0
CG30460	<i>CG30460</i>	-2.0
CG6455	<i>CG6455</i>	-2.0
CG40091		-2.0
CG32029	<i>CG32029</i>	-2.0
CG5969	<i>CG5969</i>	-2.0
CG4654	<i>Dp</i>	-2.0
CG9712	<i>TSG101</i>	-2.0
CG17489		-2.0
CG2813	<i>CG2813</i>	-2.0
CG149409		-2.0
CG4790	<i>fs(1)M3</i>	-2.1
CG5502	<i>RpL4</i>	-2.1
CG8476	<i>CG8476</i>	-2.1
CG6354	<i>Rb97D</i>	-2.1
CG18179	<i>CG18179</i>	-2.1
CG30385	<i>CG30385</i>	-2.1
CG8200	<i>Flo</i>	-2.1
CG12754	<i>Or42b</i>	-2.1
CG9333	<i>Oseg5</i>	-2.1
CG12301	<i>CG12301</i>	-2.1
CG10428	<i>CG10428</i>	-2.1
CG15020	<i>CG15020</i>	-2.1
CG9294	<i>CG9294</i>	-2.1
CG12358	<i>Paip2</i>	-2.1
CG5854	<i>CG5854</i>	-2.1
CG13085	<i>CG13085</i>	-2.1
CG8972	<i>rho-7</i>	-2.1
CG30029	<i>CG30029</i>	-2.1
CG10102	<i>CG10102</i>	-2.1
CG2512		-2.2
CG5330	<i>Nap1</i>	-2.2
CG3731	<i>CG3731</i>	-2.2
CG11235	<i>CG11235</i>	-2.2

CG10952	<i>eag</i>	-2.2
CG1600	<i>CG1600</i>	-2.2
CG33156	<i>CG33156</i>	-2.2
CG11143	<i>Inos</i>	-2.2
CG8638	<i>CG8638</i>	-2.2
CG10755	<i>Cyp4ae1</i>	-2.2
CG6364	<i>CG6364</i>	-2.2
CG11242	<i>CG11242</i>	-2.2
CG5809	<i>CaBP1</i>	-2.2
CG3411	<i>bs</i>	-2.2
CG8226	<i>Tom7</i>	-2.2
CG3858	<i>gcm2</i>	-2.2
CG182132		-2.2
CG14214	<i>sec61gamma</i>	-2.2
CG15199	<i>CG15199</i>	-2.3
CG91954		-2.3
CG2444	<i>CG2444</i>	-2.3
CG2336	<i>CG2336</i>	-2.3
CG2986	<i>oho23B</i>	-2.3
CG15536	<i>CG15536</i>	-2.3
CG14667	<i>CG14667</i>	-2.3
CG31324	<i>CG31324</i>	-2.3
CG7638	<i>CG7638</i>	-2.3
CG16724	<i>tra</i>	-2.3
CG3565	<i>CG3565</i>	-2.3
CG6348		-2.3
CG31308	<i>CG31308</i>	-2.3
CG14243	<i>CG14243</i>	-2.3
CG13190	<i>CG13190</i>	-2.3
CG11793	<i>Sod</i>	-2.3
CG7864	<i>CG7864</i>	-2.3
CG10307	<i>CG10307</i>	-2.4
CG40460		-2.4
CG9745	<i>D1</i>	-2.4
CG6772	<i>Slob</i>	-2.4
CG6232	<i>CG6232</i>	-2.4
CG16793	<i>CG16793</i>	-2.4
CG17047	<i>CG17047</i>	-2.4
CG16755	<i>Or85f</i>	-2.4
CG9284	<i>CG9284</i>	-2.4
CG14888	<i>CG14888</i>	-2.4
CG4067	<i>pug</i>	-2.4
CG33104	<i>eca</i>	-2.4
CG10296	<i>CG10296</i>	-2.4
CG4869		-2.4
CG9742	<i>CG9742</i>	-2.4
CG2519	<i>CG2519</i>	-2.4
CG312941		-2.4
CG1623	<i>CG1623</i>	-2.5
CG8726	<i>CG8726</i>	-2.5
CG17498	<i>mad2</i>	-2.5
CG1149	<i>MstProx</i>	-2.5
CG15172	<i>CG15172</i>	-2.5
CG10717	<i>ImpL1</i>	-2.5
CG8280		-2.5

CG1507		-2.5
CG10281		-2.5
CG3810	<i>Edem-1</i>	-2.5
CG10989	<i>CG10989</i>	-2.5
CG9358		-2.6
CG3769	<i>CG3769</i>	-2.6
CG11642	<i>CG11642</i>	-2.6
CG33256		-2.6
CG25200		-2.6
CG332962		-2.7
CG10591	<i>CG10591</i>	-2.7
CG15871	<i>mRpL38</i>	-2.7
CG14324	<i>CG14324</i>	-2.7
CG9335	<i>CG9335</i>	-2.7
CG7519	<i>CG7519</i>	-2.7
CG12993	<i>CG12993</i>	-2.7
CG9356	<i>CG9356</i>	-2.8
CG15080	<i>CG15080</i>	-2.8
CG9761	<i>Nep2</i>	-2.8
CG4851	<i>CG4851</i>	-2.9
CG33293		-2.9
CG2331	<i>TER94</i>	-2.9
CG6137	<i>aub</i>	-2.9
CG7953	<i>CG7953</i>	-2.9
CG6949	<i>mRpL45</i>	-2.9
CG8073	<i>Pmm45A</i>	-3.0
CG13202	<i>CG13202</i>	-3.0
CG4265	<i>Uch</i>	-3.0
CG9897	<i>CG9897</i>	-3.0
CG13073	<i>CG13073</i>	-3.0
CG11153		-3.0
CG5522	<i>CG5522</i>	-3.0
CG31784	<i>CG31784</i>	-3.1
CG31778	<i>CG31778</i>	-3.1
CG10079	<i>EGFR</i>	-3.1
CG31509	<i>TotA</i>	-3.2
CG3903	<i>Gli</i>	-3.2
CG4144	<i>GNBP2</i>	-3.3
CG5505	<i>mule</i>	-3.4
CR32910		-3.4
CG108161		-3.4
CG9695	<i>Dab</i>	-3.5
CG11091		-3.5
CG17105	<i>CG17105</i>	-3.5
CG8745	<i>CG8745</i>	-3.5
CG8231	<i>I(1)G0022</i>	-3.5
CG7704	<i>Taf5</i>	-3.6
CG5366	<i>CG5366</i>	-3.6
CG4266	<i>CG4266</i>	-3.6
CG7201	<i>CG7201</i>	-3.6
CG11650	<i>Lcp1</i>	-3.7
CG7429	<i>CG7429</i>	-3.7
CG31345	<i>CG31345</i>	-3.8
CG8959	<i>CG8959</i>	-4.0
CG33467		-4.1
CG8008	<i>CG8008</i>	-4.1
CG7899	<i>Acph-1</i>	-4.3
CG1495	<i>CaMKI</i>	-4.3
CG7595	<i>ck</i>	-4.4
CG4686	<i>CG4686</i>	-4.4
CG9034	<i>CG9034</i>	-4.4
CG10604	<i>bsh</i>	-4.4
CG4917	<i>wfs1</i>	-4.4
CG15887	<i>CG15887</i>	-4.6
CG7231	<i>CG7231</i>	-4.6
CG8589	<i>CG8589</i>	-4.6
CG11856	<i>Nup358</i>	-4.6
CG7292	<i>Rrp6</i>	-4.6
CG33468		-4.8
CG6803		-4.9
CG3483	<i>CG3483</i>	-4.9
CG18088	<i>CG18088</i>	-4.9
CG7756	<i>Hsc70-2</i>	-5.3
CG31776	<i>CG31776</i>	-5.4
CG4000	<i>CG4000</i>	-5.7
CG1082		-5.8
CG40001		-5.9
CG3764	<i>CG3764</i>	-6.1
CG30080	<i>CG30080</i>	-6.4
CG10808	<i>synaptogyrin</i>	-6.5
CG114943		-6.7
CG4852	<i>Sras</i>	-7.9
CG6769	<i>CG6769</i>	-8.1
CG7171	<i>Uro</i>	-8.7
CG15817	<i>CG15817</i>	-14.4
CG7161	<i>Oseg1</i>	-14.6
CG7311	<i>CG7311</i>	-15.4
CG15282	<i>CG15282</i>	-17.1
CG5255	<i>CG5255</i>	-17.2
CG6674	<i>CG6674</i>	-17.4
CG15785		-25.4

V. NP1-Gal4xw¹¹¹⁸/NP1-Gal4xUAS-ORMDL

Gen-ID	Gen-Symbol	relative Expression			
CG8084	<i>ana</i>	6.3	CG32856	<i>CG32856</i>	2.7
CG1662	<i>CG1662</i>	4.6	CG15909	<i>CG15909</i>	2.6
CG3954	<i>csw</i>	4.2	CG13442	<i>CG13442</i>	2.6
CG7362	<i>CG7362</i>	4.2	CG10604	<i>bsh</i>	2.6
CG12959	<i>CG43223</i>	4.1	CG6567	<i>CG6567</i>	2.6
CG7638	<i>CG7638</i>	4.0	CG14210	<i>CG14210</i>	2.6
CG12158	<i>CG12158</i>	4.0	CG32140	<i>nuf</i>	2.6
CG12909	<i>CG12909</i>	4.0	CG4205	<i>Fdxh</i>	2.6
CG5300	<i>Klp31E</i>	4.0	CG9163	<i>mmd</i>	2.5
CG1126	<i>CG1126</i>	3.9	CG14780	<i>CG14780</i>	2.5
CG4869	<i>betaTub97EF</i>	3.9	CG1634	<i>Nrg</i>	2.5
CG7227	<i>CG7227</i>	3.8	CG5184	<i>mRpS11</i>	2.5
CG5020	<i>CLIP-190</i>	3.7	CG15873	<i>CG15873</i>	2.5
CG9354	<i>RpL34b</i>	3.7	CG7282	<i>CG34422</i>	2.5
CG4341	<i>CG4341</i>	3.6	CG6768	<i>DNApol-epsilon</i>	2.5
CG16812	<i>CG16812</i>	3.5	CG17922	<i>CG17922</i>	2.5
CG4249	<i>c(2)M</i>	3.5	CG31840	<i>CG31840</i>	2.4
CG16793	<i>brv2</i>	3.4	CG15097	<i>CG15097</i>	2.4
CG14502	<i>CG14502</i>	3.4	CG14283	<i>mRpL55</i>	2.4
CG12223	<i>Dsp1</i>	3.4	CG2186	<i>CG2186</i>	2.4
CG4914	<i>CG4914</i>	3.2	CG32737	<i>CG33692</i>	2.4
CG7912	<i>CG7912</i>	3.2	CG10233	<i>rtp</i>	2.4
CG16713	<i>CG16713</i>	3.2	CG4187	<i>CG34411</i>	2.4
CG31451	<i>CR31451</i>	3.1	CG40044	<i>CG40044</i>	2.4
CG9195	<i>Scamp</i>	3.1	CG5157	<i>CG5157</i>	2.4
CG15883	<i>Obp18a</i>	3.1	CG11303	<i>TM4SF</i>	2.3
CG6461	<i>Ggt-1</i>	3.1	CR31969	<i>CR31969</i>	2.3
CG14059	<i>CG14059</i>	3.1	CG6155	<i>Roe1</i>	2.3
CG4372	<i>CG4372</i>	3.0	CG3421	<i>RhoGAP93B</i>	2.3
CG8007	<i>CG42796</i>	3.0	CG14417	<i>CG14417</i>	2.3
CG32278	<i>CG32278</i>	3.0	CG30121	<i>CR30121</i>	2.3
CG11247	<i>CG11247</i>	3.0	CG2047	<i>ftz</i>	2.3
CG5654	<i>yps</i>	3.0	CG5505	<i>scny</i>	2.3
CG13079	<i>CG13079</i>	2.9	CG7935	<i>msk</i>	2.3
CG5242	<i>mRpL40</i>	2.9	CG4805	<i>ppk28</i>	2.2
CG32954	<i>Adhr</i>	2.9	CG11983	<i>CG11983</i>	2.2
CG12105	<i>CG12105</i>	2.9	CG3655	<i>CG3655</i>	2.2
CG13211	<i>CG42336</i>	2.9	CG10076	<i>spir</i>	2.2
CG8544	<i>sd</i>	2.9	CG12913	<i>CG12913</i>	2.2
CG4157	<i>Rpn12</i>	2.9	CG10755	<i>Cyp4ae1</i>	2.2
CG14982	<i>CG14982</i>	2.8	CG4118	<i>nxf2</i>	2.2
CG32268	<i>dro6</i>	2.8	CG16902	<i>Hr4</i>	2.2
CG7919	<i>fan</i>	2.8	CG5479	<i>mRpL43</i>	2.2
CG31115	<i>CG31115</i>	2.8	CG8396	<i>Ssb-c31a</i>	2.2
CG16901	<i>sqd</i>	2.8	CG13881	<i>CG42377</i>	2.2
CG4952	<i>dac</i>	2.8	CG15080	<i>CG15080</i>	2.2
CG32956	<i>Chrac-14</i>	2.8	CG7509	<i>CG7509</i>	2.2
CG8697	<i>Lcp2</i>	2.7	CG12373	<i>mRpL18</i>	2.2
CG32031	<i>Argk</i>	2.7	CG6354	<i>Rb97D</i>	2.2
CG9748	<i>bel</i>	2.7	CG18012	<i>CG18012</i>	2.2
CG11242	<i>CG11242</i>	2.7	CG13631	<i>CG13631</i>	2.2
CG15811	<i>Rop</i>	2.7	CG5969	<i>CG5969</i>	2.2
			CG4648	<i>CG42399</i>	2.2
			CG8562	<i>CG8562</i>	2.2

CG13101	<i>CG13101</i>	2.2
CG6883	<i>trh</i>	2.2
CG8252	<i>CG8252</i>	2.2
CG2685	<i>CG2685</i>	2.2
CG16987	<i>daw</i>	2.2
CG6094	<i>CG6094</i>	2.1
CG15085	<i>edl</i>	2.1
CG9356	<i>CG9356</i>	2.1
CG4307	<i>Oscp</i>	2.1
CG15887	<i>CG15887</i>	2.1
CG7039	<i>CG7039</i>	2.1
CG17904	<i>CG17904</i>	2.1
CG2519	<i>CG2519</i>	2.1
CG9834	<i>endoB</i>	2.1
CG14057	<i>CG14057</i>	2.1
CG12753	<i>ema</i>	2.1
CG12650	<i>CG12650</i>	2.1
CG5497	<i>mRpS28</i>	2.1
CG13996	<i>CG13996</i>	2.1
CG7272	<i>CG7272</i>	2.0
CG4536	<i>iav</i>	2.0
CG12355	<i>CG12355</i>	2.0
CG3244	<i>Clect27</i>	2.0
CG31483	<i>Pif2</i>	2.0
CG13893	<i>CG13893</i>	2.0
CG4590	<i>inx2</i>	2.0
CG12992	<i>CG12992</i>	2.0
CG12899	<i>CG42732</i>	2.0
CG9882	<i>Art7</i>	2.0
CG32715	<i>CG32715</i>	2.0
CG16903	<i>CG16903</i>	2.0
CG10679	<i>Nedd8</i>	2.0
CG15817	<i>CG15817</i>	2.0
CG40460	<i>CG17162</i>	1.9
CG6610	<i>CG6610</i>	1.9
CG5108	<i>mRpS7</i>	1.9
CG9411	<i>CG9411</i>	1.9
CG32070	<i>CG32070</i>	1.9
CG10591	<i>CG10591</i>	1.9
CG17290	<i>CG17290</i>	1.9
CG12279	<i>CG12279</i>	1.9
CG14313	<i>CG14313</i>	1.9
CG8888	<i>CG8888</i>	1.9
CG31314	<i>Neu3</i>	1.9
CG11138	<i>CG11138</i>	1.9
CG11113	<i>CG11113</i>	1.9
CG4637	<i>hh</i>	1.9
CG13786	<i>CG13786</i>	1.9
CG7749	<i>kug</i>	1.9
CG6000	<i>CG6000</i>	1.9
CG15168	<i>CG15168</i>	1.9
CG14567	<i>CG14567</i>	1.9
CG7945	<i>CG7945</i>	1.9
CG15096	<i>CG15096</i>	1.9
CG8195	<i>CG8195</i>	1.9

CG8585	<i>lh</i>	1.9
CG2021	<i>CG2021</i>	1.9
CG6304	<i>CG6304</i>	1.8
CG10851	<i>B52</i>	1.8
CG16817	<i>CG16817</i>	1.8
CG11785	<i>bai</i>	1.8
CG7016	<i>CG7016</i>	1.8
CG11259	<i>MICAL-like</i>	1.8
CG7542	<i>CG7542</i>	1.8
CG11489	<i>srpk79D</i>	1.8
CG10414	<i>Atac2</i>	1.8
CG17341	<i>CG17341</i>	1.8
CG18816	<i>Tsp42Eb</i>	1.8
CG1490	<i>Usp7</i>	1.8
CG13365	<i>CG13365</i>	1.8
CG13717	<i>axo</i>	1.8
CG40203	<i>CG40203</i>	1.8
CG7035	<i>Cbp80</i>	1.8
CG6903	<i>CG6903</i>	1.8
CG10472	<i>CG10472</i>	1.8
CG7051	<i>CG7051</i>	1.7
CG7186	<i>SAK</i>	1.7
CG17777	<i>CG17777</i>	1.7
CG12007	<i>CG12007</i>	1.7
CG32511	<i>CR32511</i>	1.7
CG13106	<i>Or30a</i>	1.7
CG15443	<i>CG15443</i>	1.7
CG9745	<i>D1</i>	1.7
CG8734	<i>beta3GalTII</i>	1.7
CG3352	<i>ft</i>	1.7
CG4281	<i>CG4281</i>	1.7
CG33129	<i>CG33129</i>	1.7
CG14253	<i>CG14253</i>	1.7
CG40452	<i>Snap25</i>	1.7
CG3195	<i>RpL12</i>	1.7
CG10895	<i>lok</i>	1.7
CG2952	<i>CG42640</i>	1.7
CG10379	<i>mbc</i>	1.7
CG15020	<i>CG15020</i>	1.7
CG18178	<i>CG18178</i>	1.7
CG8959	<i>CG8959</i>	1.7
CG3445	<i>phol</i>	1.7
CG8268	<i>Srp9</i>	1.7
CG7772	<i>CG7772</i>	1.7
CG11793	<i>Sod</i>	1.7
CG8023	<i>eIF4E-3</i>	1.7
CG7622	<i>RpL36</i>	1.7
CG4730	<i>CG4730</i>	1.6
CG15389	<i>eyS</i>	1.6
CG5807	<i>CG5807</i>	1.6
CG9888	<i>Fib</i>	1.6
CG5605	<i>eRF1</i>	1.6
CG12176	<i>Lig4</i>	1.6
CG13070	<i>CG13070</i>	1.6
CG8046	<i>CG8046</i>	1.6

CG14214	<i>Sec61gamma</i>	1.6	CG18507	<i>CG18507</i>	-1.6
CG10812	<i>dro5</i>	1.6	CG32171	<i>Lmpt</i>	-1.6
CG13780	<i>Pvf2</i>	1.6	CG11686	<i>CG11686</i>	-1.6
CG11388	<i>CG11388</i>	1.6	CG9940	<i>CG9940</i>	-1.6
CG17577	<i>Cyp9h1</i>	1.6	CG4244	<i>Su(dx)</i>	-1.6
CG2931	<i>CG2931</i>	1.6	CG13190	<i>cuff</i>	-1.6
CG3762	<i>Vha68-2</i>	1.6	CG30166	<i>prom</i>	-1.6
CG9188	<i>sip2</i>	1.6	CG8038	<i>CG8038</i>	-1.6
CG32940	<i>Pif1B</i>	1.6	CG8282	<i>Snx6</i>	-1.6
CG9345	<i>Adgf-C</i>	1.6	CG1759	<i>cad</i>	-1.6
CG14817	<i>CG14817</i>	1.6	CG1158	<i>Tim17b1</i>	-1.6
CG10209	<i>CG10209</i>	1.6	CG1600	<i>CG1600</i>	-1.6
CG8905	<i>Sod2</i>	1.6	CG1867	<i>Or98b</i>	-1.6
CG7940	<i>Arp5</i>	1.6	CG5431	<i>CG5431</i>	-1.6
CG17521	<i>RpL10</i>	1.6	CG8261	<i>Ggamma1</i>	-1.6
CG2331	<i>TER94</i>	1.6	CG5930	<i>TfIIA-L</i>	-1.6
CG9281	<i>CG9281</i>	1.6	CR33313	<i>mir-100</i>	-1.6
CG33002	<i>mRpL27</i>	1.6	CG31268	<i>CG31268</i>	-1.6
CG7081	<i>pex2</i>	1.6	CG16749	<i>CG16749</i>	-1.6
CG9040	<i>CG9040</i>	1.6	CG16996	<i>Phae1</i>	-1.6
CG15283	<i>CG15283</i>	1.5	CG31355	<i>CG31355</i>	-1.7
CG6904	<i>CG6904</i>	1.5	CG32495	<i>CG32495</i>	-1.7
CG1063	<i>ltp-r83A</i>	1.5	CG6990	<i>HP1c</i>	-1.7
CG8520	<i>CG8520</i>	1.5	CG7259	<i>Best4</i>	-1.7
CG3661	<i>RpL23</i>	1.5	CG5461	<i>bun</i>	-1.7
CG8092	<i>row</i>	1.5	CG7108	<i>DNApol-alpha50</i>	-1.7
CG32483	<i>CG32483</i>	1.5	CG12883	<i>CG12883</i>	-1.7
CG1794	<i>Mmp2</i>	1.5	CG6300	<i>CG6300</i>	-1.7
CG5788	<i>UbcD10</i>	1.5	CG17631	<i>CG17631</i>	-1.7
CG9453	<i>Spn4</i>	1.5	CG9738	<i>Mkk4</i>	-1.7
CG7936	<i>mex1</i>	1.5	CG8563	<i>CG8563</i>	-1.7
CG4934	<i>brn</i>	1.5	CG3935	<i>al</i>	-1.7
CG15708	<i>CG15708</i>	1.5	CG5729	<i>Dgp-1</i>	-1.7
CG17835	<i>inv</i>	1.5	CG12052	<i>lola</i>	-1.7
CG12288	<i>CG12288</i>	-1.5	CG8709	<i>Lpin</i>	-1.7
CG3665	<i>Fas2</i>	-1.5	CG17770	<i>CG17770</i>	-1.7
CG6488	<i>CG6488</i>	-1.5	CG7924	<i>CG7924</i>	-1.7
CG4659	<i>Srp54k</i>	-1.5	CG1108	<i>alpha-Est6</i>	-1.7
CG9684	<i>CG9684</i>	-1.5	CG15013	<i>dyl</i>	-1.7
CG18258	<i>CG18258</i>	-1.5	CG10061	<i>Sas-4</i>	-1.7
CG17272	<i>CG17272</i>	-1.5	CG9907	<i>para</i>	-1.7
CG3351	<i>mRpL11</i>	-1.5	CG3702	<i>CG3702</i>	-1.7
CG6705	<i>tsl</i>	-1.5	CG15018	<i>CG33514</i>	-1.7
CG33255	<i>CG33255</i>	-1.5	CG6496	<i>Pdf</i>	-1.7
CG33453	<i>CG33453</i>	-1.5	CG6798	<i>nAcRbeta-96A</i>	-1.7
CG5279	<i>Rh5</i>	-1.5	CG4054	<i>Fili</i>	-1.7
CG13463	<i>CG13463</i>	-1.6	CG4212	<i>Rab14</i>	-1.7
CG10682	<i>vih</i>	-1.6	CG1154	<i>Osi12</i>	-1.7
CG30427	<i>CG30427</i>	-1.6	CG6521	<i>Stam</i>	-1.7
CG2976	<i>CG2976</i>	-1.6	CG8882	<i>Trip1</i>	-1.7
CG33461	<i>CG33461</i>	-1.6	CG2790	<i>CG2790</i>	-1.7
CG11052	<i>CG11052</i>	-1.6	CG7628	<i>CG42575</i>	-1.7
CG32068	<i>CG32068</i>	-1.6	CG5461	<i>bun</i>	-1.8
CG2112	<i>CG42233</i>	-1.6	CG2118	<i>CG2118</i>	-1.8
CG15354	<i>CG33543</i>	-1.6	CG7970	<i>CG7970</i>	-1.8

CG10956	<i>Spn53F</i>	-1.8
CG12217	<i>PpV</i>	-1.8
CG5676	<i>CG5676</i>	-1.8
CG32442	<i>CG32442</i>	-1.8
CG1818	<i>Updo</i>	-1.8
CG15740	<i>CG15740</i>	-1.8
CG6512	<i>CG6512</i>	-1.8
CG5869	<i>CG5869</i>	-1.8
CG11374	<i>CG11374</i>	-1.8
CG33273	<i>llp5</i>	-1.8
CG11427	<i>rb</i>	-1.8
CR30260	<i>tRNA:CR30260</i>	-1.8
CG1865	<i>Spn43Ab</i>	-1.8
CG9535	<i>mmy</i>	-1.8
CG14788	<i>ns3</i>	-1.8
CG13625	<i>CG13625</i>	-1.8
CG10659	<i>CG10659</i>	-1.8
CG1883	<i>RpS7</i>	-1.8
CG17592	<i>Usf</i>	-1.8
CG3401	<i>betaTub60D</i>	-1.8
CG7152	<i>Syn1</i>	-1.8
CG9245	<i>Pis</i>	-1.9
CG8828	<i>dgt5</i>	-1.9
CG10281	<i>TfllFalpha</i>	-1.9
CG14911	<i>CG42747</i>	-1.9
CG8956	<i>Ahcy89E</i>	-1.9
CG1800	<i>pasha</i>	-1.9
CG8920	<i>CG8920</i>	-1.9
CG8526	<i>CG8526</i>	-1.9
CG11975	<i>CG11975</i>	-1.9
CG32161	<i>CG32161</i>	-1.9
CG3322	<i>LanB2</i>	-1.9
CG10483	<i>CG10483</i>	-1.9
CG6041	<i>CG6041</i>	-1.9
CG17829	<i>CG17829</i>	-1.9
CG31826	<i>CG31826</i>	-1.9
CG6115	<i>CG6115</i>	-1.9
CG8932	<i>CG42235</i>	-1.9
CG1965	<i>CG1965</i>	-1.9
CG3772	<i>cry</i>	-1.9
CG1842	<i>Dhc98D</i>	-1.9
CG5292	<i>CG5292</i>	-1.9
CG12963	<i>CG12963</i>	-1.9
CG15019	<i>CG15019</i>	-2.0
CG31624	<i>CG31624</i>	-2.0
CG3849	<i>Lasp</i>	-2.0
CG17533	<i>GstE8</i>	-2.0
CG4364	<i>CG4364</i>	-2.0
CG17570	<i>CG17570</i>	-2.0
CG11913	<i>CG11913</i>	-2.0
CG30181	<i>CG30181</i>	-2.0
CR31490	<i>tRNA:K5:84ABd</i>	-2.0
CG11048	<i>CG11048</i>	-2.0
CG33308	<i>CG33308</i>	-2.0
CG17603	<i>Taf1</i>	-2.0

CG12905	<i>Obp46a</i>	-2.0
CG17642	<i>mRpL48</i>	-2.0
CG17704	<i>Nipped-B</i>	-2.1
CG5724	<i>CG5724</i>	-2.1
CG30373	<i>CG30373</i>	-2.1
CG1550	<i>CG1550</i>	-2.1
CG11765	<i>Prx2540-2</i>	-2.1
CG14120	<i>CG14120</i>	-2.1
CG6265	<i>Nep5</i>	-2.1
CG15210	<i>CG15210</i>	-2.1
CG4738	<i>Nup160</i>	-2.1
CG8665	<i>CG8665</i>	-2.1
CG18180	<i>CG18180</i>	-2.1
CG9379	<i>by</i>	-2.2
CG41090	<i>CG41090</i>	-2.2
CG14823	<i>CG14823</i>	-2.2
CG1819	<i>CG34120</i>	-2.2
CG13511	<i>CG13511</i>	-2.2
CG32138	<i>CG32138</i>	-2.2
CG14379	<i>CheA87a</i>	-2.2
CG8342	<i>m1</i>	-2.2
CG12820	<i>Dgk</i>	-2.2
CG7179	<i>CG7179</i>	-2.2
CG6151	<i>fwe</i>	-2.2
CG8299	<i>CG8299</i>	-2.2
CG7274	<i>CG34422</i>	-2.2
CG4363	<i>CG4363</i>	-2.3
CG14872	<i>CG14872</i>	-2.3
CG14543	<i>CG14543</i>	-2.3
CG32295	<i>CG32295</i>	-2.3
CG2861	<i>CG2861</i>	-2.3
CG2079	<i>Dok</i>	-2.3
CG14584	<i>Ir20a</i>	-2.3
CG13777	<i>milt</i>	-2.4
CG18281	<i>CG18281</i>	-2.4
CG12837	<i>Tsp42Er</i>	-2.4
CG10168	<i>CG10168</i>	-2.4
CG6933	<i>CG6933</i>	-2.4
CG7760	<i>cato</i>	-2.5
CG13580	<i>Crtp</i>	-2.5
CG1988	<i>CG1988</i>	-2.6
CG10184	<i>CG10184</i>	-2.6
CG8582	<i>Sh3beta</i>	-2.6
CG9610	<i>Poxm</i>	-2.7
CG32709	<i>CG32709</i>	-2.7
CG11348	<i>nAcRbeta-64B</i>	-2.8
CG8866	<i>CG8866</i>	-2.8
CG5215	<i>Zn72D</i>	-2.8
CG12395	<i>CG12395</i>	-2.9
CG4488	<i>wee</i>	-2.9
CG12385	<i>thetaTry</i>	-2.9
CG8998	<i>Roc2</i>	-2.9
CG6167	<i>PICK1</i>	-2.9
CG10243	<i>Cyp6a19</i>	-3.0
CG12072	<i>wts</i>	-3.0

CG7300	<i>CG7300</i>	-3.1
CG6793	<i>CG6793</i>	-3.1
CG7292	<i>Rrp6</i>	-3.1
CG33189	<i>CG33189</i>	-3.2
CG4322	<i>moody</i>	-3.2
CG9570	<i>CG9570</i>	-3.3
CG9463	<i>CG9463</i>	-3.4
CG11105	<i>CG42683</i>	-3.4
CG4399	<i>east</i>	-3.7
CG7595	<i>ck</i>	-3.7
CG6284	<i>Sirt6</i>	-3.8
CG15254	<i>CG15254</i>	-3.9
CG6901	<i>CG6901</i>	-4.0

CG3048	<i>Traf4</i>	-4.0
CG1602	<i>CG1602</i>	-4.4
CG5059	<i>CG5059</i>	-4.8
CG17534	<i>GstE9</i>	-5.0
CG31079	<i>CG31079</i>	-5.3
CG4785	<i>CG4785</i>	-6.1
CG10747	<i>CG10747</i>	-6.4
CG6772	<i>Slob</i>	-6.4
CG31776	<i>CG31776</i>	-6.5
CG3350	<i>bigmax</i>	-8.1
CG17191	<i>CG17191</i>	-8.2
CG12358	<i>Paip2</i>	-8.6

VI. NP1-Gal4xw¹¹¹⁸/NP1-Gal4xUAS-ORMDL-RNAi

Gen-ID	Gen-Symbol	relative Expression
CG4205	<i>Fdxh</i>	15.7
CG5516	<i>CG5516</i>	14.4
CG3989	<i>ade5</i>	13.7
CG6883	<i>trh</i>	11.7
CG9281	<i>CG9281</i>	11.1
CG31840	<i>CG31840</i>	10.6
CG9102	<i>bab2</i>	9.5
CG18042	<i>CG34441</i>	9.4
CG3565	<i>CG3565</i>	9.1
CG18085	<i>sev</i>	8.9
CG18609	<i>CG18609</i>	8.8
CG8914	<i>Ckillbeta2</i>	8.4
CG12357	<i>Cbp20</i>	8.4
CG10604	<i>bsh</i>	8.1
CG3669	<i>CG3669</i>	8.0
CG12161	<i>Prosbeta2R2</i>	8.0
CG14762	<i>CG14762</i>	7.9
CG31451	<i>CR31451</i>	7.7
CG8974	<i>CG8974</i>	7.3
CG5554	<i>CG5554</i>	7.3
CG13634	<i>CG13634</i>	7.2
CG9863	<i>CG9863</i>	7.1
CG10200	<i>CG10200</i>	7.1
CG17030	<i>CG17030</i>	7.0
CG10379	<i>mbc</i>	7.0
CG15899	<i>Ca-alpha1T</i>	7.0
CG6477	<i>RhoGAP54D</i>	7.0
CG13085	<i>CG13085</i>	6.9
CG3033	<i>CG3033</i>	6.9
CG40044	<i>CG40044</i>	6.8
CG32741	<i>CG32741</i>	6.8
CG5707	<i>CG5707</i>	6.7
CG16807	<i>roq</i>	6.6
CG8067	<i>CG8067</i>	6.6
CG3035	<i>cm</i>	6.6
CG10094	<i>Cyp313a2</i>	6.6
CG32856	<i>CG32856</i>	6.6

CG6673	<i>CG6673</i>	6.5
CG7227	<i>CG7227</i>	6.5
CG9040	<i>CG9040</i>	6.4
CG3949	<i>hoip</i>	6.4
CG2559	<i>Lsp1alpha</i>	6.4
CG30384	<i>CG30384</i>	6.3
CG5505	<i>scny</i>	6.3
CG11859	<i>CG11859</i>	6.2
CG1520	<i>WASp</i>	6.1
CG15747	<i>CG15747</i>	5.9
CG41074	<i>CG41074</i>	5.9
CG17117	<i>hth</i>	5.8
CG7839	<i>CG7839</i>	5.7
CG15817	<i>CG15817</i>	5.7
CG5335	<i>CG5335</i>	5.7
CG30359	<i>Mal-A5</i>	5.5
CG10834	<i>CG10834</i>	5.5
CG5590	<i>CG5590</i>	5.5
CG15261	<i>UK114</i>	5.4
CG15824	<i>CG15824</i>	5.4
CG8128	<i>CG8128</i>	5.3
CG9587	<i>bbg</i>	5.2
CG4938	<i>Aats-ser</i>	5.2
CG10062	<i>CG10062</i>	5.1
CG9198	<i>shtd</i>	5.1
CG18081	<i>CG18081</i>	5.0
CG11143	<i>Inos</i>	5.0
CG16749	<i>CG16749</i>	4.9
CG2947	<i>HIP-R</i>	4.9
CG8177	<i>CG8177</i>	4.9
CG15020	<i>CG15020</i>	4.9
CG16713	<i>CG16713</i>	4.9
CG5807	<i>CG5807</i>	4.8
CG13214	<i>Cpr47Ef</i>	4.7
CG8959	<i>CG8959</i>	4.6
CG13126	<i>CG13126</i>	4.6
CG4495	<i>CG4495</i>	4.5
CG31716	<i>Cnot4</i>	4.4
CG1529	<i>CG1529</i>	4.4

CG13365	<i>CG13365</i>	4.4
CG11137	<i>CG11137</i>	4.4
CG8693	<i>Mal-A4</i>	4.3
CG13202	<i>CG13202</i>	4.2
CG2512	<i>alphaTub84D</i>	4.2
CG6716	<i>prd</i>	4.2
CG4952	<i>dac</i>	4.1
CG4709	<i>CG4709</i>	4.1
CG1865	<i>Spn43Ab</i>	4.1
CG8007	<i>CG42796</i>	4.1
CG8481	<i>CG8481</i>	4.0
CG32655	<i>CG32655</i>	4.0
CG6179	<i>CG6179</i>	4.0
CG3991	<i>TppII</i>	4.0
CG10083	<i>CG10083</i>	4.0
CG2813	<i>cold</i>	4.0
CG30084	<i>Zasp52</i>	4.0
CG40050	<i>nvd</i>	3.9
CG2864	<i>Parg</i>	3.9
CG14502	<i>CG14502</i>	3.8
CG11585	<i>CG11585</i>	3.8
CG7542	<i>CG7542</i>	3.8
CG18343	<i>CG18343</i>	3.8
CG7642	<i>ry</i>	3.8
CG15335	<i>cyr</i>	3.8
CG11642	<i>TRAM</i>	3.7
CG9356	<i>CG9356</i>	3.7
CG5695	<i>jar</i>	3.7
CG6702	<i>Cbp53E</i>	3.7
CG14999	<i>RfC4</i>	3.7
CG33116	<i>CG33116</i>	3.7
CG12404	<i>CG12404</i>	3.7
CG5938	<i>CG5938</i>	3.7
CG15080	<i>CG15080</i>	3.7
CG7362	<i>CG7362</i>	3.7
CG30457	<i>CG30457</i>	3.7
CG4805	<i>ppk28</i>	3.7
CG5809	<i>CaBP1</i>	3.6
CG2647	<i>per</i>	3.6
CG31763	<i>bru-2</i>	3.6
CG1507	<i>Pur-alpha</i>	3.6
CG18178	<i>CG18178</i>	3.6
CG11494	<i>BtbVII</i>	3.5
CG31122	<i>CG31122</i>	3.5
CG3073	<i>I(1)G0144</i>	3.5
CG1142	<i>CG1142</i>	3.5
CG2249	<i>CG2249</i>	3.5
CG11765	<i>Prx2540-2</i>	3.5
CG9862	<i>Rae1</i>	3.5
CG11138	<i>CG11138</i>	3.4
CG31198	<i>CG31198</i>	3.4
CG7407	<i>CG7407</i>	3.4
CG5016	<i>Mst57Db</i>	3.4
CG8520	<i>CG8520</i>	3.4
CG3717	<i>bcn92</i>	3.4

CG7506	<i>CG7506</i>	3.4
CG14237	<i>CG14237</i>	3.4
CG12105	<i>CG12105</i>	3.3
CG17540	<i>Spf45</i>	3.3
CG14057	<i>CG14057</i>	3.3
CG30429	<i>CG30429</i>	3.3
CG6441	<i>CG6441</i>	3.2
CG6143	<i>Pep</i>	3.2
CG16812	<i>CG16812</i>	3.2
CG8905	<i>Sod2</i>	3.2
CG31314	<i>Neu3</i>	3.2
CG31141	<i>CG31141</i>	3.2
CG6593	<i>Pp1alpha-96A</i>	3.1
CG8884	<i>Sap47</i>	3.1
CG4610	<i>CG4610</i>	3.1
CG17047	<i>CG17047</i>	3.1
CG16793	<i>brv2</i>	3.1
CG3967	<i>CG3967</i>	3.1
CG3423	<i>SA</i>	3.1
CG4120	<i>Cyp12c1</i>	3.1
CG3921	<i>CG3921</i>	3.1
CG15593	<i>Osi10</i>	3.0
CG4257	<i>Stat92E</i>	3.0
CG10263	<i>Hakai</i>	3.0
CG9897	<i>CG9897</i>	3.0
CG18631	<i>CG43370</i>	3.0
CG4877	<i>CG4877</i>	3.0
CG4424	<i>CG4424</i>	3.0
CG9307	<i>Cht5</i>	3.0
CG33298	<i>CG33298</i>	3.0
CG8057	<i>alc</i>	3.0
CG5844	<i>CG5844</i>	3.0
CG16752	<i>SPR</i>	2.9
CG8256	<i>Gpo-1</i>	2.9
CG8443	<i>clu</i>	2.9
CG14979	<i>Gr63a</i>	2.9
CG8582	<i>Sh3beta</i>	2.9
CG5740	<i>CG42390</i>	2.9
CG6506	<i>CG6506</i>	2.9
CG3893	<i>CG3893</i>	2.9
CG13869	<i>CG13869</i>	2.9
CG4362	<i>CG4362</i>	2.9
CG8044	<i>HP4</i>	2.9
CG6304	<i>CG6304</i>	2.8
CG18332	<i>CSN3</i>	2.8
CG12176	<i>Lig4</i>	2.8
CG14243	<i>TwlID</i>	2.8
CG5148	<i>cal1</i>	2.8
CG1154	<i>Osi12</i>	2.8
CG6900	<i>CG6900</i>	2.8
CG5848	<i>cact</i>	2.8
CG5020	<i>CLIP-190</i>	2.8
CG10808	<i>synaptogyrin</i>	2.8
CG7161	<i>Oseg1</i>	2.8
CG3457	<i>CG3457</i>	2.8

CG5958	<i>CG5958</i>	2.8	CG1616	<i>dpa</i>	2.3
CG11525	<i>CycG</i>	2.8	CG14307	<i>fru</i>	2.3
CG8892	<i>CG8892</i>	2.7	CG11491	<i>br</i>	2.3
CG30264	<i>CG42284</i>	2.7	CG5848	<i>cact</i>	2.3
CG9358	<i>Phk-3</i>	2.7	CG7169	<i>S1P</i>	2.3
CG30183	<i>CG30183</i>	2.7	CG13809	<i>osm-1</i>	2.3
CG5889	<i>Men-b</i>	2.7	CG30095	<i>CG30095</i>	2.3
CG40460	<i>CG17162</i>	2.7	CG5654	<i>yps</i>	2.3
CG1475	<i>RpL13A</i>	2.7	CG3948	<i>zetaCOP</i>	2.3
CG30196	<i>CG30196</i>	2.7	CG8544	<i>sd</i>	2.3
CG10059	<i>MAGE</i>	2.7	CG2519	<i>CG2519</i>	2.3
CG9115	<i>mtm</i>	2.7	CG4982	<i>CG4982</i>	2.2
CG31355	<i>CG31355</i>	2.7	CG5181	<i>CG5181</i>	2.2
CG16792	<i>SmF</i>	2.7	CG5268	<i>blp</i>	2.2
CG9295	<i>Cpr76Bc</i>	2.7	CG2534	<i>cno</i>	2.2
CG11133	<i>CG11133</i>	2.7	CG4372	<i>CG4372</i>	2.2
CG30203	<i>CG30203</i>	2.7	CG13913	<i>mwh</i>	2.2
CG7749	<i>kug</i>	2.6	CG9195	<i>Scamp</i>	2.2
CG3954	<i>csw</i>	2.6	CG16901	<i>sqd</i>	2.1
CG8055	<i>shrb</i>	2.6	CG14543	<i>CG14543</i>	2.1
CG10943	<i>CG10943</i>	2.6	CG2198	<i>Ama</i>	2.1
CG16903	<i>CG16903</i>	2.6	CG8448	<i>mrj</i>	2.1
CG7622	<i>RpL36</i>	2.6	CG15871	<i>mRpL38</i>	2.1
CG3461	<i>pn</i>	2.6	CG12229	<i>CG12229</i>	2.1
CG9096	<i>CycD</i>	2.6	CG1759	<i>cad</i>	2.1
CG4122	<i>svr</i>	2.6	CG14340	<i>CG14340</i>	2.1
CG5850	<i>CG5850</i>	2.6	CG9429	<i>Crc</i>	2.1
CG4934	<i>brn</i>	2.6	CG5589	<i>CG5589</i>	2.1
CG7188	<i>CG7188</i>	2.5	CG13217	<i>CG13217</i>	2.1
CG1093	<i>plx</i>	2.5	CG10270	<i>D19B</i>	2.1
CG8991	<i>Sobp</i>	2.5	CG4712	<i>CG4712</i>	2.1
CG30360	<i>Mal-A6</i>	2.5	CG9294	<i>CG9294</i>	2.1
CG8192	<i>CG8192</i>	2.5	CG12909	<i>CG12909</i>	2.1
CG15219	<i>CG15219</i>	2.5	CG2118	<i>CG2118</i>	2.1
CG3665	<i>Fas2</i>	2.5	CG6364	<i>CG6364</i>	2.1
CG7919	<i>fan</i>	2.5	CG7592	<i>Obp99b</i>	2.0
CG32556	<i>chas</i>	2.5	CG14218	<i>CG14218</i>	2.0
CG7371	<i>CG7371</i>	2.5	CG11242	<i>CG11242</i>	2.0
CG1906	<i>alph</i>	2.5	CG11893	<i>CG11893</i>	2.0
CG5935	<i>Dek</i>	2.4	CG9253	<i>CG9253</i>	2.0
CG6147	<i>Tsc1</i>	2.4	CG10332	<i>CG10332</i>	2.0
CG2520	<i>lap</i>	2.4	CG2685	<i>CG2685</i>	2.0
CG5026	<i>CG5026</i>	2.4	CG1539	<i>tmod</i>	2.0
CG10755	<i>Cyp4ae1</i>	2.4	CG5939	<i>Prm</i>	2.0
CG13186	<i>CG13186</i>	2.4	CG30338	<i>CG30338</i>	2.0
CG32491	<i>mod(mdg4)</i>	2.4	CG10812	<i>dro5</i>	2.0
CG32688	<i>Hk</i>	2.4	CG11905	<i>CG11905</i>	2.0
CG9856	<i>PTP-ER</i>	2.4	CG17498	<i>mad2</i>	2.0
CG31189	<i>CG31189</i>	2.4	CG14584	<i>lr20a</i>	1.9
CG13740	<i>CG13740</i>	2.4	CG8888	<i>CG8888</i>	1.9
CG11141	<i>CG11141</i>	2.4	CG14343	<i>CG42329</i>	1.9
CG4125	<i>rst</i>	2.4	CG15081	<i>l(2)03709</i>	1.9
CG10563	<i>l(2)37Cd</i>	2.4	CG17577	<i>Cyp9h1</i>	1.9
CG18372	<i>AttB</i>	2.4	CG32511	<i>CR32511</i>	1.9
CG7548	<i>CG7548</i>	2.3	CG32353	<i>CG43078</i>	1.9

CG13120	<i>CG13120</i>	1.9	CG1750	<i>CG1750</i>	1.7
CG6917	<i>Est-6</i>	1.9	CG8948	<i>Graf</i>	1.6
CG8211	<i>IntS2</i>	1.9	CG11726	<i>CG11726</i>	1.6
CG6359	<i>CG6359</i>	1.9	CG18582	<i>mbt</i>	1.6
CG15570	<i>CG15570</i>	1.9	CG4738	<i>Nup160</i>	1.6
CG3299	<i>Vinc</i>	1.9	CG3994	<i>ZnT35C</i>	1.6
CG5461	<i>bun</i>	1.9	CG16970	<i>CG16970</i>	1.6
CG3397	<i>CG3397</i>	1.9	CG12135	<i>c12.1</i>	1.6
CG9746	<i>ird1</i>	1.8	CG11838	<i>rempA</i>	1.6
CG6477	<i>RhoGAP54D</i>	1.8	CG13993	<i>CG13993</i>	1.6
CG3445	<i>phol</i>	1.8	CG7189	<i>Gr66a</i>	1.6
CG30158	<i>CG30158</i>	1.8	CG12158	<i>CG12158</i>	1.6
CG3731	<i>CG3731</i>	1.8	CG9901	<i>Arp14D</i>	1.6
CG4852	<i>Sras</i>	1.8	CG6798	<i>nAcRbeta-96A</i>	1.6
CG10137	<i>CG10137</i>	1.8	CG12207	<i>CG12207</i>	1.6
CG17521	<i>RpL10</i>	1.8	CG10747	<i>CG10747</i>	1.6
CG18428	<i>CG18428</i>	1.8	CG16863	<i>CG16863</i>	1.6
CG1120	<i>IntS10</i>	1.8	CG33321	<i>CheB38b</i>	1.6
CG3411	<i>bs</i>	1.8	CG1748	<i>RhoGAP102A</i>	1.6
CG17255	<i>nocte</i>	1.8	CG3195	<i>RpL12</i>	1.6
CG30373	<i>CG30373</i>	1.8	CG31294	<i>CG31294</i>	1.6
CG12264	<i>CG12264</i>	1.8	CG3001	<i>Hex-A</i>	1.6
CG32950	<i>CG14246</i>	1.8	CG15377	<i>Or22c</i>	1.6
CG5002	<i>CG5002</i>	1.8	CG6006	<i>CG6006</i>	1.6
CG11842	<i>CG11842</i>	1.8	CG17124	<i>CG17124</i>	1.6
CG3796	<i>ac</i>	1.8	CG33293	<i>CG33293</i>	1.6
CG3955	<i>CG3955</i>	1.8	CG12488	<i>CG42663</i>	1.6
CG10281	<i>TfIIIFalpha</i>	1.8	CG7272	<i>CG7272</i>	1.6
CG30403	<i>CG30403</i>	1.8	CG14904	<i>Scp2</i>	1.5
CG5284	<i>CIC-c</i>	1.8	CG15873	<i>CG15873</i>	1.5
CG40225	<i>CG40225</i>	1.8	CG12754	<i>Or42b</i>	1.5
CG6768	<i>DNApol-epsilon</i>	1.8	CG3198	<i>CG3198</i>	1.5
CG33170	<i>CG33170</i>	1.8	CG13786	<i>CG13786</i>	1.5
CG30322	<i>CG33960</i>	1.7	CG8534	<i>CG8534</i>	1.5
CG10565	<i>CG10565</i>	1.7	CG8697	<i>Lcp2</i>	1.5
CG11146	<i>CG42251</i>	1.7	CG10852	<i>Acp63F</i>	1.5
CG8358	<i>CG8358</i>	1.7	CG18250	<i>Dg</i>	1.5
CG9325	<i>hts</i>	1.7	CG8246	<i>Poxn</i>	1.5
CG11661	<i>Nc73EF</i>	1.7	CG13777	<i>milt</i>	1.5
CG6488	<i>CG6488</i>	1.7	CG7564	<i>CG7564</i>	1.5
CG17623	<i>CG42686</i>	1.7	CG14872	<i>CG14872</i>	1.5
CG10598	<i>CG10598</i>	1.7	CG13404	<i>CG13404</i>	1.5
CG7499	<i>Rh50</i>	1.7	CG30171	<i>Unc-89</i>	1.5
CG5876	<i>heix</i>	1.7	CG9354	<i>RpL34b</i>	1.5
CG33080	<i>CG33080</i>	1.7	CG15744	<i>CG15744</i>	1.5
CG33296	<i>CG33296</i>	1.7	CG4353	<i>hep</i>	1.5
CG9335	<i>CG9335</i>	1.7	CG31324	<i>CG31324</i>	1.5
CG15483	<i>CG15483</i>	1.7	CG6472	<i>CG6472</i>	-1.5
CG8405	<i>CG8405</i>	1.7	CG5558	<i>CG42359</i>	-1.5
CG6043	<i>CG6043</i>	1.7	CG6598	<i>Fdh</i>	-1.5
CG8476	<i>CG8476</i>	1.7	CG10646	<i>CG10646</i>	-1.5
CG4536	<i>iav</i>	1.7	CG30482	<i>CG30482</i>	-1.5
CG18296	<i>axo</i>	1.7	CG30321	<i>CG30321</i>	-1.5
CG6989	<i>Octbeta2R</i>	1.7	CG31281	<i>Tpl94D</i>	-1.5
CG10672	<i>CG10672</i>	1.7	CG7772	<i>CG7772</i>	-1.5

CG31274	<i>CG31274</i>	-1.5	CG12325	<i>CG12325</i>	-1.6
CG11308	<i>sa</i>	-1.5	CG31873	<i>CG31873</i>	-1.6
CG5382	<i>CG5382</i>	-1.5	CG6207	<i>GlcAT-P</i>	-1.6
CG33171	<i>mp</i>	-1.5	CG16786	<i>CG16786</i>	-1.6
CG33486	<i>asparagine-synthetase</i>	-1.5	CG31327	<i>CG31327</i>	-1.6
CG8385	<i>Arf79F</i>	-1.5	CG4914	<i>CG4914</i>	-1.6
CG17737	<i>CG17737</i>	-1.5	CG8628	<i>CG8628</i>	-1.6
CG4631	<i>CG4631</i>	-1.5	CG8874	<i>Fps85D</i>	-1.6
CG8913	<i>Irc</i>	-1.5	CG15254	<i>CG15254</i>	-1.6
CG11975	<i>CG11975</i>	-1.5	CG11155	<i>CG11155</i>	-1.6
CG40006	<i>CG40006</i>	-1.5	CG4637	<i>hh</i>	-1.6
CG2233	<i>CG2233</i>	-1.5	CG4099	<i>Sr-CI</i>	-1.6
CG33127	<i>CG33127</i>	-1.5	CG5804	<i>CG5804</i>	-1.6
CG4697	<i>CSN1a</i>	-1.5	CG33071	<i>CG33714</i>	-1.6
CG11035	<i>CG11035</i>	-1.5	CG8882	<i>Trip1</i>	-1.6
CG31128	<i>CG31128</i>	-1.5	CG7276	<i>CG7276</i>	-1.6
CG10679	<i>Nedd8</i>	-1.5	CG9556	<i>alien</i>	-1.6
CG14748	<i>CG42326</i>	-1.5	CG30427	<i>CG30427</i>	-1.6
CG7400	<i>Fatp</i>	-1.5	CG10806	<i>Nha1</i>	-1.6
CG1079	<i>Fie</i>	-1.5	CG8329	<i>CG8329</i>	-1.6
CG5310	<i>nmdyn-D6</i>	-1.5	CG2968	<i>l(1)G0230</i>	-1.6
CG31607	<i>CG43394</i>	-1.5	CG8474	<i>Meics</i>	-1.6
CG4584	<i>dUTPase</i>	-1.5	CG15019	<i>CG15019</i>	-1.6
CG3654	<i>Jarid2</i>	-1.6	CG4729	<i>CG4729</i>	-1.6
CG9764	<i>yrt</i>	-1.6	CG4457	<i>Srp19</i>	-1.6
CG17478	<i>CG17478</i>	-1.6	CG33104	<i>eca</i>	-1.7
CG15676	<i>CG15676</i>	-1.6	CG7623	<i>sll</i>	-1.7
CG11281	<i>snky</i>	-1.6	CG33129	<i>CG33129</i>	-1.7
CG15389	<i>eyes</i>	-1.6	CG11821	<i>Cyp12a5</i>	-1.7
CG15370	<i>CG15370</i>	-1.6	CG8118	<i>mam</i>	-1.7
CG4742	<i>mRpL22</i>	-1.6	CG14998	<i>ens</i>	-1.7
CG11686	<i>CG11686</i>	-1.6	CG10382	<i>wrapper</i>	-1.7
CG15398	<i>CG15398</i>	-1.6	CG31247	<i>tinc</i>	-1.7
CG3931	<i>Rrp4</i>	-1.6	CG6568	<i>CG6568</i>	-1.7
CG9978	<i>lectin-37Da</i>	-1.6	CG8525	<i>CG8525</i>	-1.7
CG15151	<i>rdo</i>	-1.6	CG6724	<i>CG6724</i>	-1.7
CG9042	<i>Gpdh</i>	-1.6	CG11771	<i>CG11771</i>	-1.7
CG7110	<i>CG7110</i>	-1.6	CG30503	<i>CG30503</i>	-1.7
CG7282	<i>CG34422</i>	-1.6	CG12918	<i>sel</i>	-1.7
CG9582	<i>CG9582</i>	-1.6	CG17603	<i>Taf1</i>	-1.7
CG14294	<i>CG14294</i>	-1.6	CG4859	<i>Mmp1</i>	-1.7
CG32642	<i>CG32642</i>	-1.6	CG31279	<i>CG31279</i>	-1.7
CG4313	<i>CG4313</i>	-1.6	CG18437	<i>CG18437</i>	-1.7
CG6892	<i>Ets96B</i>	-1.6	CG8807	<i>lush</i>	-1.7
CG1988	<i>CG1988</i>	-1.6	CG7175	<i>CG7175</i>	-1.7
CG18817	<i>Tsp42Ea</i>	-1.6	CG5885	<i>CG5885</i>	-1.7
CG5322	<i>CG5322</i>	-1.6	CG15224	<i>Ckllbeta</i>	-1.7
CG8023	<i>eIF4E-3</i>	-1.6	CG9570	<i>CG9570</i>	-1.7
CG7492	<i>CG7492</i>	-1.6	CG5547	<i>Pect</i>	-1.7
CG10734	<i>CG10734</i>	-1.6	CG5192	<i>Rh6</i>	-1.7
CG8563	<i>CG8563</i>	-1.6	CG9668	<i>Rh4</i>	-1.7
CG1360	<i>CG1360</i>	-1.6	CG4462	<i>CG4462</i>	-1.7
CG5520	<i>Gp93</i>	-1.6	CG9926	<i>CG9926</i>	-1.7
CG12139	<i>Megalin</i>	-1.6	CG4800	<i>Tctp</i>	-1.7
CG3024	<i>torp4a</i>	-1.6	CG31115	<i>CG31115</i>	-1.7

CG7831	<i>ncd</i>	-1.7
CG18012	<i>CG18012</i>	-1.7
CG32026	<i>CG32026</i>	-1.7
CG9070	<i>Cpr47Eg</i>	-1.7
CG12124	<i>mxc</i>	-1.7
CG11614	<i>nkd</i>	-1.7
CG11698	<i>CG11698</i>	-1.7
CG33166	<i>stet</i>	-1.7
CG32267	<i>CG32267</i>	-1.7
CG30385	<i>CG30385</i>	-1.7
CG8610	<i>Cdc27</i>	-1.7
CG11053	<i>CG34345</i>	-1.7
CG11801	<i>Elo68beta</i>	-1.7
CG8776	<i>nemy</i>	-1.7
CG5849	<i>CG5849</i>	-1.7
CG10231	<i>Pde11</i>	-1.7
CG17922	<i>CG17922</i>	-1.7
CG5793	<i>CG5793</i>	-1.7
CG18193	<i>CG18193</i>	-1.7
CG2973	<i>Cpr23B</i>	-1.7
CG17033	<i>elgi</i>	-1.7
CG4422	<i>Gdi</i>	-1.7
CG1702	<i>CG1702</i>	-1.7
CG1840	<i>CG1840</i>	-1.7
CG11981	<i>Prosbeta3</i>	-1.7
CG32110	<i>CG32110</i>	-1.7
CG1978	<i>Or45a</i>	-1.7
CG33096	<i>CG33096</i>	-1.7
CG18528	<i>CG18528</i>	-1.8
CG9610	<i>Poxm</i>	-1.8
CG5596	<i>Mlc1</i>	-1.8
CG17642	<i>mRpL48</i>	-1.8
CG3058	<i>Dim1</i>	-1.8
CG18468	<i>Lhr</i>	-1.8
CG7130	<i>CG7130</i>	-1.8
CG10414	<i>Atac2</i>	-1.8
CG18635	<i>CG18635</i>	-1.8
CG2998	<i>RpS28b</i>	-1.8
CG17766	<i>Rbcn-3B</i>	-1.8
CG6617	<i>CG6617</i>	-1.8
CG5855	<i>cni</i>	-1.8
CG13587	<i>CG13587</i>	-1.8
CG2221	<i>l(1)G0289</i>	-1.8
CG11722	<i>CG11722</i>	-1.8
CG17332	<i>VhaSFD</i>	-1.8
CG13415	<i>Cby</i>	-1.8
CG9606	<i>Rrp45</i>	-1.8
CG8038	<i>CG8038</i>	-1.8
CG31265	<i>CG31265</i>	-1.8
CG13243	<i>CG13243</i>	-1.8
CG12781	<i>nahoda</i>	-1.8
CG33151	<i>Gr59e</i>	-1.8
CG11796	<i>CG11796</i>	-1.8
CG10944	<i>RpS6</i>	-1.8
CG4488	<i>wee</i>	-1.8

CG10483	<i>CG10483</i>	-1.8
CG4910	<i>Ccap</i>	-1.8
CG15740	<i>CG15740</i>	-1.8
CG7245	<i>eyd</i>	-1.8
CG10675	<i>CHKov2</i>	-1.8
CG30000	<i>CG30000</i>	-1.8
CG10553	<i>CG10553</i>	-1.8
CG5705	<i>CG5705</i>	-1.8
CG7184	<i>Mkrn1</i>	-1.8
CG3777	<i>CG3777</i>	-1.8
CR31808	<i>CG31808</i>	-1.8
CG16902	<i>Hr4</i>	-1.8
CG33493	<i>CG33493</i>	-1.8
CG3352	<i>ft</i>	-1.8
CG7014	<i>RpS5b</i>	-1.8
CG11466	<i>Cyp9f2</i>	-1.8
CG6933	<i>CG6933</i>	-1.9
CG1944	<i>Cyp4p2</i>	-1.9
CG17290	<i>CG17290</i>	-1.9
CG9454	<i>Spn42Db</i>	-1.9
CG5932	<i>CG5932</i>	-1.9
CG8745	<i>CG8745</i>	-1.9
CG12333	<i>CG12333</i>	-1.9
CG8261	<i>Ggamma1</i>	-1.9
CG5883	<i>CG5883</i>	-1.9
CG9907	<i>para</i>	-1.9
CG1640	<i>CG1640</i>	-1.9
CG5108	<i>mRpS7</i>	-1.9
CG14417	<i>CG14417</i>	-1.9
CG31446	<i>CG31446</i>	-1.9
CG6484	<i>CG6484</i>	-1.9
CG8639	<i>Cirl</i>	-1.9
CG14379	<i>CheA87a</i>	-1.9
CG1501	<i>unc</i>	-1.9
CG1822	<i>bif</i>	-1.9
CG7929	<i>ocn</i>	-1.9
CG7930	<i>TpnC73F</i>	-1.9
CG4103	<i>l(2)35Bc</i>	-1.9
CG6115	<i>CG6115</i>	-1.9
CG7939	<i>RpL32</i>	-1.9
CG1964	<i>Kul</i>	-1.9
CG12072	<i>wts</i>	-1.9
CG9238	<i>CG9238</i>	-1.9
CG7632	<i>CG7632</i>	-2.0
CG18234	<i>CG18234</i>	-2.0
CG10653	<i>hk</i>	-2.0
CG2969	<i>Atet</i>	-2.0
CG9000	<i>ste24a</i>	-2.0
CG3707	<i>wapl</i>	-2.0
CG31286	<i>CG31286</i>	-2.0
CG17286	<i>spd-2</i>	-2.0
CG1404	<i>ran</i>	-2.0
CG1115	<i>CG1115</i>	-2.0
CG2855	<i>aph-1</i>	-2.0
CG15730	<i>CG15730</i>	-2.0

CG12231	<i>CG12231</i>	-2.0
CG14847	<i>cv-c</i>	-2.0
CG31368	<i>CG31368</i>	-2.0
CG17689	<i>Spt20</i>	-2.0
CG6182	<i>CG6182</i>	-2.0
CG10956	<i>Spn53F</i>	-2.0
CG5165	<i>Pgm</i>	-2.0
CG6827	<i>Nrx-IV</i>	-2.0
CG1977	<i>dlt</i>	-2.0
CG5920	<i>RpS2</i>	-2.0
CG17534	<i>GstE9</i>	-2.0
CG5869	<i>CG5869</i>	-2.0
CG11502	<i>svp</i>	-2.0
CG2038	<i>CSN7</i>	-2.0
CG13091	<i>CG13091</i>	-2.0
CG9366	<i>RhoL</i>	-2.0
CG31188	<i>CG33722</i>	-2.0
CG32114	<i>CG32114</i>	-2.0
CG13598	<i>sba</i>	-2.0
CG9297	<i>CG9297</i>	-2.0
CG18039	<i>KaiRIA</i>	-2.1
CG1800	<i>pasha</i>	-2.1
CG2112	<i>CG42233</i>	-2.1
CG13325	<i>CG13325</i>	-2.1
CG7010	<i>l(1)G0334</i>	-2.1
CG8664	<i>CG8664</i>	-2.1
CG30270	<i>CG30270</i>	-2.1
CG18341	<i>Prosbeta2R1</i>	-2.1
CG7028	<i>CG7028</i>	-2.1
CG10601	<i>mirr</i>	-2.1
CG17928	<i>CG17928</i>	-2.1
CG1440	<i>CG1440</i>	-2.1
CG33249	<i>CG42271</i>	-2.1
CG31043	<i>gukh</i>	-2.1
CG17594	<i>scro</i>	-2.1
CG10184	<i>CG10184</i>	-2.1
CG7180	<i>CG7180</i>	-2.1
CG6765	<i>CG6765</i>	-2.1
CG14450	<i>CG14450</i>	-2.1
CG41090	<i>CG41090</i>	-2.1
CG6772	<i>Slob</i>	-2.1
CG8498	<i>CG8498</i>	-2.1
CG10484	<i>Rpn3</i>	-2.1
CG7293	<i>Klp68D</i>	-2.2
CG17598	<i>CG17598</i>	-2.2
CG12763	<i>Dpt</i>	-2.2
CG10428	<i>CG10428</i>	-2.2
CG14570	<i>CG14570</i>	-2.2
CG7970	<i>CG7970</i>	-2.2
CG10339	<i>CG10339</i>	-2.2
CG12787	<i>hoe1</i>	-2.2
CG2863	<i>Nle</i>	-2.2
CG9351	<i>ffl</i>	-2.2
CG10967	<i>Atg1</i>	-2.2
CG5333		-2.2

CG32405	<i>Cpr65Av</i>	-2.2
CG1883	<i>RpS7</i>	-2.2
CG17272	<i>CG17272</i>	-2.3
CG9471	<i>CG9471</i>	-2.3
CG11523	<i>CG11523</i>	-2.3
CG10895	<i>lok</i>	-2.3
CG13401	<i>U26</i>	-2.3
CG32956	<i>Chrac-14</i>	-2.3
CG17904	<i>CG17904</i>	-2.3
CG30376	<i>CG30376</i>	-2.3
CG3810	<i>Edem1</i>	-2.3
CG31266	<i>CG31266</i>	-2.3
CG11112	<i>CG11112</i>	-2.3
CG2019	<i>disp</i>	-2.3
CG7961	<i>alphaCop</i>	-2.3
CG7637	<i>CG7637</i>	-2.3
CG5188	<i>CG5188</i>	-2.3
CG33213	<i>CG33213</i>	-2.3
CG4648	<i>CG42399</i>	-2.4
CG1707	<i>CG1707</i>	-2.4
CG5271	<i>RpS27A</i>	-2.4
CG5827	<i>RpL37A</i>	-2.4
CG32495	<i>CG32495</i>	-2.4
CG10068	<i>CG10068</i>	-2.4
CG31308	<i>CG31308</i>	-2.4
CG14590	<i>CG14590</i>	-2.4
CG14084	<i>Bet1</i>	-2.4
CG16986	<i>CG16986</i>	-2.4
CG4447	<i>CG4447</i>	-2.4
CG10477	<i>CG10477</i>	-2.4
CG4835	<i>CG4835</i>	-2.4
CG8073	<i>Pmm45A</i>	-2.4
CG14488	<i>CG14488</i>	-2.4
CG4921	<i>Rab4</i>	-2.4
CG32031	<i>Argk</i>	-2.5
CG8925	<i>CG8925</i>	-2.5
CG3763	<i>Fbp2</i>	-2.5
CG6530	<i>mthl3</i>	-2.5
CG9438	<i>Cyp6a2</i>	-2.5
CG10586	<i>CG10586</i>	-2.5
CG2071	<i>Ser6</i>	-2.5
CG10682	<i>vih</i>	-2.5
CG11637	<i>CG11637</i>	-2.5
CG9426	<i>CG9426</i>	-2.5
CG5174	<i>CG5174</i>	-2.5
CG32276	<i>CG32276</i>	-2.6
CG13511	<i>CG13511</i>	-2.6
CG7622	<i>RpL36</i>	-2.6
CG4185	<i>NC2beta</i>	-2.6
CG8369	<i>CG8369</i>	-2.6
CG3314	<i>RpL7A</i>	-2.6
CG17906	<i>CG17906</i>	-2.6
CG5497	<i>mRpS28</i>	-2.6
CG11092	<i>CG11092</i>	-2.6
CG31900	<i>CG43394</i>	-2.6

CG7809	<i>Grasp65</i>	-2.7
CG4659	<i>Srp54k</i>	-2.7
CG2053	<i>CG2053</i>	-2.7
CG8998	<i>Roc2</i>	-2.7
CG5366	<i>Cand1</i>	-2.7
CG31784	<i>CG31784</i>	-2.7
CG31410	<i>Npc2e</i>	-2.7
CG16801	<i>Hr51</i>	-2.8
CG4364	<i>CG4364</i>	-2.8
CG8994	<i>exu</i>	-2.8
CG32138	<i>CG32138</i>	-2.9
CG15280	<i>CR15280</i>	-2.9
CG5125	<i>ninaC</i>	-2.9
CG9245	<i>Pis</i>	-2.9
CG7825	<i>Rad17</i>	-2.9
CG1938	<i>Dlic</i>	-2.9
CG7638	<i>CG7638</i>	-2.9
CG40103	<i>CG40103</i>	-3.0
CG7199	<i>Hr78</i>	-3.0
CG3083	<i>Prx6005</i>	-3.0
CG18519	<i>CG18519</i>	-3.0
CG14911	<i>CG42747</i>	-3.0
CG10336	<i>CG10336</i>	-3.0
CG9213	<i>CG9213</i>	-3.0
CG9271	<i>Vm34Ca</i>	-3.0
CG4899	<i>Pdh</i>	-3.1
CG3856	<i>Oamb</i>	-3.1
CG13337	<i>CG13337</i>	-3.1
CG14872	<i>CG14872</i>	-3.2
CG6041	<i>CG6041</i>	-3.2
CG11159	<i>CG11159</i>	-3.2
CG1138	<i>CG1138</i>	-3.2
CG9865	<i>CG9865</i>	-3.4
CG6824	<i>ovo</i>	-3.4
CG1844	<i>SelG</i>	-3.4
CG4379	<i>Pka-C1</i>	-3.5
CG7395	<i>sNPF-R</i>	-3.5
CG8049	<i>Btk29A</i>	-3.6
CG10469	<i>CG10469</i>	-3.7
CG18066	<i>Cpr57A</i>	-3.8
CG1161	<i>CG1161</i>	-3.9
CG1308	<i>CG43367</i>	-3.9
CG5038	<i>CG5038</i>	-4.0
CG1621	<i>Coop</i>	-4.0
CG8676	<i>Hr39</i>	-4.1
CG17280	<i>levy</i>	-4.3
CG32715	<i>CG32715</i>	-4.3
CG18108	<i>IM1</i>	-4.3
CG7012	<i>nct</i>	-4.5
CG9044	<i>CG9044</i>	-4.5
CG3436	<i>CG3436</i>	-4.6
CG9580	<i>Sdic1</i>	-4.8
CG12066	<i>Pka-C2</i>	-5.0
CG3350	<i>bigmax</i>	-5.1
CG4211	<i>nonA</i>	-5.5

CG4238	<i>CG4238</i>	-5.5
CG4004	<i>CG4004</i>	-5.6
CG32368	<i>CG32368</i>	-6.5
CG1922	<i>onecut</i>	-6.7
CG5070	<i>CG5070</i>	-9.8
CG7274	<i>CG34422</i>	-10.1
CG13053	<i>CG13053</i>	-12.0

VII. PPK4-Gal4-Gal80w¹¹¹⁸/PPK4-Gal4-Gal80xUAS-dome

Gen-ID	Gen-Symbol	relative Expression	Gen-ID	Gen-Symbol	relative Expression
CG7362	CG7362	6.6	CG3016	CG3016	2.5
CG32595	CG32595	5.5	CG4590	<i>inx2</i>	2.5
CG12139	<i>mg1</i>	5.2	CG5085	<i>Sirt2</i>	2.5
CG5494	<i>Cpr92F</i>	5.1	CG6709	CG6709	2.5
CG5000	<i>msps</i>	4.9	CG15112	<i>ena</i>	2.5
CG4966	<i>HPS4</i>	4.5	CG5974	<i>pll</i>	2.5
CG30203	CG30203	4.0	CG11458	CG11458	2.4
CG2974	CG2974	3.8	CG4623	CG4623	2.4
CG3565	CG3565	3.8	CG13278	CG13278	2.4
CG14258	CG14258	3.7	CG2146	<i>didum</i>	2.4
CG9878	<i>Tim10</i>	3.5	CG4495	CG4495	2.4
CG13064	CG13064	3.4	CG12128	CG12128	2.4
CG14469	<i>dpr12</i>	3.3	CG11086	<i>Gadd45</i>	2.4
CG14949	CG14949	3.3	CG12056	CG12056	2.4
CG7161	<i>Oseg1</i>	3.2	CG7936	<i>mex1</i>	2.4
CG3948	<i>zetaCOP</i>	3.2	CG10808	<i>synaptogyrin</i>	2.3
CG4650	CG4650	3.2	CG11175	<i>Rcd6</i>	2.3
CG13090	CG13090	3.2	CG2259	<i>Gclc</i>	2.3
CG8738	CG8738	3.2	CG3939	CG3939	2.3
CG14895	<i>Pak3</i>	3.2	CG31955	CG31955	2.3
CG3268	<i>pthf</i>	3.1	CG2986	<i>RpS21</i>	2.3
CG4211	<i>nonA</i>	3.1	CG30160	CG30160	2.3
CG33151	<i>Gr59e</i>	3.1	CG7509	CG7509	2.3
CG9148	<i>scf</i>	3.1	CG7218	CG7218	2.3
CG13044	CG13044	3.0	CG3355	CG3355	2.2
CG5030	CG34139	3.0	CG11271	<i>RpS12</i>	2.2
CG4648	CG42399	3.0	CG1837	<i>prtp</i>	2.2
CG9354	<i>RpL34b</i>	3.0	CG12737	<i>Crag</i>	2.2
CG30051	CG30051	3.0	CG9852	<i>140up</i>	2.2
CG11798	<i>chn</i>	3.0	CG17349	CG17349	2.2
CG7839	CG7839	2.9	CG30390	<i>Sgf29</i>	2.2
CG10959	CG10959	2.9	CG10092	CG10092	2.2
CG13691	<i>BBS8</i>	2.9	CG7940	<i>Arp5</i>	2.2
CG15884	<i>Cpr97Eb</i>	2.8	CG7269	<i>Hel25E</i>	2.2
CG6956	<i>Lcp65Ac</i>	2.8	CG6874	<i>HipHop</i>	2.2
CG30192	CG30192	2.8	CG11219	<i>PIP82</i>	2.2
CG15282	CG15282	2.8	CG32070	CG32070	2.2
CG3604	CG3604	2.8	CG5851	<i>sds22</i>	2.2
CG32568	CG32568	2.8	CG13441	<i>Gr57a</i>	2.2
CG9983	<i>Hrb98DE</i>	2.7	CG9590	CG9590	2.2
CG2209	CG2209	2.7	CG10958	CG10958	2.1
CG7216	<i>Acp1</i>	2.7	CG10604	<i>bsh</i>	2.1
CG32210	<i>l(3)76BDr</i>	2.7	CG31291	CG31291	2.1
CG7714	CG7714	2.7	CG30158	CG30158	2.1
CG7676	<i>cona</i>	2.7	CG12024	CG12024	2.1
CG40002	CG40002	2.7	CG14103	CG14103	2.1
CG4615	CG4615	2.6	CG14453	CG14453	2.1
CG2533	CG2533	2.6	CG1252	<i>Ccp84Ab</i>	2.1
CG9813	CG9813	2.6	CG1877	<i>lin19</i>	2.0
CG8237	CG8237	2.6	CG9362	CG9362	2.0
CG14847	<i>cv-c</i>	2.5	CG14436	<i>C3G</i>	2.0
CG15096	CG15096	2.5	CG10800	<i>Rca1</i>	2.0
			CG8571	<i>smid</i>	2.0
			CG12290	CG12290	2.0

CG7171	<i>Uro</i>	2.0
CG30380	<i>CG30380</i>	2.0
CG6957	<i>Oscillin</i>	2.0
CG6669	<i>klg</i>	2.0
CG2816	<i>CG2816</i>	2.0
CG8494	<i>CG8494</i>	2.0
CG17903	<i>Cyt-c-p</i>	2.0
CG6131	<i>Cpr97Ea</i>	2.0
CG15102	<i>Jheh2</i>	2.0
CG1146	<i>CG1146</i>	2.0
CG12414	<i>nAcRalpha-80B</i>	2.0
CG3034	<i>MED22</i>	2.0
CG17027	<i>CG17027</i>	2.0
CG1662	<i>CG1662</i>	1.9
CG14445	<i>CG14445</i>	1.9
CG7823	<i>RhoGDI</i>	1.9
CG7143	<i>DNApol-eta</i>	1.9
CG13499	<i>CG34370</i>	1.9
CR30009	<i>CR30009</i>	1.9
CG10679	<i>Nedd8</i>	1.9
CG8914	<i>CklIbeta2</i>	1.9
CG11512	<i>GstD4</i>	1.9
CG2262	<i>Smox</i>	1.9
CG1623	<i>hebe</i>	1.9
CG1511	<i>Eph</i>	1.9
CG15251	<i>CG43386</i>	1.9
CG13345	<i>tum</i>	1.9
CG14237	<i>CG14237</i>	1.9
CG2038	<i>CSN7</i>	1.9
CG32631	<i>CG32631</i>	1.9
CG7919	<i>fan</i>	1.9
CG1063	<i>ltp-r83A</i>	1.9
CG8253	<i>tun</i>	1.9
CG6130	<i>h-cup</i>	1.9
CG12094	<i>CG34104</i>	1.9
CG1233	<i>CG1233</i>	1.9
CG9847	<i>Fkbp13</i>	1.9
CG8279	<i>Pde6</i>	1.9
CG17567	<i>CG17567</i>	1.9
CG9021	<i>CG9021</i>	1.9
CG6104	<i>m2</i>	1.8
CG8389	<i>CG8389</i>	1.8
CG3856	<i>Oamb</i>	1.8
CG32174	<i>CG32174</i>	1.8
CG13582	<i>Ir60d</i>	1.8
CG6995	<i>Saf-B</i>	1.8
CG10326	<i>CG10326</i>	1.8
CG8209	<i>CG8209</i>	1.8
CG4645	<i>CG4645</i>	1.8
CG15739	<i>CG15739</i>	1.8
CG1839	<i>Fbx14</i>	1.8
CG7169	<i>S1P</i>	1.8
CG5788	<i>UbcD10</i>	1.8
CG30345	<i>CG30345</i>	1.8
CG32333	<i>CG32333</i>	1.8

CG9863	<i>CG9863</i>	1.8
CG6829	<i>Ark</i>	1.8
CG14778	<i>CG14778</i>	1.8
CG15013	<i>dyl</i>	1.8
CG14565	<i>CG14565</i>	1.8
CG15883	<i>Obp18a</i>	1.8
CG8863	<i>Droj2</i>	1.8
CG8023	<i>eIF4E-3</i>	1.7
CG7893	<i>vav</i>	1.7
CG12858	<i>CG12858</i>	1.7
CG8464	<i>HtrA2</i>	1.7
CG6311	<i>Edc3</i>	1.7
CG2221	<i>l(1)G0289</i>	1.7
CG3848	<i>trr</i>	1.7
CG7850	<i>puc</i>	1.7
CG16710	<i>CG16710</i>	1.7
CG9466	<i>CG9466</i>	1.7
CG5374	<i>T-cp1</i>	1.7
CG2985	<i>Yp1</i>	1.7
CG14792	<i>sta</i>	1.7
CG12464	<i>CG12464</i>	1.7
CG15695	<i>CG15695</i>	1.7
CG40287	<i>CR41440</i>	1.7
CG14297	<i>CG14297</i>	1.7
CG9907	<i>para</i>	1.7
CG1693	<i>tty</i>	1.7
CG32656	<i>Muc11A</i>	1.7
CG4848	<i>CG4848</i>	1.7
CG41135	<i>CG41135</i>	1.7
CG13113	<i>CG13113</i>	1.7
CG9589	<i>CG9589</i>	1.7
CG30171	<i>Unc-89</i>	1.7
CG4852	<i>Sras</i>	1.7
CG40221	<i>CG40221</i>	1.7
CG11768	<i>CG11768</i>	1.7
CG4814	<i>CG34391</i>	1.7
CG5010	<i>CG5010</i>	1.7
CG17054	<i>Cap-G</i>	1.6
CG8409	<i>Su(var)205</i>	1.6
CG7010	<i>l(1)G0334</i>	1.6
CG9653	<i>brk</i>	1.6
CG3769	<i>CG3769</i>	1.6
CG4110	<i>ppk16</i>	1.6
CG9468	<i>CG9468</i>	1.6
CG3585	<i>Rbcn-3A</i>	1.6
CG12240	<i>CG42568</i>	1.6
CG8519	<i>CG8519</i>	1.6
CG8261	<i>Ggamma1</i>	1.6
CG13202	<i>CG13202</i>	1.6
CG5830	<i>CG5830</i>	1.6
CG6788	<i>CG6788</i>	1.6
CG3663	<i>CG3663</i>	1.6
CG14212	<i>CG14212</i>	1.6
CG6074	<i>CG6074</i>	1.6
CG1999	<i>CG1999</i>	1.6

CG17440	<i>CG17440</i>	1.6
CG4312	<i>MtnB</i>	1.6
CG10827	<i>CG10827</i>	1.6
CG13081	<i>CG13081</i>	1.6
CG11621	<i>Pi3K68D</i>	1.6
CG11259	<i>MICAL-like</i>	1.6
CG7259	<i>Best4</i>	1.6
CG12897	<i>CG42732</i>	1.6
CG3569	<i>Or59b</i>	1.6
CG6742	<i>cenB1A</i>	1.5
CG4608	<i>bnl</i>	1.5
CG4924	<i>icl</i>	1.5
CG9242	<i>bur</i>	1.5
CG13380	<i>CG13380</i>	1.5
CG4952	<i>dac</i>	1.5
CG1708	<i>cos</i>	1.5
CG5175	<i>kuk</i>	1.5
CG8964	<i>CG8964</i>	1.5
CG30291	<i>CG30291</i>	1.5
CG8638	<i>Cpr65Eb</i>	1.5
CG4790	<i>fs(1)M3</i>	1.5
CG5208	<i>Patr-1</i>	-1.5
CG13186	<i>CG13186</i>	-1.5
CG6522	<i>CG6522</i>	-1.5
CG18213	<i>CG18213</i>	-1.5
CG3801	<i>Acp76A</i>	-1.5
CG8427	<i>SmD3</i>	-1.5
CG8712	<i>CG8712</i>	-1.5
CG9822	<i>CG9822</i>	-1.5
CG8798	<i>Lon</i>	-1.5
CG6527	<i>CG6527</i>	-1.5
CG31370	<i>CG31370</i>	-1.5
CG5201	<i>Dad</i>	-1.5
CG13809	<i>osm-1</i>	-1.5
CG7972	<i>mus301</i>	-1.5
CG8127	<i>Eip75B</i>	-1.5
CG10979	<i>CG10979</i>	-1.5
CG6549	<i>fws</i>	-1.5
CG11238	<i>l(3)04053</i>	-1.5
CG5896	<i>grass</i>	-1.5
CG14701	<i>CG14701</i>	-1.5
CG3902	<i>CG3902</i>	-1.5
CG11994	<i>Ada</i>	-1.5
CG40494	<i>RhoGAP1A</i>	-1.5
CG32399	<i>CG32399</i>	-1.6
CG31953	<i>CR31953</i>	-1.6
CG5604	<i>CG5604</i>	-1.6
CG8805	<i>wun2</i>	-1.6
CG10038	<i>CG10038</i>	-1.6
CG8208	<i>MBD-like</i>	-1.6
CG32171	<i>Lmpt</i>	-1.6
CG5676	<i>CG5676</i>	-1.6
CG5714	<i>ecd</i>	-1.6
CG10077	<i>CG10077</i>	-1.6
CG15671	<i>cv-2</i>	-1.6

CG4201	<i>ird5</i>	-1.6
CG31355	<i>CG31355</i>	-1.6
CG32160	<i>CR32160</i>	-1.6
CG6453	<i>CG6453</i>	-1.6
CG10609	<i>Orco</i>	-1.6
CG31805	<i>CG31805</i>	-1.6
CG11888	<i>Rpn2</i>	-1.6
CG3915	<i>Drl-2</i>	-1.6
CG5284	<i>CIC-c</i>	-1.6
CG7382	<i>CG7382</i>	-1.6
CG11071	<i>CG11071</i>	-1.6
CG18542	<i>CG18542</i>	-1.6
CG4335	<i>CG4335</i>	-1.6
CG18654	<i>Dgk</i>	-1.6
CG13716	<i>CG13716</i>	-1.6
CG7726	<i>RpL11</i>	-1.6
CG30429	<i>CG30429</i>	-1.6
CG31851	<i>CG31851</i>	-1.6
CG11854	<i>CG11854</i>	-1.6
CG11814	<i>CG42863</i>	-1.6
CG3679	<i>CG3679</i>	-1.6
CG13699	<i>CG13699</i>	-1.6
CG31765	<i>nimA</i>	-1.6
CG7707	<i>CG7707</i>	-1.6
CG6208	<i>CG6208</i>	-1.6
CG10207	<i>NaPi-T</i>	-1.6
CG31275	<i>CG31275</i>	-1.6
CG14840	<i>CG14840</i>	-1.6
CG4697	<i>CSN1a</i>	-1.6
CG5119	<i>hyd</i>	-1.6
CG2520	<i>lap</i>	-1.6
CG9100	<i>Rab30</i>	-1.6
CG12345	<i>VACHT</i>	-1.6
CG6827	<i>Nrx-IV</i>	-1.6
CG12740	<i>RpL28</i>	-1.6
CG5327	<i>CG5327</i>	-1.6
CG8058	<i>Hydr1</i>	-1.6
CG3419	<i>CG3419</i>	-1.6
CG32095	<i>CG32095</i>	-1.6
CG11968	<i>RagA</i>	-1.6
CG5192	<i>Rh6</i>	-1.6
CG8726	<i>CG8726</i>	-1.6
CG33138	<i>CG33138</i>	-1.6
CG8538	<i>CG8538</i>	-1.6
CG8195	<i>CG8195</i>	-1.6
CG10673	<i>CG10673</i>	-1.6
CG12593	<i>dpr4</i>	-1.6
CG14355	<i>CG14355</i>	-1.6
CG10689	<i>l(2)37Cb</i>	-1.6
CG5595	<i>Sce</i>	-1.6
CG31536	<i>Cdep</i>	-1.6
CG6821	<i>Lsp1gamma</i>	-1.6
CG5355	<i>CG5355</i>	-1.6
CG18853	<i>CG18853</i>	-1.6
CG8065	<i>CG8065</i>	-1.6

CG15863	<i>CG15863</i>	-1.6
CG4216	<i>term</i>	-1.6
CG7771	<i>sim</i>	-1.7
CG16713	<i>CG16713</i>	-1.7
CG17082	<i>CG17082</i>	-1.7
CG31673	<i>CG31673</i>	-1.7
CG3032	<i>CG3032</i>	-1.7
CG5276	<i>CG5276</i>	-1.7
CG9470	<i>MtnA</i>	-1.7
CG12749	<i>Hrb87F</i>	-1.7
CG14872	<i>CG14872</i>	-1.7
CG8336	<i>CG8336</i>	-1.7
CR31808	<i>CG31808</i>	-1.7
CG10168	<i>CG10168</i>	-1.7
CG6757	<i>SH3PX1</i>	-1.7
CG8765	<i>CG8765</i>	-1.7
CG2071	<i>Ser6</i>	-1.7
CG11281	<i>snky</i>	-1.7
CG11838	<i>rempA</i>	-1.7
CG18492	<i>Tak1</i>	-1.7
CG5016	<i>Mst57Db</i>	-1.7
CG10851	<i>B52</i>	-1.7
CG6582	<i>Aac11</i>	-1.7
CG9004	<i>CG9004</i>	-1.7
CG12307	<i>CG12307</i>	-1.7
CG30360	<i>Mal-A6</i>	-1.7
CG3123	<i>CG3123</i>	-1.7
CG5156	<i>CG42329</i>	-1.7
CG5506	<i>CG5506</i>	-1.7
CG3000	<i>rap</i>	-1.7
CG31717	<i>CG31717</i>	-1.7
CG17523	<i>GstE2</i>	-1.7
CG11658	<i>CG11658</i>	-1.7
CG30005	<i>CG30005</i>	-1.7
CG9312	<i>CG9312</i>	-1.7
CG30181	<i>CG30181</i>	-1.7
CR12953	<i>Ir51a</i>	-1.7
CG9854	<i>hrg</i>	-1.7
CG4863	<i>RpL3</i>	-1.7
CG10686	<i>tral</i>	-1.7
CG2014	<i>CG2014</i>	-1.7
CG6889	<i>tara</i>	-1.7
CG3061	<i>CG3061</i>	-1.7
CG33017	<i>CG33017</i>	-1.7
CG31000	<i>heph</i>	-1.7
CG8676	<i>Hr39</i>	-1.7
CG4705	<i>CG4705</i>	-1.7
CG15370	<i>CG15370</i>	-1.7
CG5169	<i>GckIII</i>	-1.7
CG6379	<i>CG6379</i>	-1.7
CG3446	<i>CG3446</i>	-1.7
CG6830	<i>CG6830</i>	-1.7
CG18273	<i>CG18273</i>	-1.7
CG3349	<i>CG3349</i>	-1.7
CG32811	<i>CG32811</i>	-1.8

CG32234	<i>axo</i>	-1.8
CG11015	<i>CoVb</i>	-1.8
CG13969	<i>bwa</i>	-1.8
CG6845	<i>CG6845</i>	-1.8
CG12547	<i>CG12547</i>	-1.8
CG6672	<i>CG6672</i>	-1.8
CG10118	<i>ple</i>	-1.8
CG13679	<i>CG13679</i>	-1.8
CG8432	<i>Rep</i>	-1.8
CG4636	<i>SCAR</i>	-1.8
CG4882	<i>CG4882</i>	-1.8
CG5632	<i>thoc6</i>	-1.8
CG18316	<i>CG18316</i>	-1.8
CG5068	<i>CG5068</i>	-1.8
CG31618	<i>His2A:CG31618</i>	-1.8
CG11144	<i>mGluRA</i>	-1.8
CG5654	<i>yps</i>	-1.8
CG11951	<i>CG11951</i>	-1.8
CG4125	<i>rst</i>	-1.8
CG40313	<i>CG40313</i>	-1.8
CG8827	<i>Ance</i>	-1.8
CG1681	<i>CG1681</i>	-1.8
CG3527	<i>CG3527</i>	-1.8
CG7372	<i>CG7372</i>	-1.8
CG11019	<i>CG31688</i>	-1.8
CG8067	<i>CG8067</i>	-1.8
CG6041	<i>CG6041</i>	-1.8
CG1019	<i>Mlp84B</i>	-1.8
CG3198	<i>CG3198</i>	-1.8
CG7494	<i>mRpL1</i>	-1.8
CG2206	<i>l(1)G0193</i>	-1.8
CG9591	<i>omd</i>	-1.8
CG7639	<i>CG7639</i>	-1.8
CG18096	<i>Tepl</i>	-1.8
CG3065	<i>CG3065</i>	-1.8
CG18265	<i>CG18265</i>	-1.8
CG7740	<i>prominin-like</i>	-1.8
CG40081	<i>CG40081</i>	-1.8
CG32580	<i>Muc14A</i>	-1.8
CG15211	<i>CG15211</i>	-1.8
CG4221	<i>CG4221</i>	-1.8
CG4701	<i>CG4701</i>	-1.9
CG14808	<i>Scgdelta</i>	-1.9
CG31147	<i>mthl11</i>	-1.9
CG8652	<i>Ugt37c1</i>	-1.9
CG2021	<i>CG2021</i>	-1.9
CG7973	<i>CG42729</i>	-1.9
CG1429	<i>Mef2</i>	-1.9
CG15321	<i>nej</i>	-1.9
CG9992	<i>CG9992</i>	-1.9
CG7752	<i>pzg</i>	-1.9
CG10863	<i>CG10863</i>	-1.9
CG10947	<i>CG10947</i>	-1.9
CG5588	<i>Mtl</i>	-1.9
CG8342	<i>m1</i>	-1.9

CG13280	<i>CG13280</i>	-1.9	CG31828	<i>CG31828</i>	-2.0
CG32971	<i>CG32971</i>	-1.9	CG9224	<i>sog</i>	-2.0
CG7279	<i>Lip1</i>	-1.9	CG12014	<i>CG12014</i>	-2.0
CG5670	<i>Atpalpha</i>	-1.9	CG5344	<i>wkd</i>	-2.0
CG11527	<i>Tig</i>	-1.9	CG10200	<i>CG10200</i>	-2.0
CG12169	<i>Ppm1</i>	-1.9	CG30118	<i>CG30118</i>	-2.0
CG18561	<i>CG18561</i>	-1.9	CG5773	<i>CG5773</i>	-2.0
CG7246	<i>CG7246</i>	-1.9	CG32495	<i>CG32495</i>	-2.0
CG3934	<i>Npc2c</i>	-1.9	CG30016	<i>CG30016</i>	-2.0
CG15326	<i>Ir7b</i>	-1.9	CG10931	<i>CG10931</i>	-2.0
CG6793	<i>CG6793</i>	-1.9	CG33175	<i>spri</i>	-2.0
CG14294	<i>CG14294</i>	-1.9	CR32777	<i>roX1</i>	-2.0
CG7599	<i>Eig71Ef</i>	-1.9	CG5322	<i>CG5322</i>	-2.0
CG6890	<i>Tollo</i>	-1.9	CG8934	<i>CG42235</i>	-2.0
CG8311	<i>CG8311</i>	-1.9	CG32802	<i>CG32802</i>	-2.0
CG3541	<i>pio</i>	-1.9	CG16756	<i>CG16756</i>	-2.0
CG6601	<i>Rab6</i>	-1.9	CG15742	<i>CG15742</i>	-2.0
CG2049	<i>Pkn</i>	-1.9	CG31649	<i>Msp-300</i>	-2.0
CG32017	<i>CG32017</i>	-1.9	CG7586	<i>Mcr</i>	-2.0
CG7486	<i>Dredd</i>	-1.9	CG17732	<i>CG17732</i>	-2.0
CG7918	<i>CG7918</i>	-1.9	CG6343	<i>ND42</i>	-2.0
CG3193	<i>crn</i>	-1.9	CR32665	<i>roX2</i>	-2.1
CG4897	<i>RpL7</i>	-1.9	CG7568	<i>CG7568</i>	-2.1
CG1701	<i>CG1701</i>	-1.9	CG5837	<i>Hem</i>	-2.1
CG10864	<i>CG10864</i>	-1.9	CG3273	<i>sced</i>	-2.1
CG10078	<i>Prat2</i>	-1.9	CG5179	<i>Cdk9</i>	-2.1
CG7897	<i>gp210</i>	-1.9	CG12099	<i>CG12099</i>	-2.1
CG9841	<i>EfSec</i>	-1.9	CG18368	<i>CG18368</i>	-2.1
CG7526	<i>frac</i>	-1.9	CG18255	<i>Strn-Mlck</i>	-2.1
CG31436	<i>CG31436</i>	-1.9	CG9143	<i>CG9143</i>	-2.1
CG14070	<i>CG14070</i>	-1.9	CG17816	<i>CG17816</i>	-2.1
CG40300	<i>AGO3</i>	-1.9	CG16707	<i>vsg</i>	-2.1
CG4438	<i>CG4438</i>	-1.9	CG6376	<i>E2f</i>	-2.1
CG11326	<i>Tsp</i>	-1.9	CG15219	<i>CG15219</i>	-2.1
CG4120	<i>Cyp12c1</i>	-1.9	CG9695	<i>Dab</i>	-2.1
CG15286	<i>CG15286</i>	-1.9	CG9676	<i>CG9676</i>	-2.1
CG8128	<i>CG8128</i>	-1.9	CG10659	<i>CG10659</i>	-2.1
CG3096	<i>Brd</i>	-1.9	CG12426	<i>CG12426</i>	-2.1
CG33475	<i>CG33475</i>	-2.0	CG18531	<i>Gr2a</i>	-2.1
CG5977	<i>spas</i>	-2.0	CG3068	<i>aur</i>	-2.1
CG3992	<i>srp</i>	-2.0	CG1786	<i>Cyp318a1</i>	-2.1
CG30069	<i>CG30069</i>	-2.0	CG17941	<i>ds</i>	-2.1
CG10626	<i>Lkr</i>	-2.0	CG6726	<i>CG6726</i>	-2.1
CG33080	<i>CG33080</i>	-2.0	CR31853	<i>snRNA:U5:34A</i>	-2.1
CG17681	<i>CG17681</i>	-2.0	CG32217	<i>Su(Tpl)</i>	-2.1
CG11245	<i>Pkcdelta</i>	-2.0	CG13359	<i>CG13359</i>	-2.1
CG32000	<i>CG32000</i>	-2.0	CG8734	<i>beta3GalTII</i>	-2.1
CG12113	<i>IntS4</i>	-2.0	CG15027	<i>CG15027</i>	-2.1
CG17684	<i>CG17684</i>	-2.0	CG17329	<i>CG17329</i>	-2.1
CG13102	<i>CG13102</i>	-2.0	CG14299	<i>CG14299</i>	-2.2
CG40264	<i>CG40264</i>	-2.0	CG3491	<i>CG3491</i>	-2.2
CG7210	<i>kel</i>	-2.0	CG6541	<i>Mst33A</i>	-2.2
CG11109	<i>CG11109</i>	-2.0	CG17024	<i>CR17024</i>	-2.2
CG9097	<i>bab1</i>	-2.0	CG4428	<i>Atg4</i>	-2.2
CG31313	<i>CG31313</i>	-2.0	CG15172	<i>CG15172</i>	-2.2

CG11710	<i>CG11710</i>	-2.2	CG12602	<i>Vha100-5</i>	-2.4
CG18600	<i>CG18600</i>	-2.2	CG11992	<i>Rel</i>	-2.4
CG30266	<i>CG42284</i>	-2.2	CG31534	<i>CG43427</i>	-2.4
CG9597	<i>Pbp45</i>	-2.2	CG33478	<i>Or46a</i>	-2.4
CR31490	<i>tRNA:K5:84ABd</i>	-2.2	CG10264	<i>CG10264</i>	-2.4
CG18648	<i>cp309</i>	-2.2	CG32817	<i>CG32817</i>	-2.4
CG5118	<i>CG5118</i>	-2.2	CG8197	<i>CG8197</i>	-2.4
CG16986	<i>CG16986</i>	-2.2	CG3064	<i>futsch</i>	-2.4
CG12141	<i>Aats-lys</i>	-2.2	CG8586	<i>CG8586</i>	-2.5
CG15443	<i>CG15443</i>	-2.2	CG33144	<i>CG33144</i>	-2.5
CG4739	<i>Ugt86Dc</i>	-2.2	CG9801	<i>CG9801</i>	-2.5
CG32823	<i>Sdic3</i>	-2.2	CG32260	<i>CG32260</i>	-2.5
CG11808	<i>CG11808</i>	-2.2	CG10336	<i>CG10336</i>	-2.5
CG31522	<i>CG31522</i>	-2.2	CG8987	<i>tam</i>	-2.5
CG15473	<i>CG15473</i>	-2.2	CG5938	<i>CG5938</i>	-2.5
CG18540	<i>CG18540</i>	-2.2	CG1975	<i>Drep-2</i>	-2.5
CG12729	<i>CG12729</i>	-2.2	CG4907	<i>CG4907</i>	-2.5
CG30125	<i>Ir56a</i>	-2.2	CG14001	<i>bchs</i>	-2.5
CG8312	<i>CG8312</i>	-2.2	CG40053	<i>CG40053</i>	-2.5
CG8953	<i>Actn3</i>	-2.2	CG5058	<i>grh</i>	-2.5
CG12765	<i>fsd</i>	-2.2	CG9697	<i>PGRP-SB2</i>	-2.5
CG14500	<i>CG14500</i>	-2.2	CG40130	<i>CG40130</i>	-2.5
CG14059	<i>CG14059</i>	-2.2	CG13428	<i>CG13428</i>	-2.5
CG6265	<i>Nep5</i>	-2.2	CG10881	<i>CG10881</i>	-2.5
CG33181	<i>CG33181</i>	-2.3	CG5071	<i>CG5071</i>	-2.5
CG12347	<i>CG12347</i>	-2.3	CG12066	<i>Pka-C2</i>	-2.5
CG8722	<i>Nup44A</i>	-2.3	CG3126	<i>C3G</i>	-2.5
CG6231	<i>CG6231</i>	-2.3	CG11309	<i>CG11309</i>	-2.5
CG9412	<i>rin</i>	-2.3	CG13777	<i>milt</i>	-2.5
CG5182	<i>Pk34A</i>	-2.3	CG14907	<i>CG14907</i>	-2.6
CG3081	<i>CG3081</i>	-2.3	CG11993	<i>Mst85C</i>	-2.6
CG16749	<i>CG16749</i>	-2.3	CG32413	<i>CG32413</i>	-2.6
CG5059	<i>CG5059</i>	-2.3	CG11099	<i>CG11099</i>	-2.6
CG3739	<i>CG3739</i>	-2.3	CG10333	<i>CG10333</i>	-2.6
CG18081	<i>CG18081</i>	-2.3	CG11148	<i>CG11148</i>	-2.6
CG2488	<i>phr6-4</i>	-2.3	CG11901	<i>Ef1gamma</i>	-2.6
CG10393	<i>amos</i>	-2.3	CR32863	<i>snoRNA:MeU5-C46</i>	-2.6
CG10315	<i>eIF2B-delta</i>	-2.3	CG15097	<i>CG15097</i>	-2.7
CG12424	<i>ckn</i>	-2.3	CG6805	<i>CG6805</i>	-2.7
CG8545	<i>CG8545</i>	-2.3	CG15441	<i>Gs1l</i>	-2.7
CG1550	<i>CG1550</i>	-2.3	CG17244	<i>CG17244</i>	-2.7
CG9707	<i>Acox57D-p</i>	-2.3	CG1602	<i>CG1602</i>	-2.7
CG6701	<i>CG6701</i>	-2.3	CG10293	<i>how</i>	-2.7
CG6985	<i>CG6985</i>	-2.3	CG6983	<i>CG6983</i>	-2.7
CG1520	<i>WASp</i>	-2.3	CG4785	<i>CG4785</i>	-2.7
CG31357	<i>CG31357</i>	-2.3	CG9441	<i>Pu</i>	-2.7
CG8102	<i>CG8102</i>	-2.3	CG17143	<i>thoc7</i>	-2.7
CG12311	<i>tw</i>	-2.3	CG8809	<i>Camta</i>	-2.7
CG11533	<i>Asator</i>	-2.3	CG3955	<i>CG3955</i>	-2.7
CG8505	<i>Cpr49Ae</i>	-2.3	CG17680	<i>CG17680</i>	-2.7
CG31694	<i>CG31694</i>	-2.4	CG14291	<i>CG14291</i>	-2.7
CG6800	<i>CG6800</i>	-2.4	CG13091	<i>CG13091</i>	-2.7
CG11778	<i>CNT1</i>	-2.4	CG8252	<i>CG8252</i>	-2.7
CG1814	<i>CG1814</i>	-2.4	CG12052	<i>lola</i>	-2.7
CG31728	<i>CG31728</i>	-2.4	CG13465	<i>CG13465</i>	-2.7

CG18507	<i>CG18507</i>	-2.7
CG33279	<i>CG42458</i>	-2.7
CG32797	<i>CG32797</i>	-2.7
CG13641	<i>CG13641</i>	-2.8
CG32350	<i>CG32350</i>	-2.8
CG5121	<i>MED28</i>	-2.8
CG16705	<i>SPE</i>	-2.8
CG2233	<i>CG2233</i>	-2.8
CG1644	<i>Cyp6t1</i>	-2.8
CG1994	<i>I(1)G0020</i>	-2.8
CG7496	<i>PGRP-SD</i>	-2.8
CG15261	<i>UK114</i>	-2.8
CG18779	<i>Lcp65Ag3</i>	-2.8
CG6808	<i>CG6808</i>	-2.9
CG2928	<i>Reg-5</i>	-2.9
CG12092	<i>Npc1b</i>	-2.9
CG31373	<i>CG31373</i>	-2.9
CG11665	<i>CG11665</i>	-2.9
CG32016	<i>CG32016</i>	-2.9
CG4185	<i>NC2beta</i>	-2.9
CG32648	<i>Pde9</i>	-2.9
CG6667	<i>dl</i>	-2.9
CG33494	<i>CG33494</i>	-2.9
CG31990	<i>CG17768</i>	-2.9
CG12846	<i>Tsp42Ed</i>	-2.9
CG16762	<i>CG16762</i>	-2.9
CG12352	<i>san</i>	-2.9
CG4268	<i>Pitslre</i>	-2.9
CG31415	<i>CG31415</i>	-2.9
CG4716	<i>CG4716</i>	-3.0
CG31508	<i>TotC</i>	-3.0
CG9570	<i>CG9570</i>	-3.0
CG32343	<i>Atac3</i>	-3.0
CG17631	<i>CG17631</i>	-3.0
CG31437	<i>CG31437</i>	-3.0
CG8605	<i>CG8605</i>	-3.0
CG10977	<i>CG33523</i>	-3.0
CG5024	<i>CG5024</i>	-3.0
CG9487	<i>CG34398</i>	-3.1
CG10253	<i>CG10253</i>	-3.1
CG14478	<i>CG14478</i>	-3.1
CG32954	<i>Adhr</i>	-3.1
CG3906	<i>CG3906</i>	-3.1
CG32282	<i>dro4</i>	-3.1
CG3811	<i>Oatp30B</i>	-3.1
CG4859	<i>Mmp1</i>	-3.1
CG15152	<i>CG15152</i>	-3.1
CG15780	<i>CG34434</i>	-3.1
CG16716	<i>CG16716</i>	-3.1
CG3340	<i>Kr</i>	-3.1
CG8141	<i>CG8141</i>	-3.2
CG32368	<i>CG32368</i>	-3.2
CG6778	<i>Aats-gly</i>	-3.2
CG15829	<i>CG15829</i>	-3.2
CG9526	<i>frj</i>	-3.3

CG9122	<i>Trh</i>	-3.3
CG32715	<i>CG32715</i>	-3.3
CG13862	<i>CG13862</i>	-3.4
CG11759	<i>Kap3</i>	-3.4
CG5436	<i>Hsp68</i>	-3.4
CG31764	<i>vir-1</i>	-3.4
CG31345	<i>CG31345</i>	-3.4
CG1158	<i>Tim17b1</i>	-3.5
CG7587	<i>CG7587</i>	-3.5
CG11414	<i>CG11414</i>	-3.5
CR32910	<i>snoRNA: U49:66Db</i>	-3.5
CG9042	<i>Gpdh</i>	-3.5
CG2110	<i>Cyp4ad1</i>	-3.5
CG10738	<i>CG10738</i>	-3.6
CG6720	<i>UbcD2</i>	-3.6
CG9210	<i>Ac13E</i>	-3.6
CG10079	<i>EGFR</i>	-3.6
CG1154	<i>Osí12</i>	-3.7
CG1389	<i>tor</i>	-3.7
CG5522	<i>CG5522</i>	-3.7
CG13097	<i>CG13097</i>	-3.7
CG4465	<i>CG4465</i>	-3.7
CG9091	<i>RpL37a</i>	-3.7
CG13964	<i>sick</i>	-3.7
CG8068	<i>Su(var)2-10</i>	-3.8
CG10147	<i>CG10147</i>	-3.8
CG7201	<i>CG7201</i>	-3.8
CG13779	<i>CG13779</i>	-3.8
CG8207	<i>CG8207</i>	-3.8
CG14691	<i>CG14691</i>	-3.9
CG1658	<i>Doa</i>	-3.9
CG10697	<i>Ddc</i>	-3.9
CG3283	<i>SdhB</i>	-3.9
CG13003	<i>CG13003</i>	-3.9
CG13564	<i>CG13564</i>	-3.9
CG18744	<i>CG18744</i>	-3.9
CG3265	<i>Eb1</i>	-3.9
CG11738	<i>I(1)G0004</i>	-3.9
CG4353	<i>hep</i>	-3.9
CG14129	<i>CG34420</i>	-3.9
CG12826	<i>CG12826</i>	-4.0
CG16888	<i>CG16888</i>	-4.0
CG17108	<i>CG17108</i>	-4.0
CG3523	<i>CG3523</i>	-4.0
CG7628	<i>CG42575</i>	-4.0
CG7453	<i>CG7453</i>	-4.1
CR32078	<i>CG42575</i>	-4.1
CG10446	<i>Side</i>	-4.1
CG4376	<i>Actn</i>	-4.1
CG4377	<i>CG4377</i>	-4.1
CG5106	<i>scpr-C</i>	-4.1
CG8565	<i>CG8565</i>	-4.2
CG9496	<i>Tsp29Fb</i>	-4.3
CG6794	<i>Dif</i>	-4.3
CG30440	<i>CG30440</i>	-4.4

CG18661	<i>CG18661</i>	-4.4
CG5924	<i>CG5924</i>	-4.4
CG12752	<i>Nxt1</i>	-4.5
CR33258	<i>CG33258</i>	-4.5
CG32428	<i>CG32428</i>	-4.6
CG18107	<i>CG18107</i>	-4.6
CG18066	<i>Cpr57A</i>	-4.6
CG15113	<i>5-HT1B</i>	-4.6
CG32284	<i>CG32284</i>	-4.8
CR32886	<i>Uhg1</i>	-4.8
CG7595	<i>ck</i>	-4.8
CG17896	<i>CG17896</i>	-4.9
CG17928	<i>CG17928</i>	-4.9
CG14680	<i>Cyp12e1</i>	-4.9
CG3299	<i>Vinc</i>	-5.0
CG30428	<i>CG30428</i>	-5.1
CR32934	<i>Cec2</i>	-5.2
CG7875	<i>trp</i>	-5.3
CG15351	<i>Cp7Fc</i>	-5.4
CG8956	<i>Ahcy89E</i>	-5.4
CG1268	<i>VhaM9.7-a</i>	-5.5
CR32489	<i>CR32489</i>	-5.5
CG6817	<i>foi</i>	-5.5
CG18111	<i>Obp99a</i>	-5.5
CG11802	<i>CG11802</i>	-5.7

CG16704	<i>CG16704</i>	-5.7
CG13337	<i>CG13337</i>	-5.7
CG1259	<i>Cpr64Ad</i>	-5.8
CG9044	<i>CG9044</i>	-5.9
CG2239	<i>jdp</i>	-5.9
CG2380	<i>Nfl</i>	-6.0
CG17319	<i>2mit</i>	-6.2
CG14491	<i>CG14491</i>	-6.4
CG6912	<i>CG6912</i>	-7.1
CG9981	<i>CG9981</i>	-7.2
CG18088	<i>CG18088</i>	-7.2
CG7466	<i>CG7466</i>	-7.2
CG31410	<i>Npc2e</i>	-7.3
CG9935	<i>CG9935</i>	-7.6
CG5227	<i>sdk</i>	-7.6
CG10788	<i>ng3</i>	-7.6
CG7910	<i>CG7910</i>	-8.0
CG7920	<i>CG7920</i>	-10.0
CG11091	<i>CG11091</i>	-11.2
CG2560	<i>Cpr11A</i>	-11.7
CG3705	<i>aay</i>	-11.9
CG6846	<i>RpL26</i>	-13.6
CG18110	<i>CG18110</i>	-14.6