

**Charakterisierung der molekularen Wirkmechanismen
der Langlebigkeitsgene *Sir2* und *foxo* und der
epigenetischen Anpassungen an eine Nahrungsrestriktion
in *Drosophila melanogaster***

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

Julia Hoffmann

aus Erfurt

Kiel

2013

1. Gutachter: Prof. Dr. Thomas Roeder

2. Gutachter: Prof. Dr. Frank Döring

Tag der mündlichen Prüfung: 20. Juni 2013

Zum Druck genehmigt: 20. Juni 2013

Dekan: Prof. Dr. Wolfgang J. Duschl

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	6
Zusammenfassung	9
Summary	11
1 Einleitung.....	13
1.1 Warum Altersforschung?	13
1.2 Sir2.....	14
1.2.1 Sirtuine	14
1.2.2 Sir2 als Langlebigkeitsgen.....	14
1.2.3 Physiologische Funktionen von SIR2/SIRT1	15
1.3 FOXO im IGF-Signalweg und als Stresswächter.....	18
1.3.1 foxo als Langlebigkeitsgen.....	18
1.3.2 Der IGF-Signalweg in der Altersforschung	18
1.3.3 Stressaktivierung von FOXO	20
1.4 Nahrungsrestriktion und Lebenserwartung.....	22
1.5 Histonmodifikationen: Biochemische Manifestation der epigenetischen Regulation ...	24
1.5.1 Epigenetische Regulation in <i>Drosophila</i>	24
1.5.2 Transkriptionskontrolle durch Histonmodifikationen.....	24
1.6 <i>Drosophila</i> als Modellorganismus	29
1.6.1 <i>Drosophila</i> als Modellorganismus in der Altersforschung	29
1.6.2 Das GeneSwitch GAL4 System.....	29
1.6.3 Der Fettkörper von <i>Drosophila</i>	31
1.7 Ziel der Arbeit.....	33
2 Material und Methoden	34
2.1 Material	34
2.1.1 Geräte.....	34
2.1.2 Verbrauchsmaterialien.....	35
2.1.3 Chemikalien.....	35
2.1.4 Reagenziensysteme (Kits).....	37
2.1.5 Enzyme	37
2.1.6 Primer	38
2.1.7 Antikörper	38
2.1.8 Arrays	38
2.1.9 Lösungen und Puffer	39
2.1.9.1 Puffer für den täglichen Gebrauch.....	39
2.1.9.2 Lösung für den β -Galactosidase-Aktivitätstest	40
2.1.9.3 Waschlösungen für den Microarray.....	40
2.1.9.4 Puffer für die Chromatinimmunpräzipitation	41

2.1.10	Fliegenmedien	43
2.1.11	Fliegenstämme	44
2.1.12	Software	44
2.2	Methoden.....	45
2.2.1	Fliegenzucht	45
2.2.2	Überprüfung der Treiberaktivität mithilfe des β -Galactosidase-Aktivitätstests.....	45
2.2.3	Methoden zur phänotypischen Charakterisierung	45
2.2.3.1	Lebensdauerversuche	45
2.2.3.2	Fettbestimmung.....	45
2.2.3.3	BODIPY-Färbung und Bestimmung der Lipidtröpfchengröße	46
2.2.3.4	Immunhistochemischer Nachweis der zellulären Lokalisation von FOXO	46
2.2.4	Microarray.....	47
2.2.4.1	Präparation des Fettkörpers und RNA-Isolierung	47
2.2.4.2	cDNA-Synthese von Gesamt-mRNA	48
2.2.4.3	cDNA-PCR	49
2.2.4.4	Synthese der aminoallyl-cRNA	50
2.2.4.5	Farbstoffkopplung an die aminoallyl-cRNA.....	50
2.2.4.6	Hybridisierung des Microarrays	51
2.2.4.7	Scannen und Auswertung des Mikroarrays	51
2.2.5	Quantitative real-time PCR (qRT-PCR)	54
2.2.6	Chromatin-Immunpräzipitation und Microarray-Analyse (ChIP-Chip)	56
2.2.6.1	Chromatin-Extraktion.....	56
2.2.6.2	Immunpräzipitation.....	56
2.2.6.3	DNA-Aufreinigung der Immunpräzipitate und der Input-Kontrollen.....	57
2.2.6.4	Amplifizierung der präzipitierten Fragmente.....	57
2.2.6.5	Weitere Probenprozessierung durch Source BioScience imaGenes GmbH.....	57
2.2.6.6	Auswertung der ChIP-Chip Daten	58
2.2.7	Statistik.....	58
3	Ergebnisse	59
3.1	Der Einfluss von <i>Sir2</i> und <i>foxo</i> auf die Lebensspanne.....	59
3.1.1	Nachweis der induzierbaren Expression im Fettkörper	59
3.1.2	Charakterisierung der Funktionen von <i>Sir2</i> im Fettkörper	60
3.1.2.1	<i>Sir2</i> -Überexpression verlängert das Leben von <i>Drosophila</i>	60
3.1.2.2	<i>Sir2</i> -Überexpression erhöht die Hungerresistenz von männlichen Fliegen.....	63
3.1.2.3	Einfluss der <i>Sir2</i> -Überexpression auf die Fettspeicherung	64
3.1.2.4	Einfluss der <i>Sir2</i> -Überexpression auf das Transkriptom des Fettkörpers.....	66
3.1.3	Charakterisierung der Funktionen von <i>foxo</i> im Fettkörper	71
3.1.3.1	Einfluss von <i>foxo</i> auf die Hungerresistenz	71
3.1.3.2	Einfluss von <i>foxo</i> auf die Fettspeicherung	73
3.1.3.3	Einfluss von <i>foxo</i> auf das Transkriptom des Fettkörpers	73
3.1.4	Vergleichende Untersuchung von Interventionen, die zur Langlebigkeit führen.....	79
3.1.4.1	Vergleich des Fettkörper-Transkriptoms nach <i>Sir2</i> -Überexpression und DR	79
3.1.4.2	Vergleich des Fettkörper-Transkriptoms nach <i>foxo</i> -Überexpression und DR	81

3.1.4.3	Das Transkriptom des Fettkörpers nach <i>Sir2</i> - und <i>foxo</i> -Überexpression	82
3.1.5	Vergleich des Fettkörper-Transkriptoms nach <i>Sir2</i> -Überexpression mit dem Lipidtröpfchen-Proteom	85
3.2	Der Einfluss der Nahrungsrestriktion auf die epigenetische Regulation von <i>Drosophila</i>	87
3.2.1	Untersuchung der Lebensspanne von <i>Drosophila</i> unter DR	87
3.2.2	Einfluss der Nahrungsrestriktion auf die epigenetische Regulation	89
4	Diskussion	95
4.1	<i>Sir2</i> und <i>foxo</i> als Kandidaten für Langlebigkeitsgene	97
4.1.1	Die <i>Sir2</i> -Überexpression im Fettkörper erhöht die Lebenserwartung von weiblichen und männlichen Fliegen	97
4.1.2	<i>Sir2</i> - und <i>foxo</i> -Überexpression lösen ähnliche Phänotypen aus.....	98
4.1.3	<i>Sir2</i> und <i>foxo</i> rufen ähnliche Genexpressionsmuster hervor.....	99
4.2	Einfluss der DR auf die epigenetische Regulation	104
4.2.1	DR führt zur Hyperacetylierung von H3K9	104
4.2.2	Epigenetische Anpassungen an DR	105
4.2.3	Fazit und Ausblick.....	108
	Literaturverzeichnis	109
	Abbildungsverzeichnis.....	122
	Tabellenverzeichnis.....	124
	Lebenslauf.....	126
	Publikationen	128
	Danksagung.....	129
	Erklärung	130
A	Anhang.....	131

Abkürzungsverzeichnis

3'UTR	untranslatierter Bereich am 3'-Ende der mRNA (<i>3'-untranslated region</i>)
5'UTR	untranslatierter Bereich am 5'-Ende der mRNA (<i>5'-untranslated region</i>)
abh.	abhängig
AMPK	AMP-aktivierte Kinase
ATP	Adenosintriphosphat
bp	Basenpaare (<i>base pairs</i>)
cDNA	komplementäre DNA (<i>complimentary DNA</i>)
CBP	<i>CRE-binding protein</i>
ChIP-Chip	Chromatinimmunpräzipitation gekoppelt an eine Mikroarray-Analyse
CM	Kontrollmedium (<i>control/concentrated medium</i>)
CR	kalorische Restriktion (<i>caloric restriction</i>)
cRNA	komplementäre RNA (<i>complimentary RNA</i>)
CRTC2	<i>CREB regulated transcription coactivator 2</i>
CTP	Cytosintriphosphat
CT-Wert	<i>reshold cycle</i>
DAVID	<i>Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery</i>
ddH ₂ O	zweifach destilliertes Wasser
DNA	Desoxyribonukleinsäure (<i>desoxyribonucleic acid</i>)
dNTP	Desoxynukleotid
DR	Nahrungsrestriktion (<i>dietary restriction</i>)
DTT	Dithiotreitol
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EGTA	Ethylenglycol-bis(aminoethylether)-N,N,N',N'-tetraessigsäure
EtOH	Ethanol
FDR	<i>false discovery rate</i>
FOXO	<i>forkhead box O protein</i>
G2-Phase	prämitotische Phase des Zellzyklus
GFP	grün fluoreszierendes Protein
GO-Kategorie	Gen-Ontologie-Kategorie (<i>Gene Ontology Term</i>)
GTP	Guanosintriphosphat
H3K9ac	Histonmodifikation: Histon H3 acetyliert am Lysinrest 9
HDAC	Histondeacetylase
HEPES	2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure
HIF1 α	<i>hypoxia inducible factor 1α</i>
HL3	<i>hemolymph-like buffer</i>
IGF-Signalweg	Insulin / <i>insulin-like growth factor</i> -Signalweg
ILP	<i>insulin-like peptide</i>

JNK	<i>c-jun N-terminal kinase</i>
kbp	Kilobasenpaare (<i>kilobase pairs</i>)
KEGG	<i>Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes</i>
MAPK	<i>mitogen activated protein kinase</i>
M-Phase	Mitose-Phase des Zellzyklus
Mrd.	Milliarden
MST-1	<i>mammalian Sterile20-like 1</i>
n. s.	nicht signifikant
ncRNA	nukleäre RNA (<i>nuclear RNA</i>)
NFκB	<i>nuclear factor κB</i>
NGS	Ziegenserum (<i>normal goat serum</i>)
PBS	Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung (<i>phosphate buffered saline</i>)
PBT	PBS-Triton-X 100
PCR	Polymerasekettenreaktion (<i>polymerase chain reaction</i>)
PGC-1α	<i>peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1 α</i>
PPAR-γ	<i>peroxisome proliferator-activated receptor γ</i>
qRT-PCR	quantitative real-time PCR
RNA	Ribonukleinsäure (<i>ribonucleic acid</i>)
RG	Referenzgen
rpm	Umdrehungen pro Minute (<i>rotations per minute</i>)
RT	Raumtemperatur
RU486	Mifepriston
SDS	Natriumdodecylsulfat (<i>sodium dodecyl sulfate</i>)
SEM	Standardfehler des Mittelwerts (<i>standard error of the mean</i>)
<i>Sir2</i>	<i>silent information regulator 2</i>
SREBP1c	<i>sterol regulatory element-binding protein 1c</i>
SUMO	<i>small ubiquitin-like modifier</i>
TAG	Triacylglycerid
TBE	TRIS-Borat-EDTA-Puffer
TE	TRIS-EDTA-Puffer
TOR	<i>target of rapamycin</i>
TRIS	Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan
UCP2	<i>uncoupling protein 2</i>
UAS	<i>upstream activating sequence</i>
ÜN	über Nacht
UTP	Uridintriphosphat
ZG	Zielgen

Des Weiteren wurden allgemein übliche Abkürzungen und die nach dem SI-System festgelegten Einheiten verwendet. Die Genbezeichnungen entsprechen den offiziellen *Flybase* Gensymbolen (FB2013_01, 23.1.2013, www.flybase.org). Die Bezeichnung der Histonmodifikationen folgt der *Brno Nomenclature for Histon Modifications*, nach der das betreffende Histon, gefolgt vom modifizierten Aminosäurerest (abgekürzt durch den Einbuchstabencode) und einem Kürzel für die Modifikation notiert wird (Turner, 2005).

Zusammenfassung

Die Altersforschung rückt angesichts der derzeitigen demografischen Entwicklung und der damit verbundenen Zunahme an altersbedingten Krankheiten wie Diabetes mellitus und Herz-Kreislauf-Erkrankungen immer mehr in den Fokus des gesellschaftlichen und wissenschaftlichen Interesses. Dabei scheinen genetische Faktoren ebenso wie Umweltbedingungen und der Lebensstil Einfluss auf Alterungsprozesse zu nehmen. *Sir2* und *foxo* sind als potentielle Langlebigkeitsgene in Studien mit verschiedenen Spezies aufgefallen, weshalb ihre physiologische Bedeutung im Rahmen dieser Arbeit untersucht werden sollte. Hierzu wurde die Taufliege *Drosophila melanogaster* als Modell verwendet. Zunächst sollte überprüft werden, ob die Überexpression von *Sir2* im Fettkörper adulter Fliegen die Lebensspanne der Tiere verlängert, da dieser Befund derzeit kontrovers diskutiert wird, während der lebensverlängernde Effekt der *foxo*-Überexpression bereits als gesichert anzusehen ist. Darüber hinaus sollte der Einfluss der beiden Gene auf die Fettspeicherung, die Hungerresistenz sowie die Genexpression im Fettkörper untersucht werden. Außerdem sollten die Transkriptmuster nach *Sir2*- bzw. *foxo*-Überexpression mit dem nach einer Nahrungsrestriktion verglichen werden. Unter Nahrungsrestriktion versteht man die deutliche Reduktion der Nahrungsaufnahme ohne Mangelernährung, deren lebensverlängernder Effekt evolutionär hoch konserviert ist. Die molekularen Mechanismen, über die die Nahrungsrestriktion wirkt, sind noch weitgehend unverstanden, allerdings kommen u. a. *Sir2* und *foxo* als Vermittler der positiven Effekte der Nahrungsrestriktion auf die Lebensspanne in Betracht.

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit war es, die epigenetische Regulation der Nahrungsrestriktion zu analysieren. Es ist wahrscheinlich, dass epigenetische Mechanismen an der Anpassung an die Nahrungsrestriktion und den damit verbundenen Effekten auf die Lebenserwartung beteiligt sind, da veränderte Nahrungsbedingungen langfristige Auswirkungen auf die Genexpression haben. In dieser Arbeit sollten die epigenetischen Anpassungen an Nahrungsrestriktion am Beispiel des genomweiten Bindungsmusters von H3K9ac (Histon H3 acetyliert am Lysinrest 9), einer Histonmodifikation, die mit aktiver Transkription des entsprechenden Gens assoziiert ist, analysiert werden.

Im Rahmen dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass die moderate Überexpression von *Sir2* im Fettkörper adulter Fliegen die Lebenserwartung von Weibchen und Männchen erhöht. Des Weiteren zeigten die Untersuchungen zum Einfluss von *Sir2* und *foxo* auf die phänotypischen Parameter und auf die Genexpression große Übereinstimmungen der Anpassungen an die Überexpression beider Gene. Neben ihren Effekten auf die Lebenserwartung scheinen beide Gene

die Hungerresistenz von Männchen, aber nicht von Weibchen zu verbessern. Außerdem zeigen die Genexpressionsmuster des Fettkörpers nach *Sir2*- und *foxo*-Überexpression große Überschneidungen. Vor dem Hintergrund der Arbeiten anderer Arbeitsgruppen wird anhand der Ergebnisse dieser Arbeit postuliert, dass *Sir2* und *foxo* über einen gemeinsamen Signalweg zur Lebensverlängerung führen. Die in dieser Arbeit identifizierten Zielgene von *Sir2* und *foxo* im Fettkörper, wie *Got2*, das für die mitochondriale Aspartat-Aminotransferase codiert, ebenso wie regulierte biologische Prozesse, wie die Ribosomen-Biogenese, könnten in diesem Signalweg eine zentrale Rolle spielen. Weiterhin deutet der Vergleich der Transkriptmuster nach *Sir2*- bzw. *foxo*-Überexpression nicht darauf hin, dass eines der beiden Gene die Effekte der Nahrungsrestriktion vermittelt.

Die Analyse des genomweiten Bindungsmusters von H3K9ac ergab, dass die Nahrungsrestriktion zur Hyperacetylierung von H3K9 führt. Hiermit ergibt sich eine Indikation der Nahrungsrestriktion als unterstützende Behandlung von Krebserkrankungen, denn ein Mechanismus der Tumorgenese scheint die abnehmende Acetylierung von Histonmodifikationen an Tumorsuppressorgenen zu sein. Aufgründessen sind Histondeacetylase-Hemmer derzeit bereits in der klinischen Testung. In diesem Zusammenhang ist außerdem interessant, dass der wichtige Tumorsuppressor p53 zu den Genen gehört, an denen die Acetylierung von H3K9 durch die Nahrungsrestriktion verstärkt wird. Weiterhin lassen die Ergebnisse der genspezifischen Analyse des Bindungsverhaltens von H3K9ac darauf schließen, dass die Nahrungsrestriktion zum verstärkten Proteinabbau führt, was angesichts aktueller Alterstheorien ein vielversprechender Mechanismus ist, der zur Lebensverlängerung führt.

Summary

In view of the current demographic trend, aging research gains more and more attention of scientists and political actors as the incidence of age-related diseases is increasing. Genetic as well as environmental factors and life style seem to have a role in aging processes. As *Sir2* and *foxo* appeared as potential longevity genes in different species, the major goal of this study was to elucidate their physiological significance in this context. Thus, I used the fruit fly *Drosophila melanogaster* as a model. While the published data regarding overexpression of *foxo* to extend life span are reliable, this is controversially discussed for *Sir2*. So, the first aim of this study was to test whether the overexpression of *Sir2* in the adult fat body can extend life span of flies. Furthermore the role of both genes in fat storage, starvation survival and the gene expression of the fat body should be elucidated. Moreover, transcriptomes of the fat body after *Sir2* or *foxo* overexpression will be compared to the one after dietary restriction. Dietary restriction means a considerable reduction of nutrient intake without malnutrition, which extends life span of organisms in an evolutionary highly conserved manner. However, the molecular mechanisms underlying this effect are largely unknown while it is hypothesized that – amongst others – *Sir2* and/or *foxo* mediate the positive effects of dietary restriction on life span.

Another aim of this study was to analyze the epigenetic regulation of dietary restriction. It is likely, that epigenetic mechanisms are involved in the adaption to dietary restriction and in the consequential effects on life expectancy because changing nutrient conditions have a long-lasting impact on gene expression. In this study the epigenetic adaptations to dietary restriction should be elucidated by analysis of the genome-wide binding pattern of the histone modification H3K9ac (histone H3 acetylated at lysine 9). H3K9ac was selected as an example for a histone modification which is associated with active transcription of the corresponding gene.

Within this study it was shown that moderate overexpression of *Sir2* in the adult fat body of flies can extend life span of males and females. Furthermore, the influence of *Sir2* and *foxo* on phenotypic parameters and gene expression of the fat body showed many similarities. Besides their effects on life span, both genes appeared to improve starvation survival of males but not females. Moreover, gene expression patterns elicited by *Sir2* and *foxo* overexpression match to a great extent which gives rise to the hypothesis that *Sir2* and *foxo* mediate their life span extending effects via the same pathway, which is in line with results of other groups. The data obtained in this study indicate that target genes of *Sir2* and *foxo* like *Got2* which encodes the mitochondrial aspartate aminotransferase or biological processes like ribosome biogenesis may play a central

role in this life prolonging pathway. In addition, the comparison of the fat body transcriptomes elicited by *Sir2* or *foxo* overexpression with the one after dietary restriction does not confirm the hypothesis that either gene may account for the beneficial effects of this intervention.

The analysis of the genome-wide binding pattern of H3K9ac revealed that dietary restriction induces hyperacetylation of H3K9. This finding predestines dietary restriction as an adjuvant therapy of different types of cancers because the decreasing acetylation of tumor suppressor genes seems to play a role in tumorigenesis. Hence, histone deacetylase inhibitors are currently under clinical testing. In this context it is furthermore interesting that an important tumor suppressor gene was found in the set of genes at which acetylation of H3K9 was increased by dietary restriction. Beyond that, the gene-specific analysis of the binding pattern revealed that dietary restriction leads to increased proteasomal degradation which is a promising mechanism to induce longevity in line with current aging theories.

1 Einleitung

1.1 Warum Altersforschung?

„Die Deutschen werden so alt wie nie zuvor“ titelte die Zeitung „Die Welt“ bezugnehmend auf eine Pressemitteilung des Statistischen Bundesamts vom 2.10.12 (Statistisches Bundesamt, 2012). Angesichts der derzeitigen demografischen Entwicklung rückt die Altersforschung und die damit verbundene Zunahme an altersbedingten Krankheiten immer mehr in den Fokus des gesellschaftlichen Interesses. Laut Berechnungen des Fritz Beske Instituts für Gesundheits-System-Forschung Kiel werden die Ausgaben für die Versorgung Pflegebedürftiger von 19,7 Mrd. € im Jahr 2009 auf 41,6 Mrd. € im Jahr 2060 steigen (Beske, 2012). Daraus ergibt sich die geradezu zwingende Notwendigkeit diejenigen Faktoren zu identifizieren, die zum gesunden Altern beitragen. Hierbei scheint die genetische Prädisposition genauso bedeutend zu sein wie der Lebensstil. Es zeigt sich bspw. bei der Untersuchung von Hundertjährigen, die meist bis ins hohe Alter gesund und selbstständig leben, dass die Wahrscheinlichkeit mind. 100 Jahre alt zu werden familiär gehäuft auftritt (Atzmon et al., 2005). Außerdem sind vor allem in Studien mit Modellorganismen Gene identifiziert worden, die zur Langlebigkeit beitragen (Martin, 2011). Trotzdem kann der Einfluss des Lebensstils bei der Betrachtung von Faktoren, die das Altern beeinflussen, nicht außer Acht gelassen werden. Ein Beispiel hierfür ist die Tatsache, dass die Einwohner einer japanischen Insel, Okinawa, den Löwenanteil an Hundertjährigen der Welt stellen und gleichzeitig eine niedrige Inzidenz von altersbedingten Krankheiten aufweisen (Willcox, Willcox et al., 2008). Ihre Ernährung ist kalorienarm und durch eine hohe Nährstoffdichte sowie einen hohen Anteil an Antioxidantien bei gleichzeitig niedrigem glykämischen Index gekennzeichnet (Willcox et al., 2009). Ein weiteres Indiz für den Einfluss des Lebensstils auf die Lebenserwartung ist die Nahrungs- oder Kalorienrestriktion. Die Reduktion der Nahrungszufuhr um 25 - 50 %, ohne dass eine Mangelernährung entsteht, hat sich als eine evolutionär hoch konservierte Strategie herausgestellt, die Lebens- bzw. Gesundheitsspanne von Lebewesen zu verlängern (Roth & Polotsky, 2012).

Im Rahmen dieser Arbeit sollen die physiologischen Funktionen zweier Kandidaten für Langlebigkeitsgene, *Sir2* und *foxo*, im Fettgewebe von *Drosophila* charakterisiert werden. Außerdem soll untersucht werden, welche Auswirkungen eine Nahrungsrestriktion auf das genomweite Auftreten einer Histonmodifikation als Beispiel für eine epigenetische Modifikation hat.

1.2 Sir2

1.2.1 Sirtuine

Sirtuine stehen im Fokus der derzeitigen Altersforschung und werden als Kandidaten für Langlebigkeitsgene kontrovers diskutiert (Couzin-Frankel, 2011). Der Namensgeber der Familie, *Sir2* (*silent information regulator 2*), zog erstmals die Aufmerksamkeit auf sich, als nachgewiesen wurde, dass eine Deletions-Mutation des Gens die replikative Lebensspanne von *Saccharomyces cerevisiae* verringert (Kaeberlein et al., 1999). Das Genprodukt von *Sir2* war bereits bekannt als essentiell für das heterochromatische Stilllegen von Telomeren, ribosomaler DNA und der Paarungstyp-Loci (*mating-type loci*), als entdeckt wurde, dass *Sir2* für eine NAD⁺-abhängige Histondeacetylase codiert (Imai et al., 2000). Sirtuine (*Sir-two-like genes*) sind evolutionär hoch konserviert: in *Drosophila* gibt es fünf Orthologe (*Sir2*, *Sirt2*, *Sirt4*, *Sirt6* und *Sirt7*) und sieben in Säugetieren (*Sirt1*, *Sirt2*, *Sirt3*, *Sirt4*, *Sirt5*, *Sirt6* und *Sirt7*), wobei sich *Sir2* in *Drosophila* und *Sirt1* in Säugetieren in ihrer Sequenz am ähnlichsten sind (Frye, 2000). Allerdings weisen einige Sirtuine nicht (nur) die Deacetylase-Aktivität auf, sondern katalysieren auch ADP-Ribosylierung, Demalonylierung und Desuccinylierung (Houtkooper et al., 2012).

1.2.2 *Sir2* als Langlebigkeitsgen

Nach der Entdeckung von *Sir2* als Langlebigkeitsgen in der Bierhefe, folgten Studien in *C. elegans* und *Drosophila*, die zeigten, dass auch in diesen Organismen ein erhöhtes Genexpressionsniveau von *Sir2* zur Verlängerung der Lebensspanne führt (Tissenbaum & Guarente, 2001; Rogina & Helfand, 2004). In Mäusen scheint die Überexpression von *Sirt1*, die Lebenserwartung nicht zu erhöhen, aber mehrere Studien berichten von einer Verlängerung der Gesundheitsspanne (Bordone et al., 2007; Banks et al., 2008; Herranz et al., 2010). Allerdings zog eine groß angelegte Studie in *C. elegans* und *Drosophila* die Bedeutung von *Sir2* als Vermittler eines langen Lebens in Zweifel (Burnett et al., 2011). Als eine Erklärung für die unterschiedlichen Ergebnisse der Arbeitsgruppen wurde angebracht, dass in den vorangegangenen Experimenten nicht darauf geachtet wurde, dass Kontroll- und Versuchstiere den gleichen genetischen Hintergrund haben. Trotzdem bestätigten kürzlich veröffentlichte Experimente, die diesen Störfaktor ausschlossen, *Sir2* als Langlebigkeitsgen in *Drosophila* (Banerjee, Ayyub, Ali et al., 2012).

1.2.3 Physiologische Funktionen von SIR2/SIRT1

Sirtuine werden als eigenständige Klasse III unter den Histondeacetylasen (HDAC) eingeordnet, da ihre Enzymaktivität im Gegensatz zu den anderen bekannten HDACs NAD⁺-abhängig ist und nicht durch klassische HDAC-Inhibitoren wie Trichostatin gehemmt wird. Sirtuine werden ihrerseits durch steigende Konzentrationen der Reaktionsprodukte der Deacetylase-Reaktion, Nicotinamid und O-Acetyl-ADP-Ribose, kompetitiv gehemmt. Desweiteren wurden einige pharmakologische Sirtuin-Inhibitoren entwickelt, die u. a. in der Krebsbehandlung Anwendung finden sollen (Villalba & Alcáin, 2012). Ein weitaus größeres Interesse hat die Pharmabranche allerdings an der Entwicklung von spezifischen Sirtuin-Aktivatoren, um die diversen positiven Auswirkungen der *Sirt1*-Aktivität auf Alterungsprozesse (siehe unten) in der Behandlung von altersbedingten Erkrankungen zu nutzen. Ein prominenter Vertreter der Sirtuin-Aktivatoren ist Resveratrol, ein Polyphenol aus Weintrauben, das auch im Rotwein zu finden ist. Trotz erwiesener positiver Effekte auf die Lebens- bzw. Gesundheitsspanne durch Resveratrol, war die direkte Aktivierung von Sirt1 durch das Polyphenol lange Gegenstand intensiver Diskussion (Yuan & Marmorstein, 2013). Allerdings konnte eine aktuelle Studie die Aktivierung von Sirt1 durch Resveratrol in Anwesenheit bestimmter Sirtuin-Substrate nachweisen (Hubbard et al., 2013).

Als Substrate von SIRT1 wurden die acetylierten Reste von Histon H3 (Lysin 9), Histon H4 (Lysin 16) und Histon H1 (Lysin 126) identifiziert. Dabei scheint SIRT1 auch die Trimethylierung von Histon H3 an Lysin 9 und somit die Heterochromatinbildung zu fördern (Vaquero et al., 2004). Sirtuine deacetylieren allerdings nicht nur Histone, sondern auch eine Vielzahl anderer Proteine. Wichtige Substrate von SIRT1 in Säugern sind PGC-1 α (*peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1 α*), FOXO1 (*forkhead box O protein 1*), FOXO3A (*forkhead box O protein 3A*), P53, NOTCH, NF κ B (*nuclear factor κ B*) und HIF1 α (*hypoxia inducible factor 1 α*) (Houtkooper et al., 2012). Für SIR2 in *Drosophila* sind bisher nur die Deacetylierung von FOXO und P53 nachgewiesen worden (Bauer et al., 2009; Hong et al., 2012). Zwar ist die Beteiligung von SIR2 an der Heterochromatinbildung auch in *Drosophila* gezeigt worden, allerdings wurde nicht untersucht, ob und wenn ja, welche Histone deacetyliert wurden (Rosenberg & Parkhurst, 2002; Newman et al., 2002).

Angesichts der scheinbar evolutionär konservierten Wirkung von *Sir2/Sirt1* auf Altersprozesse sind die physiologischen Funktionen von *Sirt1* besonders im Hinblick auf metabolische Parameter intensiv untersucht worden. So erhöht die *Sirt1*-Überexpression in den β -Zellen des murinen Pankreas oder im gesamten Tier die Insulinsensitivität (Moynihan et al., 2005; Bordone et al., 2007; Banks et al., 2008) und auch die Insulinsekretion von Mäusen durch Hemmung von UCP2

(*uncoupling protein 2*) (Moynihan et al., 2005; Bordone et al., 2006). Weiterhin verringert die *Sirt1*-Überexpression im Fettgewebe die PPAR- γ (*peroxisome proliferator-activated receptor γ*) - abhängige Adipogenese (Picard et al., 2004). Außerdem induziert die Deacetylierung von PGC-1 α durch SIRT1 die mitochondriale Biogenese (Rodgers et al., 2005), die β -Oxidation von Fettsäuren sowie die oxidative Phosphorylierung und scheint somit den Energieumsatz zu erhöhen (Purushotham et al., 2009). Folgerichtig korreliert das Expressionsniveau von *Sirt1* im Fettgewebe von Menschen mit dessen Grundumsatz (Rutanan et al., 2010). Abgesehen von den vielversprechenden metabolischen Funktionen von SIRT1 wird das Enzym mit der Entstehung und Behandlung von Krebs, Alzheimer und anderen altersbedingten Erkrankungen in Verbindung gebracht (Dali-Youcef et al., 2007; Albani et al., 2010; Yi & Luo, 2010). Einen Überblick über die bereits bekannten Funktionen von SIRT1 in Säugetieren gibt Abb. 1.1.

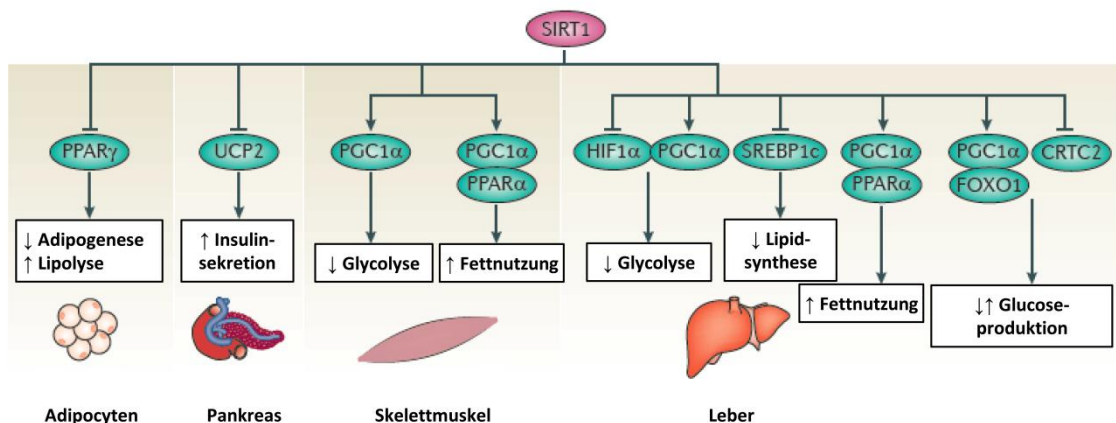


Abb. 1.1: Physiologische Funktionen von Sirt1 in Säugetieren. Aus Houtkooper et al., 2012. PPAR α , peroxisome proliferator-activated receptor α ; PPAR γ , peroxisome proliferator-activated receptor γ ; UCP2, uncoupling protein 2; PGC1 α , peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator; HIF1 α , hypoxia inducible factor 1 α ; SREBP1c, sterol regulatory element-binding protein 1c; FOXO1, forkhead box O protein 1; CRTC2, CREB regulated transcription coactivator 2.

Im Gegensatz zum recht umfangreichen Wissensstand bezüglich der physiologischen Funktionen von SIRT1 in Säugern liegen für *Drosophila* lediglich wenige Ergebnisse vor, die zur Erklärung des lebensverlängernden Effekts beitragen. Auf der Suche nach Adipositas-assoziierten Genen identifizierte ein Screening von *Drosophila*-Larven mit Mutationen in über 500 verschiedenen Genen unter anderem auch *Sir2* als Regulator des Fettstoffwechsels und der Reaktion auf Proteinmangel (Reis et al., 2010). Dieses Ergebnis wird durch eine weitere Studie bestätigt, die außerdem zeigt, dass die fehlende oder reduzierte *Sir2*-mRNA-Expression die Fetteinlagerung unter Normalbedingungen erhöht und die Resistenz gegen Hunger vermindert (Banerjee, Ayyub,

Sengupta et al., 2012). Darüber hinaus wurde gezeigt, dass die *Sir2*-Überexpression im Fettkörper den Anstieg von oxidativen katabolen Prozessen im Muskel über die Erhöhung der mitochondrialen Biogenese zur Folge hat (Banerjee et al., 2013).

Ausgehend von der NAD⁺-abhängigen Enzymaktivität von SIR2 wurde vermutet, dass das Sirtuin die Effekte der Nahrungsrestriktion (DR, *dietary restriction*) auf die Lebenserwartung vermittelt. Belege für diese Hypothese liefern Studien, die zeigen, dass eine *Sir2*-Überexpression die Lebensspanne von Fliegen unter DR nicht weiter verlängert (Rogina et al., 2004; Banerjee, Ayyub, Ali et al., 2012). Ein diesbezüglich diskutierter Mechanismus ist die verminderte Expression der Histondeacetylase *Rpd3* unter DR, mit der Folge, dass die SIR2-Aktivität erhöht und damit die Acetylierung von P53 begünstigt wird (Rogina et al., 2004; Bauer et al., 2009). Hinweise für einen Zusammenhang zwischen der erhöhten Lebenserwartung unter DR und der zahlreichen positiven Effekte von SIR2/SIRT1 auf metabolische Parameter gibt es auch in Hefen und Säugetieren (Lin et al., 2000; Boily et al., 2008). Allerdings stehen sie einer Reihe von Studien gegenüber, die diesen Zusammenhang anzweifeln (Lamming et al., 2005; Kaeberlein & Powers, 2007; Chen et al., 2008).

1.3 FOXO im IGF-Signalweg und als Stresswächter

1.3.1 *foxo* als Langlebigkeitsgen

FOXO (forkhead box O)-Proteine sind Transkriptionsfaktoren, deren Aktivität durch den Insulin- / *Insulin like growth factor*-Signalweg (IGF-Signalweg) und durch Stressbedingungen reguliert wird. In *C. elegans* bzw. *Drosophila* existiert jeweils nur ein FOXO Protein, DAF-16 bzw. FOXO. In Säugetieren hat die Familie 4 Mitglieder, FOXO1, 3A, 4 und 6. Altersforscher wurden zunächst auf *daf-16* aufmerksam, als sich herausstellte, dass die Langlebigkeit einer Deletions-Mutante für den Insulinrezeptor, *daf-2*, von *daf-16* abhängig ist (Kenyon et al., 1993). Mehrere Studien in *Drosophila* bestätigen den Zusammenhang zwischen verstärkter FOXO-Aktivität und der Langlebigkeit (Hwangbo et al., 2004; Giannakou, Goss et al., 2004; Giannakou et al., 2007). Darüber hinaus war FOXO3A in 3 verschiedenen Studien an Hundertjährigen in Japan, Deutschland und Italien mit Langlebigkeit assoziiert (Willcox, Donlon et al., 2008; Flachsbart et al., 2009; Anselmi et al., 2009). *foxo* bildet somit als Knotenpunkt zwischen dem IGF-Signalweg und der Stressantwort einen weiteren aussichtsreichen Kandidaten für ein Langlebigkeitsgen.

1.3.2 Der IGF-Signalweg in der Altersforschung

Der evolutionär hoch konservierte IGF-Signalweg dient der hormonellen Steuerung des Wachstums und der Aufrechterhaltung der Körperfunktionen in Anpassung an variierende Nahrungsbedingungen (Parrella & Longo, 2010). Die Parallelen zwischen den Signalwegen in Hefen und Säugetieren beschränken sich auf die Aktivierung durch Nährstoffe und die Homologie des Adaptorproteins Ras, sowie der Effektor-Proteinkinasen TOR und Sch9 mit Signalwegkomponenten in Säugern, während sich die Signalwege in Würmern, Fliegen und Mäusen sehr ähnlich sind (s. Abb. 1.2): die Anwesenheit von Nährstoffen führt zur Ausschüttung von Insulin oder seinen Homologen und deren Bindung an eine Rezeptor-Tyrosinkinase. Diese phosphoryliert ein Rezeptorsubstrat, das infolgedessen die PI3Kinase an die Zellmembran rekrutiert. Hier kommt es zur Bildung des *second messengers* PIP3 (Phosphatidyl-Inositol-3-Phosphat) aus einem Phospholipid der Membran, der über einen weiteren Zwischenschritt die Aktivität der Proteinkinase AKT (in Fliegen: Proteinkinase B) deutlich erhöht. AKT phosphoryliert den Transkriptionsfaktor FOXO, was zum Export aus dem Zellkern und schlussendlich zum proteasomalen Abbau des Transkriptionsfaktors führt (Parrella et al., 2010). Das Vorhandensein von Nährstoffen resultiert also in der Inaktivierung von FOXO und der transkriptionalen Repression seiner Zielgene. Die Erläuterung der Signalwegkomponenten ist im Sinne der besseren Verständlichkeit auf die wichtigsten Zusammenhänge reduziert. Nicht betrachtet wurden die

Aktivierung der MAPK (*mitogen activated protein kinase*)-Kaskade durch Ras in Säugern sowie die Wechselwirkungen zwischen dem TOR- und dem IGF-Signalweg, die u. a. auch in *Drosophila* nachgewiesen wurden (Teleman, 2010). TOR (*target of rapamycin*) ist eine Proteinkinase und steuert abhängig von den gegebenen Nahrungsbedingungen die Nutzung der Zellressourcen für Wachstum und Zellteilung oder zum Anlegen von Reserven in Form von Glycogen und Lipiden. Unter strengen Hungerbedingungen leitet TOR Autophagie ein, um die notwendige Bereitstellung von Aminosäuren zu gewährleisten (Soulard et al., 2009).

Ein Zusammenhang zwischen verminderter Aktivität verschiedener Komponenten des IGF-Signalweges mit Langlebigkeit ist bereits mehrfach für Hefen, Würmer, Fliegen, Mäuse und auch Menschen nachgewiesen worden (Ziv & Hu, 2011). Auch die Hemmung des TOR-Signalwegs durch Rapamycin und anderer TOR-Inhibitoren verlängert die Lebensspanne verschiedener Modellorganismen und wird derzeit als eine potentielle Strategie zur Therapie altersbedingter Erkrankungen erforscht (Johnson et al., 2013).

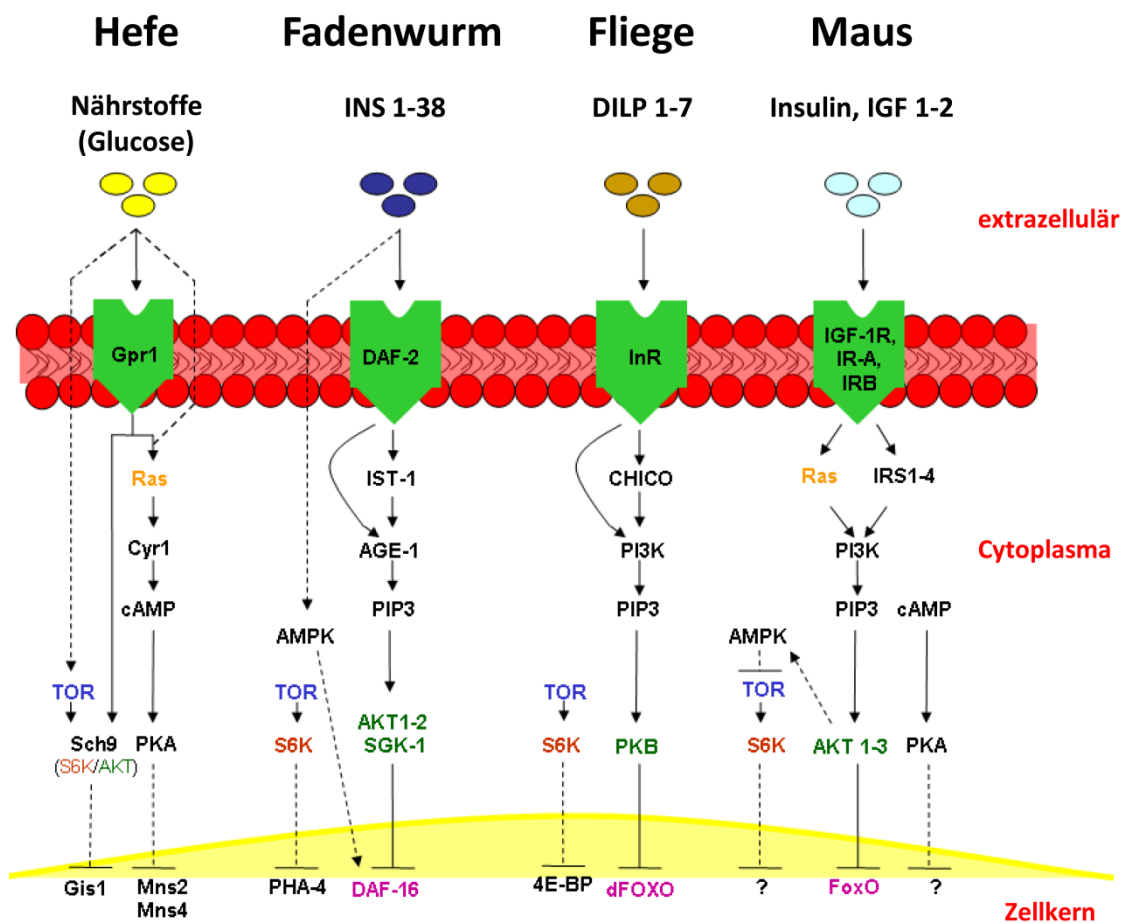


Abb. 1.2: Vereinfachte Darstellung der Signalwege zur Wahrnehmung von Nährstoffen in verschiedenen Spezies. Leicht verändert nach Parrella et al., 2010.

1.3.3 Stressaktivierung von FOXO

Während das Vorhandensein von Nährstoffen zur Hemmung und somit zur cytoplasmatischen Lokalisation von FOXO führt, induzieren verschiedene Stressoren den Import des Transkriptionsfaktors in den Zellkern und/oder erhöhen seine Fähigkeit zur Induktion der Genexpression. Die Aktivität des Transkriptionsfaktors wird sehr komplex reguliert und führt je nach Stimulus zur Expression unterschiedlicher Zielgene (Daitoku & Fukamizu, 2007; Salih & Brunet, 2008). Die posttranslationalen Modifikationen umfassen Phosphorylierung durch bspw. AKT, JNK (*c-jun N-terminal kinase*) und AMPK (AMP-aktivierte Kinase), Acetylierung durch CBP (*CRE-binding protein*)/p300 und Deacetylierung durch SIR2/SIRT1 sowie Mono- und Polyubiquitylierung (s. Abb. 1.3). Die Aktivierung von FOXO durch Hungerbedingungen, oxidativen Stress oder UV-Strahlung resultiert in der Expression verschiedener Zielgene, die zum Zellzyklusarrest (*p27*, *p21*), zur Apoptose (*bim*, *fas ligand*), zur Regulation des Stoffwechsels (*G6pc*, *Pgc1 α*) und/oder zur generellen Verbesserung der Stressresistenz (*MnSOD*, *Gadd45 α*) beitragen (Salih et al., 2008).

Die Deacetylierung von FOXO durch SIR2/SIRT1 ist im Rahmen dieser Arbeit besonders interessant. Die Interaktion von *daf-16* und *sir2.1* in der Vermittlung der Langlebigkeit wurde in *C. elegans* zunächst auf genetischer Ebene aufgedeckt (Tissenbaum et al., 2001). Später folgte der Nachweis der Interaktion auf Proteinebene in Säugetieren und auch in *Drosophila*, führte in den verschiedenen Studien allerdings zu unterschiedlichen Auswirkungen auf die Genexpression (Motta et al., 2004; Brunet et al., 2004; Hong et al., 2012). Es wird angenommen, dass SIR2/SIRT1 die Aktivität von FOXO in Abhängigkeit der jeweiligen Zielgene positiv oder negativ beeinflusst und das Transkriptmuster eher in Richtung einer verbesserten Stressantwort und weniger in Richtung Apoptose verschiebt (Giannakou & Partridge, 2004).

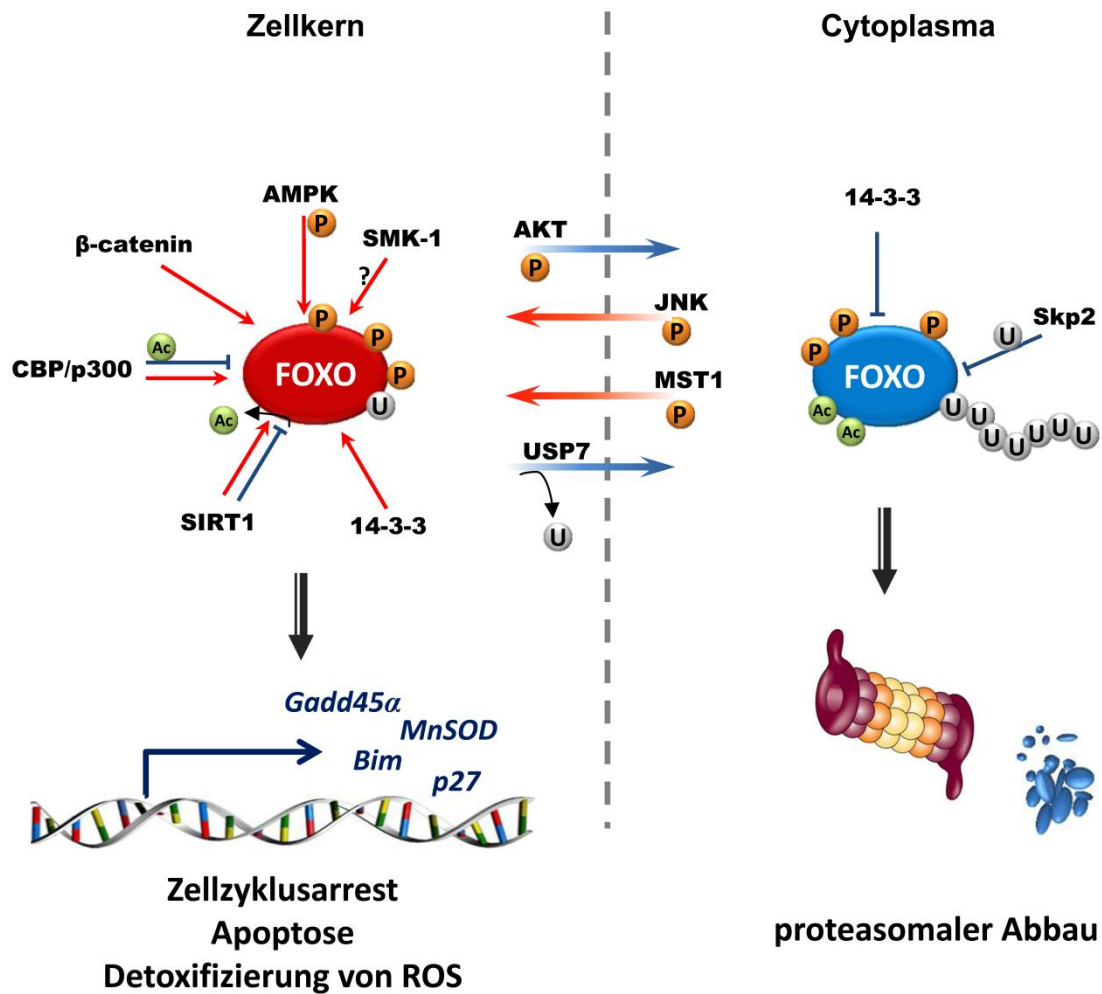


Abb. 1.3: Die komplexe Regulation der Aktivität von FOXO-Proteinen. Die Phosphorylierung durch die Proteinkinase AKT führt zur Bindung von FOXO an das Chaperon 14-3-3 und zum Export aus dem Zellkern. Im Cytoplasma induziert die Polyubiquitylierung durch Skp-2 den proteasomalen Abbau. In Reaktion auf oxidativen Stress und UV-Strahlung führt die Phosphorylierung von FOXO durch JNK oder MST-1 (mammalian Sterile20-like 1) zum Import in den Zellkern. Darüber hinaus kann auch AMPK FOXO phosphorylieren und aktivieren. Die Funktionen der FOXO-Zielgene beinhalten die Induktion von Zellzyklusarrest und Apoptose sowie die generelle Verbesserung der Stressresistenz. Die Funktion der Acetylierung von CBP/p300 bzw. der Deacetylierung durch SIRT1 ist noch nicht abschließend geklärt, scheint die Aktivität des Transkriptionsfaktors aber in Abhängigkeit der Zielgene zu erhöhen oder zu erniedrigen. SMK-1, β-catenin und 14-3-3 können an FOXO binden und wirken als transkriptionale Co-Aktivatoren. Verändert nach Daitoku et al., 2007 und Salih et al., 2008.

1.4 Nahrungsrestriktion und Lebenserwartung

Nahrungsrestriktion (DR, *dietary restriction*) bzw. kalorische Restriktion (CR, *caloric restriction*) ist definiert als eine, im Vergleich zu *ad libitum* gefütterten Individuen, deutliche Reduktion der aufgenommenen Nährstoffe bzw. Kalorien, ohne dass eine mangelnde Versorgung mit Vitaminen und lebenswichtigen Spurenelementen ausgelöst wird (Mair et al., 2005). DR / CR ist die bisher einzig bekannte Strategie, Alterungsprozesse zu verzögern. Vor knapp 80 Jahren wurde zum ersten Mal der Zusammenhang zwischen DR und der Lebensspanne in einem Experiment mit Albino-Ratten entdeckt (McCay, Crowell, & Maynard, 1935). Seitdem wurde der positive Effekt der DR auf die Lebensspanne von Hefen, *C. elegans*, und *Drosophila* nachgewiesen (Klass, 1977; Jiang et al., 2000; Lin et al., 2002; Mair et al., 2005; Ja et al., 2009). In Hunden, Rhesusaffen und Menschen wurde der Einfluss der DR auf die Lebenserwartung zwar nicht oder nicht eindeutig bestätigt, allerdings weisen alle Untersuchungen eindeutig darauf hin, dass DR das Risiko, an altersbedingten Krankheiten wie Krebs, Arteriosklerose oder Typ II Diabetes zu erkranken, verringert (Lawler et al., 2008; Colman et al., 2009; Roth et al., 2012; Mattison et al., 2012). Die bisherigen Ergebnisse der Altersforschung motivieren einige Menschen zum Nachahmen, die sich der *Caloric Restriction Society International* (<http://www.crsociety.org>) angeschlossen haben und ihre Kalorienaufnahme um bis zu 25 % reduzieren. Da die Akzeptanz einer solchen Diät in der breiten Gesellschaft aber sehr gering ist, ist es notwendig, die molekularen Mechanismen zu verstehen, über die DR wirkt. So können Zielstrukturen für Pharmaka identifiziert werden, um altersbedingte Krankheiten weitgehend zu vermeiden.

Unter den derzeit diskutierten molekularen Wirkmechanismen, mithilfe derer DR die Lebens- und/oder Gesundheitsspanne verlängert, finden sich Signalwege, die die Anwesenheit von Nahrung in der Umgebung detektieren und weiterleiten. So reicht allein der Geruch von Hefe (Hauptproteinquelle für *Drosophila* im Standardfutter) unter DR aus, um die Lebenserwartung der Fliegen zu verkürzen, während *C. elegans*-Mutanten mit gestörter Sinneswahrnehmung eine verlängerte Lebensspanne aufweisen (Apfeld & Kenyon, 1999; Libert et al., 2007). Weiterhin sind auch der TOR- und der IGF-Signalweg, die die Anpassung an veränderte Nahrungsbedingungen in den Zielzellen in Gang setzen und auch unabhängig von den Nahrungsbedingungen als Langlebigkeitsgene bekannt sind, wichtige Kandidaten für die Vermittlung der DR-Effekte (Blagosklonny, 2010; Fontana et al., 2010; Tatar, 2011; Brunet, 2012). Außerdem sind die AMPK (AMP-aktivierte Kinase) und Sirtuine als DR-Vermittler in der Diskussion, da ihre Enzymaktivität direkt durch den Energiestatus der Zelle reguliert wird (Baur et al., 2010; Cantó & Auwerx, 2011).

Des Weiteren ist es wahrscheinlich, dass DR über epigenetische Mechanismen Einfluss auf die Lebenserwartung nimmt. Als epigenetische Mechanismen werden solche bezeichnet, die die Genexpression in Reaktion auf Umweltreize verändern und mitotisch und/oder meiotisch weitergegeben werden können. Die Regulation wird hierbei durch DNA-Methylierung, Histonmodifikationen oder RNA-Interferenz vorgenommen, ohne dass die Sequenz der DNA verändert wird (vgl. 1.5.1). Da Nahrungsinterventionen nachweislich einen lang anhaltenden Einfluss auf die Genexpression haben (Romey, 2012), ist anzunehmen, dass auch DR epigenetische Veränderungen nach sich zieht. Allerdings liegen zu diesem Themenkreis bisher kaum Ergebnisse vor. DR scheint die DNA-Methylierung der Promotoren von Onkogenen in Nagetieren altersabhängig zu verändern (Miyamura et al., 1993; Hass et al., 1993) und die mit dem Alter fortschreitende Reduktion der Genexpression der *DNA methyltransferase 3a (Dnmt3)* im Hippocampus von Mäusen abzuschwächen (Chouliaras et al., 2011). In humanen Fibroblasten zeigten die Zellseneszenz-relevanten Gene *hTERT (human telomerase reverse transcriptase)* und *p16^{INK4} (cyclin-dependent kinase inhibitor 2A)* nach Glucoserestriktion ein verändertes Bindungsverhalten an verschiedene Histonmodifikationen sowie an HDAC1 und ein infolgedessen verändertes Genexpressionsniveau (Li et al., 2010). Es wird weiterhin spekuliert, dass SIR2/SIRT1 während einer DR über die NAD⁺-abhängige Deacetylierung von Histonen in Altersprozesse eingreift (Li et al., 2011; Ford et al., 2011).

1.5 Histonmodifikationen: Biochemische Manifestation der epigenetischen Regulation

1.5.1 Epigenetische Regulation in *Drosophila*

Epigenetische Phänomene werden als Veränderungen des Phänotyps oder der Genexpression definiert, die mitotisch und/oder meiotisch übertragbar sind und nicht auf Änderungen der DNA-Sequenz beruhen (Gottschling, 2007). Diese Veränderungen können durch DNA-Methylierung, posttranslationale Modifikationen von Histonen und RNA-Interferenz hervorgerufen werden.

Die DNA-Methylierung wurde als erster epigenetischer Mechanismus entdeckt und führt zur transkriptionellen Stilllegung der betreffenden DNA-Bereiche (Razin & Riggs, 1980; Li & Bird, 2007). In Säugetieren werden vor allem Cytosine in Cytosin-Guanin-Dinukleotiden (CpG) methyliert, die in nicht codierenden Bereichen vorkommen oder die während der Entwicklung stillgelegt werden. Während die DNA-Methylierung für die Embryonalentwicklung von Säugetieren essentiell ist und Veränderungen im Methylierungsmuster zur Krebsentstehung beitragen, hat die DNA-Methylierung in *Drosophila* keine oder eine bisher unentdeckte Bedeutung für die epigenetische Kontrolle (Li et al., 1992; Lyko, 2001; Jones & Baylin, 2002).

RNA-Interferenz ist schon seit längerem als ein Mechanismus der Translationskontrolle ausgehend von kurzen, doppelsträngigen RNA-Molekülen bekannt, jedoch vermittelt RNA-Interferenz auch das Stilllegen von Genen und die Bildung von Heterochromatin. Diese neue Funktion wurde zunächst in Pflanzen (*A. thaliana*) und später auch in Hefen, *Drosophila* und Säugetieren nachgewiesen (Martienssen & Moazed, 2007).

Das Hauptaugenmerk liegt in dieser Arbeit allerdings auf den Histonmodifikationen, deren Einfluss auf die Genexpression im nächsten Abschnitt erläutert werden soll.

1.5.2 Transkriptionskontrolle durch Histonmodifikationen

Histone sind stark basische Proteine, die zunächst als struktureller Bestandteil der Nukleosomen angesehen worden sind. Nukleosomen bestehen aus einem Histon-Oktamer (je zweimal Histon H2A, H2B, H3 und H4) und dem um sie herum gewickelten DNA-Doppelstrang von ca. 147 bp und bilden die kleinste Einheit des Chromatins (Kornberg & Lorch, 1999). Die klassische Einteilung in Eu- und Heterochromatin geht auf zellbiologische Färbetechniken zurück, mit denen der Kondensationsgrad des Chromatins, der Aufschluss über die Zugänglichkeit für die Transkriptionsmaschinerie gibt, sichtbar gemacht werden konnte. Euchromatin liegt lose gepackt

und dementsprechend leicht zugänglich für die Transkriptionsmaschinerie vor und wird „normal“ angefärbt, während Heterochromatin dicht gepackt ist, nicht abgelesen werden kann und stark angefärbt wird (Passarge, 1979). Mittlerweile können die strukturell unterschiedlichen Bereiche und ihre funktionelle Bedeutung aber deutlich höher aufgelöst werden. Im Zuge dessen wird den posttranslationalen Modifikationen von Histonen eine wichtige Rolle in der Regulation der Transkription und auch der Reparatur von DNA-Schäden zugesprochen (Kouzarides & Berger, 2007). Allerdings sind die Funktionen der zahlreichen Histonmodifikationen nicht immer eindeutig mit Aktivierung oder Repression der Genexpression assoziiert, sodass die „Histon-Code-Hypothese“ von einer Kombination einzelner Modifikationen ausgeht, die einen bestimmten Effekt auf die Genaktivität haben (Strahl & Allis, 2000). Es sind Landkarten entstanden, die den „epigenetischen Status“ von Zellen und/oder Organismen unter verschiedenen Bedingungen kartieren (Kharchenko et al., 2011). Ein anderer Ansatz sieht Histone als nukleäre Zielstrukturen von Signalwegen, die in Reaktion auf äußere und innere Einflüsse agieren (Schreiber & Bernstein, 2002).

Zu den wichtigsten Histonmodifikationen zählen die Acetylierung von Lysinresten, die Methylierung von Lysin- und Argininresten und die Phosphorylierung von Serin- oder Threoninresten an den Histonschwänzen, die aus den Nukleosomen herausragen. Weiterhin sind auch die Konjugation von Polypeptiden wie Ubiquitin und SUMO (*small ubiquitin-like modifier*) sowie von ADP-Ribosyl-Resten und Biotin an Histone mit funktioneller Bedeutung für die Transkriptionskontrolle und DNA-Reparatur bekannt (Kouzarides et al., 2007). Die Bezeichnung der Histonmodifikationen folgt der *Brno Nomenclature for Histon Modifications*, nach der das betreffende Histon gefolgt vom modifizierten Aminosäurerest (abgekürzt durch den Einbuchstabencode) und einem Kürzel für die Modifikation notiert wird (Turner, 2005). Beispielsweise wird die Dreifachmethylierung von Histon H3 am Lysinrest 9 mit H3K9me3 abgekürzt. Chromatin-bindende Proteine erkennen spezifisch modifizierte Reste über spezielle Proteindomänen, z.B. Chromo-Domänen zur Erkennung von acetylierten Histonen und Bromo-Domänen zur Erkennung von methylierten Histonen. Eine Übersicht der wichtigsten derzeit bekannten Histonmodifikationen, ihrer Funktion und der sie modifizierenden Enzyme gibt Tab. 1.1.

Tab. 1.1: Die wichtigsten Histonmodifikationen, ihr Effekt auf die Transkription und Histon-modifizierende Enzyme.

Modifikation	Rolle in der Transkriptionskontrolle	Histon und Aminosäure-Rest, der modifiziert wird	Beispiele für Histon-modifizierende Enzyme*	
Acetylierung	Aktivierung	H3 (K9, K14, K18, K56) H4 (K5, K8, K12, K16) H2A H2B (K6, K7, K16, K17)	Histonacetyltransferasen: GCN5, CBP/p300, MOF, TIP60 Histondeacetylasen: RPD3, Sirtuine	
Phosphorylierung	Aktivierung	H3 (S10)	Proteinkinase: JIL-1	
Methylierung	Aktivierung	H3 (K4) H3 (K36) H3 (K79)	Histonmethyltransferasen: Trithorax: H3(K4)	Histondemethylasen: UTX, JMJD3: beide H3K27me
	Repression	H3 (K9) H3 (K27) H4 (K20)	SU(VAR)3-9: H3(K9) E(ZE): H3 (K27)	
Ubiquitynylierung	Aktivierung	H2B (K123)	Monoubiquitin-Ligase: dRING	
	Repression	H2A (K119)		
SUMOylierung	Repression	H3 (?) H4 (K5, K8, K12, K16) H2A (K126) H2B (K6, K7, K16, K17)		

*Histondeacetylasen und -acetyltransferasen modifizieren verschiedene Lysinreste verschiedener Proteine. Für die Histonmethyltransferasen, -demethylasen und die Monoubiquitin-Ligase ist der jeweils spezifische Lysinrest angegeben. Die Bezeichnung der Aminosäure-Reste entspricht dem Einbuchstabencode: K, Lysin; S, Serin. Verändert nach Kouzarides et al., 2007.

Im Gegensatz zur Methylierung von Histonen, bei der der spezifische Aminosäure-Rest, der methyliert wird, und auch die Anzahl der konjugierten Methylreste entscheidend für die Kontrolle der Genaktivität ist (vgl. Tab. 1.1), ist die Acetylierung von Histonen im Allgemeinen mit aktiver Transkription assoziiert. H3K9ac ist ein Marker für Gene mit hoher Expressionsrate, allerdings nur im Bereich zwischen Transkriptionsstart und den ersten 1-2 kb des entsprechenden Gens (Kharchenko et al., 2011; Yin et al., 2011). In Abb. 1.4 ist am Beispiel des humanen Interferon-β-Gens die Rolle von H3K9ac bei der Initiation der Transkription dargestellt.

Ein weiteres Kennzeichen von Nukleosomen, die an aktiv transkribierte Gene gebunden haben, ist H3K4me3. H3K4 wird durch die Histonmethyltransferase TRX (Trithorax) methyliert und ist für die Elongation der Transkription entscheidend (Grossniklaus & Paro, 2007).

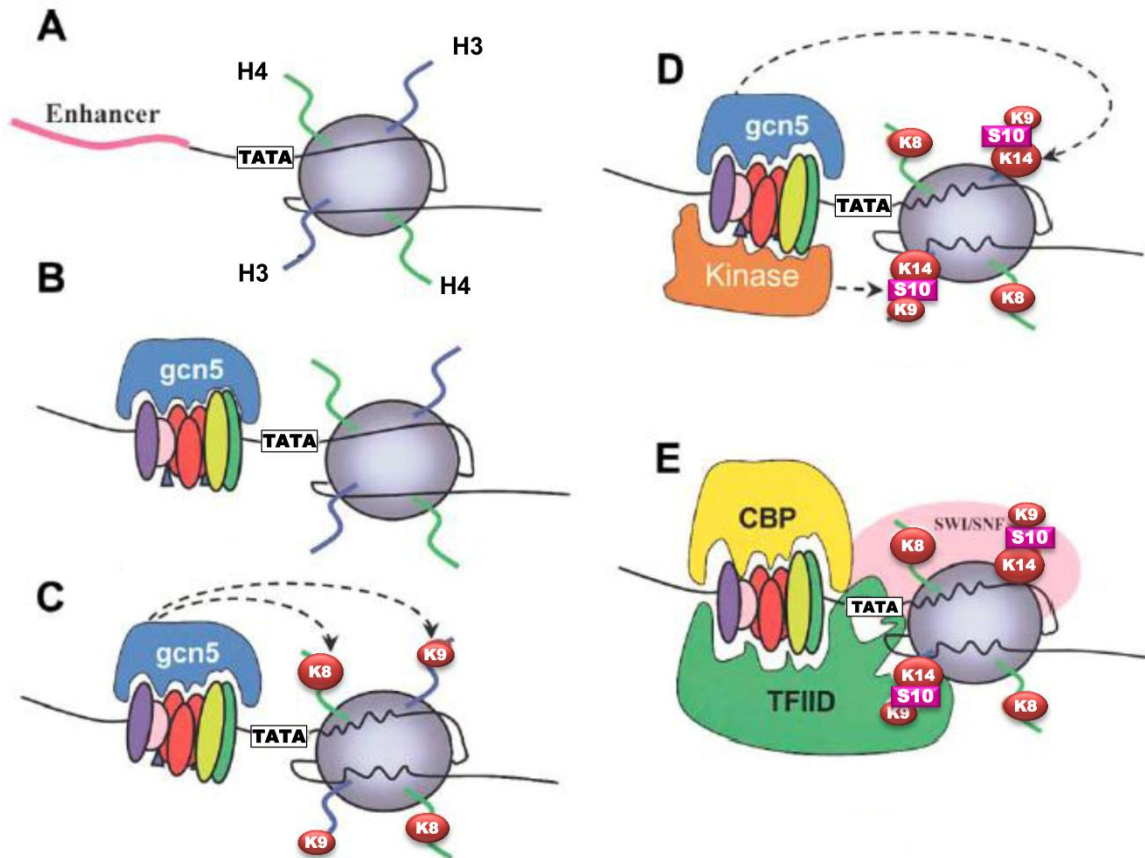


Abb. 1.4: Modell zur Erläuterung der Rolle der Histonacetylierung in der Initiierung der Transkription. Der typische Aufbau einer Promotorregion eines Gens mit dem Enhancer und der TATA-Box am Transkriptionsstart, gefolgt vom codierenden Bereich des Gens, dessen erster Teil mit dem Histonoctamer ein Nucleosom bildet. Zur Vereinfachung sind hier nur die Schwänze der im Octamer doppelt auftretenden Histone H3 und H4 gekennzeichnet (A). Während der Initiierung der Transkription binden Transkriptionsfaktoren an den Enhancer und rekrutieren die Histondeacetylase GCN5 an den Promotor des Gens (B). Die Acetylierung von H3K9 sowie H4K8 durch GCN5 (C) sind Voraussetzung für die Phosphorylierung von H3S10 (durch die JIL-1 Kinase in *Drosophila*) (D). Proteine des SWI/SNF Komplexes binden über Bromodomänen spezifisch an die beiden acetylierten Lysinreste und ermöglichen über ATP-abhängiges Remodelling des Nucleosoms die Zugänglichkeit der TATA-Box für den TFIIID-Komplex, der die RNA-Polymerase II zum Transkriptionsstart rekrutiert. Die Bindung und Stabilisierung von TFIIID ist außerdem von H3S10ph abhängig (E). Aus Agalioti, Chen, & Thanos, 2002.

Ein anderer wichtiger Aspekt der transkriptionalen Kontrolle durch Histonmodifikationen ist das Stilllegen von Genen durch die Ausbildung von Heterochromatin. Nach Deacetylierung von H3K9 durch eine HDAC wie beispielsweise RPD3, SIR2 oder SIRT6 wird der Lysinrest durch die Histonmethyltransferase SU(VAR)3-9 (*suppressor of variegation 3-9*) zwei- bis dreifach methyliert. Über seine Chromodomäne bindet HP1 (*heterochromatin protein 1*) spezifisch an H3K9me2/3. HP1 fungiert als Adaptorprotein und rekrutiert die Histonmethyltransferase SU(VAR)4-20 (*suppressor of variegation 4-20*), die mit der Dreifachmethylierung von H4K20 ein weiteres

Kennzeichen des Heterochromatins setzt. Da SU(VAR)3-9 ebenfalls an HP1 bindet, kann sich die Heterochromatinbildung ausbreiten (Elgin & Reuter, 2007).

Darüber hinaus bestehen zahlreiche Wechselwirkungen zwischen den verschiedenen Histonmodifikationen. Bspw. verhindert die Anwesenheit von H3K4me3 und H3S10ph (beide mit aktiver Transkription assoziiert) die Methylierung von H3K9, die zur Heterochromatinbildung führt (Kouzarides et al., 2007).

1.6 *Drosophila* als Modellorganismus

1.6.1 *Drosophila* als Modellorganismus in der Altersforschung

Die Taufliege *Drosophila melanogaster* ist einer der beststudierten Modellorganismen der Biologie und dient seit fast einem Jahrhundert als Studienobjekt in der Altersforschung (Loeb & Northrop, 1916). 1954 wurde sie zum ersten Mal Gegenstand der Erforschung des Einflusses des Ernährungsstatus auf einen Krankheitsverlauf (Ghelelovitch, 1954). Allerdings wurde sie erst in den 90iger Jahren des vergangenen Jahrhunderts erstmalig zur Erforschung der kalorischen Restriktion und ihres Effektes auf die Lebensdauer herangezogen (Le Bourg & Minois, 1996). Dabei sind die Eigenschaften, die *Drosophila* für die molekulare Altersforschung prädestinieren, zahlreich. Sie zeichnet sich durch eine geringe Lebensspanne von ca. 50 – 80 Tagen und durch einen kurzen Generationszyklus von ca. 10 Tagen aus. Sie ist im Labor ohne großen Aufwand zu züchten und die Inhaltsstoffe des Futtermediums können gut definiert werden. Ein besonderer Vorteil liegt aber in der Tatsache, dass das *Drosophila*-Genom vollständig sequenziert vorliegt (Adams et al., 2000) und die Informationen über bereits annotierte Funktionen von Genen in biologischen Prozessen in öffentlichen Datenbanken zugänglich sind (z. B. www.flybase.org). Außerdem ist es mithilfe des GAL4/UAS-Systems und seiner Variationen möglich, ein gewünschtes Gen in einem gewünschten Gewebe ggf. induzierbar zu überexprimieren oder dessen Expression über RNA-Interferenz stillzulegen (Duffy, 2002). Die hierfür benötigten Fliegenstämme ebenso wie Wildtypen oder Mutanten werden z. B. vom *Bloomington Drosophila Stock Center* der Indiana University, USA oder dem *Vienna Drosophila RNAi Center*, Österreich angeboten. Darüber hinaus sind die Signalwege, die derzeit als relevant für die Altersforschung gelten, wie der IGF-Signalweg und die Sirtuine, evolutionär hoch konserviert, was die Übertragbarkeit der Erkenntnisse aus Studien mit *Drosophila* auf den Alterungsprozess im Menschen sehr wahrscheinlich macht (Frye, 2000; Parrella et al., 2010).

1.6.2 Das GeneSwitch GAL4 System

Das GeneSwitch GAL4 System beruht auf dem GAL4/UAS-System und bietet die Möglichkeit, zusätzlich zur Gewebespezifität auch den Zeitpunkt der Überexpression oder der Stilllegung eines bestimmten Gens zu bestimmen. Das GAL4/UAS-System wurde 1993 von Andrea Brand und Norbert Perrimon entwickelt, die dessen Hauptkomponenten der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* entlehnten (Brand & Perrimon, 1993): den starken Transkriptionsaktivator GAL4 und die Sequenz, an die er spezifisch bindet. In *Drosophila* findet das GAL4/UAS-System seine Ausprägung in der F₁-Generation der Kreuzung zweier verschiedener Fliegenstämme: der Treiber - und der

Responderlinie. In der Treiberlinie liegt das *gal4*-Gen hinter einem gewebespezifischen Promotor vor, die Responderlinie exprimiert das Zielgen unter der Kontrolle der UAS, *upstream activating sequence*, ein optimierter Promotor, der die Bindungssequenz von GAL4 fünffach enthält. Da die Transkription des Zielgens nur dort stattfinden kann, wo GAL4 und UAS gemeinsam vorliegen, resultiert eine gewebespezifische Genexpression, deren Ort von der Treiberlinie bestimmt wird.

Das GAL4/UAS-System wurde von Osterwalder und Kollegen weiter verfeinert (Osterwalder et al., 2001; Roman et al., 2001). Um nicht nur die Gewebespezifität der Genexpression, sondern auch deren Zeitpunkt bestimmen zu können, nutzten sie das bereits von Burcin und Mitarbeitern entwickelte chimäre Protein GLp65 oder *GeneSwitch*, bestehend aus GAL4 und der Ligandenbindungsdomäne des humanen Progesteronrezeptors (Burcin et al., 1999). Mifepriston (RU486) als Progesteron-Antagonist vermittelt in diesem System die Bindung von GLp65 an die UAS. Osterwalder et al. klonierten die Sequenz für dieses Fusionsprotein hinter den Promotor eines gewebespezifisch exprimierten Gens und inserierten diese über P-Element-vermittelte Transformation in die Keimbahnzellen von *Drosophila*. Kreuzt man die somit erhaltene Treiberlinie mit einer beliebigen UAS-Linie, wird das Zielgen nur exprimiert, wenn die Tiere Mifepriston aufnehmen (s. Abb. 1.5). Hierbei ist die Expressionsstärke über die Mifepriston-Dosis regulierbar. Es sind keine Nebenwirkungen von Mifepriston, die sich auf die Vitalität der Fliegen auswirken könnten, bemerkt worden (Osterwalder et al., 2001).

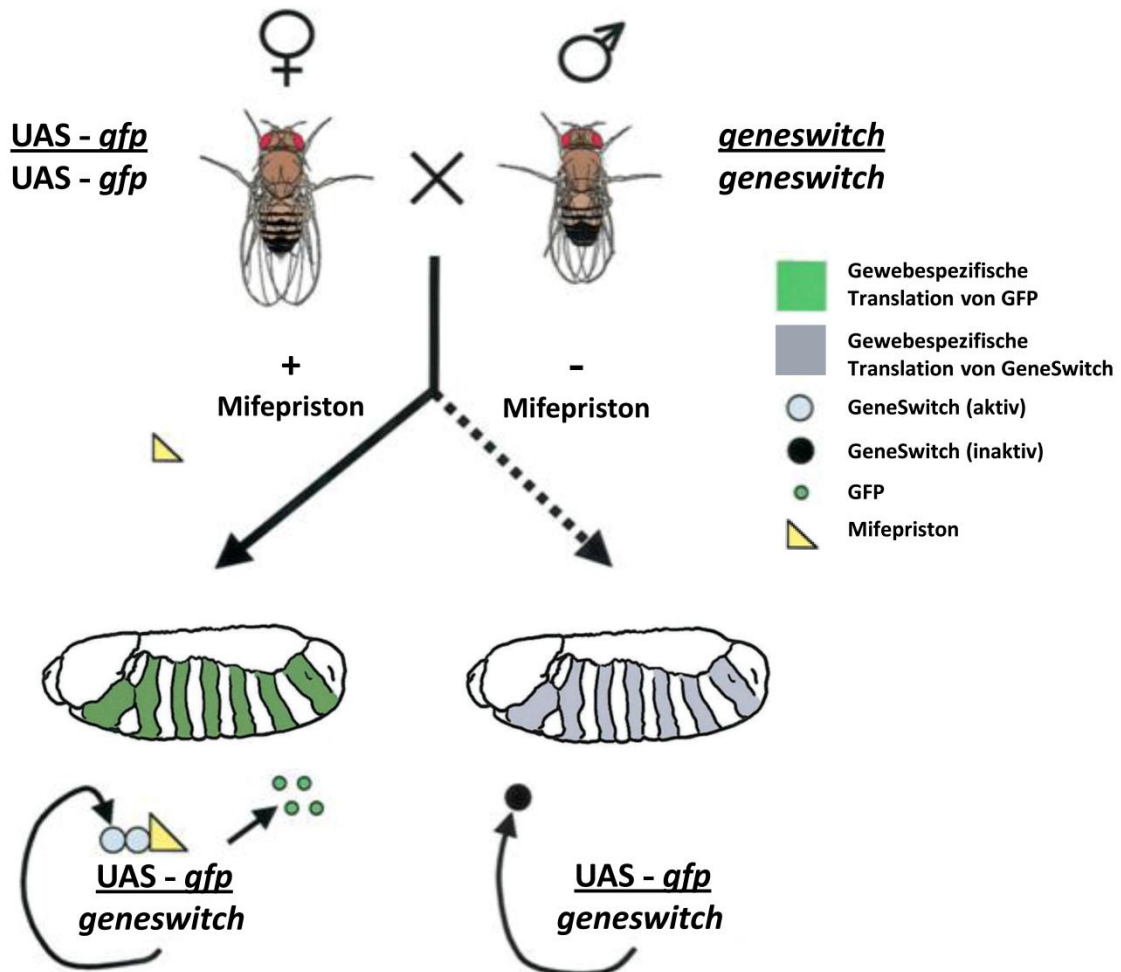


Abb. 1.5: Schematische Darstellung des GeneSwitch GAL4 Systems. Kreuzt man Treiberlinie (homozygot für *geneswitch*) und Responderlinie (homozygot für *UAS-gfp*), erhalten die Nachkommen beide Komponenten des Systems. Das Fusionsprotein GeneSwitch wird gewebespezifisch synthetisiert, in diesem Beispiel in alternierenden Segmenten des Embryos. Die Expression des Zielgens (hier *gfp*) wird allerdings nur in Anwesenheit von Mifepriston aktiviert. Verändert nach Duffy, 2002.

1.6.3 Der Fettkörper von *Drosophila*

Der Fettkörper hat eine lose Struktur und ist in Läppchen angelegt, die im adulten Tier unter der Cuticula lokalisiert sind und auch den Gastrointestinaltrakt und die Geschlechtsorgane umgeben. Durch die weitläufige Verteilung des Organs in der Körperhöhle der Tiere steht es in ständigem Kontakt mit der Hämolymphe, was für seine Funktionen von entscheidender Bedeutung ist. Der Fettkörper bildet den Hauptspeicher für Fett und Glykogen und ist maßgeblich an der Regulation der metabolischen Anpassung der Tiere an wechselndes Nahrungsangebot beteiligt (Arrese & Soulages, 2010). Darüber hinaus wird durch das Fettgewebe das Eindringen von Pathogenen detektiert und eine Immunantwort ausgelöst, die u. a. die Sezernierung antimikrobieller Peptide

in die Hämolymphe nach sich zieht (Lemaitre & Hoffmann, 2007). Weiterhin ist der Fettkörper auch für die Produktion der meisten in der Hämolymphe befindlichen Proteine verantwortlich (Arrese et al., 2010). Anhand seiner Funktionen lässt sich der Fettkörper, der kein homologes Organ in Säugetieren hat, als funktionelles Äquivalent zu Leber, Fettgewebe und den Blutzellen bezeichnen (Hotamisligil, 2006). Der Fettkörper verleiht dem Tier die (über-)lebenswichtigen Fähigkeiten, Hungerperioden zu überstehen und eine Immunabwehr gegen Pathogene zu errichten, weshalb er sich sehr gut für die Altersforschung an Insekten eignet.

1.7 Ziel der Arbeit

Der molekularen Altersforschung sind *Sir2* und *foxo* als Kandidaten für Langlebigkeitsgene bekannt. Während kontrovers diskutiert wird, ob *Sir2* die Lebensspanne von Modellorganismen verlängern kann, ist es als gesichert anzusehen, dass *foxo* eine zentrale Bedeutung für Alterungsprozesse hat. Im Rahmen dieser Arbeit soll mithilfe der gewebespezifischen Überexpression der Kandidatengene im adulten Fettkörper von *Drosophila* überprüft werden, ob *Sir2* die Lebenserwartung der Tiere erhöht. Zur Charakterisierung der physiologischen Funktionen von *Sir2* bzw. *foxo* im Fettkörper soll die Bestimmung der Speicherfette, der Hungerresistenz und die Analyse des Fettkörper-Transkriptoms nach der Überexpression des jeweiligen Gens dienen. Außerdem sollen die durch *Sir2* bzw. *foxo* hervorgerufenen Änderungen im Transkriptmuster mit dem nach einer DR verglichen werden.

Ob eine DR über epigenetische Regulationsmechanismen Einfluss auf Altersprozesse nimmt, ist bisher weitestgehend unerforscht. Deshalb soll als Beispiel für eine Histonmodifikation, die mit aktiver Transkription assoziiert ist, das genomweite Bindungsmuster von H3K9ac nach einer DR untersucht werden.

2 Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Geräte

ABS Analysenwaage	Kern & Sohn GmbH, Balingen-Frommern
accu-jet® pro Pipettierhilfe	Brand GmbH & Co KG, Wertheim
Bead Ruptor 24	Omni International, Kennesaw, GA, USA
Binokular	Nikon, Düsseldorf
Compact M Horizontal Gel Elektrophoresis Apparatus	Biometra, Göttingen
Digitalwaage KERN EMB 200-2	Kern & Sohn GmbH, Balingen-Frommern
GenePix 4000B Microarray Scanner	Axon Instruments, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA
Heiz-Thermomixer HTMR-133	Haep Labor Consult (HLC), Bovenden
Heraeus Fresco 17 Zentrifuge	Thermo Electron Corporation, Osterode
Hybridisierungskammer für Microarray	Quantifoil Instruments, Jena
Kamera AxioCamHRm	Zeiss, Göttingen
Microplate Reader LEDETECT 96	Biomed Dr. Wieser GmbH, Salzburg
Mikroskop Zeiss Axio imager 7.1	Zeiss, Göttingen
Minihybridisierungs-ofen	Biometra, Göttingen
MiniSpin Zentrifuge	Eppendorf AG, Hamburg
Molecular Imager Gel Doc	Bio-Rad, München
My Cycler thermal cycler	Bio-Rad, München
Nanodrop ND-1000 Spectrophotometer	Peqlab, Erlangen
NuAire™ Biological safety cabinets, Class II	NuAire™, Plymouth, Minn., USA
Pipetten Research Plus	Eppendorf AG, Hamburg
Rollenmischer RM5 V	Labortechnik Fröbel, Lindau
Sonic Ruptor 400	Omni International, Kennesaw, GA, USA
StepOne Real-Time PCR System	Applied Biosystems, Darmstadt

Temperierter Schüttler	Inheco, Martinsried
Ultraviolet Sterilizing PCR Workstation	Peqlab Biotechnologie GmbH, Erlangen
Vibratom Hyrax V-50	Zeiss, Göttingen

2.1.2 Verbrauchsmaterialien

48-Wellplatte und Abdeckfolie für qRT-PCR	Applied Biosystems, Darmstadt
Abdeckfolie HybriWell™ Hybridization System	Grace Bio-Labs, Bend, Oregon, USA
Ceaprenstopfen, 22 mm bzw. 36 mm	Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen
Dumont Präzisionspinzetten Biologie No. 5	Bioform, Nürnberg
Dynabeads® Protein G	Invitrogen Dynal AS, Oslo, Norwegen
Fliegenröhrchen, 16 ml bzw. 68 ml	Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen
Fliegenröhrchen, 28,5 x 95 mm	Dutscher Scientific, Grays, Essex, UK
Milbenstopfen, 21 mm bzw. 36 mm	K-TK, Retzstadt
Minutiennadeln Sphinx V2A 0,15 x 12 mm	Bioform, Nürnberg
Rotiprotect®-Latexhandschuhe	Roth, Karlsruhe
Rotiprotect®-Nitrilhandschuhe	Roth, Karlsruhe
Stopfen für Fliegenröhrchen, 28,5 mm	Dutscher Scientific, Grays, Essex, UK
Zirkonium Beads, Yttrium verstärkt, 2,6-2,8 mm	Biolab Products, Göttingen

Alle hier nicht aufgeführten Plastikwaren wie Pipettenspitzen, Eppendorfgefäße, Zentrifugenröhrchen, Einwegpipetten usw. wurden von Sarstedt, Nümbrecht bezogen.

2.1.3 Chemikalien

1 kbp-GeneRuler™	Fermentas, St. Leon-Roth
50 bp-GeneRuler™	Fermentas, St. Leon-Roth
Agarose	Biozym Scientific GmbH, Hessisch Oldendorf
Alexa Fluor 555	Life Technologies, Darmstadt
Alexa Fluor 647	Life Technologies, Darmstadt

Aminoallyl-UTP	Applied Biosystems, Darmstadt
Bierhefe	Leiber, Bramsche
Bodipy	Life Technologies, Darmstadt
Chlorphenolrot- β -D-galactopyranosid	Sigma, Steinheim
DIG Easy Hyb Hybridisierungspuffer	Roche Diagnostics GmbH, Mannheim
Dimethylsulfoxid	Sigma, Steinheim
dNTPs	Promega, Mannheim
DTT	Invitrogen, Karlsruhe
Ethidiumbromid	AppliChem, Darmstadt
Glykogen	Applied Biosystems, Darmstadt
Hefeextrakt	Becton Dickinson, Heidelberg
Hoechst-Farbstoff	Sigma, Steinheim
Magnesiumchlorid	Fermentas, St. Leon-Rot
Maismehl	Mühle Schlingemann, Watrop
Manganchlorid	Fermentas, St. Leon-Rot
Mifepriston	Sigma-Aldrich, Steinheim
Nipagin (Methyl-4-hydroxybenzoat)	Sigma-Aldrich, Steinheim
Normal Goat Serum (NGS)	Sigma-Aldrich, Steinheim
Paraformaldehyd	Polysciences, Inc., Warrington, PA, USA
Phenol / Chloroform / Isopropanol für die DNA-Isolierung	Roth, Karlsruhe
Poly-L-Lysin	Biochrom AG, Berlin
Protease Inhibitor Cocktail Tablets, EDTA-free	Roche Diagnostics, Mannheim
RiboLock™ Ribonuclease-Inhibitor	Fermentas, St. Leon-Rot
RNAmagic	Biobudget, Krefeld
Roti®-Mount	Roth, Karlsruhe
Salmon testes DNA	Sigma-Aldrich, Steinheim
Sylgard Silicone Elastomer 170	Dow Corning, Midland MI, USA
Triolein	Sigma-Aldrich, Steinheim
Triton X-100	Roth, Karlsruhe
Wasser (HPLC grade)	Roth, Karlsruhe
Yeast tRNA	Ambion Applied Biosystems, Darmstadt

Zuckerrohrmelasse	Biohof Heidelicht, Gr. Süstedt
Zuckerrübensirup	Kanne Brottrunk® GmbH & Co KG, Selm-Bork

Alle hier nicht aufgeführten Chemikalien wurden bei Roth, Karlsruhe bestellt.

2.1.4 Reagenziensysteme (Kits)

DyNAmo Flash SYBR Green qPCR Kit	Biozym Scientific, Hessisch Oldendorf
GenomePlex Complete WGA Kit	Sigma, Steinheim
MEGAscript® T7	Ambion, Applied Biosystems, Darmstadt
NucleoSpin® RNA II	Macherey-Nagel, Düren
QIAquick PCR Purification Kit	Qiagen, Hilden
SureClean	Bioline, Luckenwalde
Triglycerides	Thermo Fischer Scientific, Dreieich

2.1.5 Enzyme

LA Taq Polymerase	Takara, Otsu, Shiga, Japan
PrimeScript Reverse Transkriptase	Takara, Otsu, Shiga, Japan
Proteinase K	Fermentas, St. Leon-Rot
Pwo DNA Polymerase	Peqlab Biotechnologie GmbH, Erlangen
SuperScript™III Reverse Transkriptase	Invitrogen, Karlsruhe
Taq DNA Polymerase F100 L	Biozym Scientific, Hess. Oldendorf

2.1.6 Primer

Tab. 2.1: *In der Arbeit verwendete Primer.*

Name	Funktion	Sequenz (5'-3')
Oligo dT T7 I	globale cDNA-Synthese (Erststrang)	GAG AGA GGA TCC AAG TAC TAA TAC GAC TCA CTA TAG GGA GAT TTT TTT TTT TTT TTT TTT TTT T G/A/C
CapFinder Sp6rG	globale cDNA-Synthese (Zweitstrang)	CAG CGG CCG CAG ATT TAG GTG ACA CTA TAG ArGrGrG
Oligo dT T7 II	cDNA-PCR	GAG AGA GGA TCC AAG TAC TAA TAC GAC TCA CTA TAG G
Adaptor SP6rG-PCR	cDNA-PCR	GAC GCC TGC AGG CGA TGA ATT TAG G
Sir2 F	qRT-PCR	GCC TCC AGG ACA GTT AGC AG
Sir2 R	qRT-PCR	CGT GAT ACC GGG AAT TGA AG
rpl32 F	qRT-PCR	TTG GCT TCG GTT TCC GGC AAG
rpl32 R	qRT-PCR	ATC GAT CCG ACT GGT GGC GGAT

Alle hier aufgeführten Primer wurden bei Invitrogen, Karlsruhe bestellt.

2.1.7 Antikörper

anti-Histon H3 acetyl-Lys9	Active Motif, Rixensart, Belgien
Anti-GST-dFoxO (1-214aa)	Cosmo Bio Co., Carlsbad, CA, USA
DyLight 549-conjugated goat anti-rabbit	JacksonImmunoResearch über Dianova, Hamburg

2.1.8 Arrays

Drosophila 14 k V2	Canadian Drosophila Microarray Centre, Toronto, Canada
--------------------	---

2.1.9 Lösungen und Puffer

2.1.9.1 Puffer für den täglichen Gebrauch

10 x PBS

1,37 M	NaCl
2,7 M	KCl
65 mM	Na ₂ HPO ₄
15 mM	KH ₂ PO ₄

ad 1 l ddH₂O autoklaviert

HL3

70 mM	NaCl
5 mM	KCl
1,5 mM	CaCl ₂
20 mM	MgCl ₂
10 mM	NaHCO ₃
5 mM	Trehalose
115 mM	Saccharose
5 mM	HEPES

ad 1l ddH₂O, pH 7,2; steril filtriert

10 x TBE

0,89 M	TRIS
0,89 M	Borsäure
25 mM	EDTA

ad 1l ddH₂O, autoklaviert

2.1.9.2 Lösung für den β -Galactosidase-Aktivitätstest

CPRG-Puffer

50mM Kaliumphosphat

1 mM Mg Cl₂

pH 7,5

2.1.9.3 Waschlösungen für den Microarray

20 x SSC

3 M NaCl

0,3 M Natriumcitrat

ad 1 l ddH₂O, pH-Wert 7, autoklaviert

Die benötigten Waschlösungen wurden durch Verdünnung von 20 x SSC hergestellt wie im Text angegeben (vgl. 2.2.4.6) und sterilfiltriert. Hinterher wurde ggf. Triton X-100 zugegeben und für 15 min im Ultraschallbad entgast.

2.1.9.4 Puffer für die Chromatinimmunpräzipitation

Die Puffer für die Chromatinimmunpräzipitation wurden als Basispuffer angesetzt und direkt vor Beginn des Experiments mit den angegebenen Reagenzien versetzt.

Präparationspuffer (Basis)

60 mM	KCl
15 mM	NaCl
4 mM	MgCl ₂
15 mM	HEPES (pH 7,6)

Direkt vor dem Experiment hinzugegeben wurden für den:

Präparationspuffer

0,5 %	Triton X-100
0,5 mM	DTT
10 mM	Natriumbutyrat
1 x	Protease Inhibitor Cocktail

Lysepuffer (Basis)

140 mM	NaCl
15 mM	HEPES (pH 7,6)
1 mM	EDTA (pH 8)
0,5 mM	EGTA
1%	Triton X-100

Direkt vor dem Experiment hinzugegeben wurden für den:

Lysepuffer I

0,5 mM	DTT
0,1 %	Natriumdeoxycholat
10 mM	Natriumbutyrat
1 x	Protease Inhibitor Cocktail

Lysepuffer II

0,5 mM	DTT
0,1 %	Natriumdeoxycholat
10 mM	Natriumbutyrat
1 x	Protease Inhibitor Cocktail
0,2 %	SDS
0,5 %	N-Laurylsarcosin

Waschpuffer

0,5 mM	DTT
0,1 %	Natriumdeoxycholat
10 mM	Natriumbutyrat
1 x	Protease Inhibitor Cocktail
0,05 %	SDS

Tris-EDTA-Puffer (TE)

10 mM	TRIS-HCl (pH 8)
0,1 mM	EDTA

Elutionspuffer I

10 mM	EDTA
1 %	SDS
50 mM	TRIS-HCl (pH 8)

Elutionspuffer II

10 mM	TRIS-HCl (pH 8)
0,1 mM	EDTA
0,67 %	SDS

37 % Formaldehyd

1,85 g Paraformaldehyd wurden in 5 ml ddH₂O unter Rühren erhitzt. Während des Erhitzens wurden 70 µl 1 N KOH zugegeben. Nach dem Lösen wurde das Formaldehyd aliquotiert und bei -20 °C gelagert. Ein einmal aufgetautes Aliquot wurde nicht wieder eingefroren und noch einmal verwendet.

2.1.10 Fliegenmedien

Normalmedium

6,25 % (w/v) Bierhefe, 6,25 % (w/v) Maismehl, 2 % (w/v) Glucose und 1 % (w/v) Agar-Agar wurden in Leitungswasser gemischt und unter Rühren erhitzt. In der erwärmten Lösung wurden je 3 % (w/v) Melasse und Zuckerrübensirup gelöst. Das Medium wurde 15 min im Dampfdrucktopf autoklaviert und nach dem Abkühlen auf ca. 60 °C wurden 0,1 % (v/v) Propionsäure und 3 % (v/v) Nipagin (10 % in 70 % Ethanol) zugegeben. Das Medium wurde steril in zuvor mit UV-Licht bestrahlte Plastikröhrchen gefüllt und diese nach dem Abkühlen mit Wattestopfen verschlossen.

Kontrollmedium (CM)

5 % (w/v) Hefeextrakt, 8,6 % (w/v) Maismehl, 5 % (w/v) Saccharose und 0,5 % (w/v) Agar-Agar wurden in ddH₂O gemischt und unter Rühren erhitzt. Das Medium wurde 15 min im Dampfdrucktopf autoklaviert und nach dem Abkühlen auf ca. 60 °C wurden 0,1 % (v/v) Propionsäure und 3 % (v/v) Nipagin (10 % in 70% Ethanol) zugegeben. Das Medium wurde steril in Plastikröhrchen gefüllt und diese nach dem Abkühlen mit Milbenstopfen verschlossen.

CM mit Mifepriston bzw. Ethanol

Das CM wurde wie oben beschrieben hergestellt. Nach dem Abkühlen wurden zusätzlich zu Propionsäure und Nipagin 4 % (v/v) der Mifepriston-Stammlösung (10 mM in 90 % Ethanol) bzw. die entsprechende Menge Ethanol zugegeben.

DR-Medium (DR)

0,25 % (w/v) Hefeextrakt, 8,6 % (w/v) Maismehl, 5 % (w/v) Saccharose und 0,5 % (w/v) Agar-Agar wurden in ddH₂O gemischt und unter Rühren erhitzt. Das Medium wurde 15 min im Dampfdrucktopf autoklaviert und nach dem Abkühlen auf 60 °C wurden 0,1 % (v/v) Propionsäure und 3 % (v/v) Nipagin (10 % in 70% Ethanol) zugegeben. Das Medium wurde steril in Plastikröhrchen gefüllt und diese nach dem Abkühlen mit Milbenstopfen verschlossen.

2.1.11 Fliegenstämme

Tab. 2.2: *In der Arbeit verwendete Fliegenstämme.*

Name	Genotyp	Herkunft
w^{1118}	w^{1118}	Bloomington, # 5905
S₁106	w^{1118} ; P(Switch1)106 GS on 2 nd (Details s. Roman, Endo, Zong, & Davis, 2001)	Ronald Kühnlein, Max-Planck-Institut f. Biophysikalische Chemie, Göttingen
Sir2	UAS- <i>Sir2</i> (Details s. Griswold, Chang, Runko, Knight, & Min, 2008)	Kyung-Tai Min, Indiana University, Bloomington, USA
foxo	$y[1] w[*]$; P{w[+mC]=UAS-foxo.P}2	Bloomington, # 9575
lacZ	P{w[+mC]=UAS-lacZ.Exel}21; 3	Bloomington, # 8530

2.1.12 Software

GenePix 6.0	Axon Instruments, Molecular Devices, Sunnyvale, California, USA
Acuity 4.1	Axon Instruments, Molecular Devices, Sunnyvale, California, USA
GraphPad Prism 6.00	GraphPad Software, La Jolla, California, USA
AxioVision 4.1.	Zeiss, Göttingen
The Perfect Venn Diagram	Wolfram Mathematica mit Wolfram CDF Player (http://demonstrations.wolfram.com/ThePerfectVennDiagram/)
DAVID 6.7	http://david.abcc.ncifcrf.gov/

2.2 Methoden

2.2.1 Fliegenzucht

Alle verwendeten Fliegenstämme wurden bei 25°C auf Normalmedium gehalten und ca. alle 14 Tage auf frisches Normalmedium umgesetzt.

2.2.2 Überprüfung der Treiberaktivität mithilfe des β -Galactosidase-Aktivitätstests

Die Treiberlinie S_1 106 wurde mit der Reporterlinie *lacZ* gekreuzt. Tiere der F1 Generation wurden für entweder 24 h oder 7 Tage mit RU486- bzw. Ethanol-haltigem Medium gefüttert. Je 2 Tiere wurden mit 3 Zirkonium Beads in 200 μ l vorgekühltem CPRG-Puffer 30 sec bei 3,25 m/s im Bead Ruptor homogenisiert. Anschließend wurde das Homogenat 1 min bei 13.000 x g, 4 °C zentrifugiert und von jeder Probe zweimal je 20 μ l Überstand in das Well einer Mikrotiterplatte gegeben. Nach Hinzufügen von 200 μ l 1 mM Chlorphenolrot- β -D-galactopyranosid in CPRG-Puffer wurde die Absorption bei 562 nm zum Zeitpunkt t_0 gemessen und anschließend bei 37 °C inkubiert. Die Absorption wurde alle 15 min über einen Zeitraum von 2 h gemessen und gegen die Inkubationszeit aufgetragen. Die Steigung der Kurve wurde mit der relativen β -Galactosidase-Aktivität gleichgesetzt und die Werte für die untersuchten Proben jeweils auf die Kontrolle (Ethanol) normiert.

2.2.3 Methoden zur phänotypischen Charakterisierung

2.2.3.1 Lebensdauerversuche

Für die Lebensdauerversuche wurden ca. 30-50 frisch geschlüpfte Tiere in ein Röhrchen mit frischem Medium gegeben und 2 Tage verpaart. Anschließend wurden Weibchen und Männchen getrennt und in Gruppen à 25 Fliegen in 68 ml-Röhrchen bei 25 °C, 40 – 60 % Luftfeuchtigkeit und einem Tag/Nacht-Rhythmus von 12 zu 12 h gehalten. Das Medium wurde zweimal pro Woche gewechselt und hierbei wurden die toten Fliegen entfernt und gezählt. Zur statistischen Auswertung der Überlebensdaten wurde der Log-Rang-Test gewählt, der mithilfe von Graph Pad Prism 6.00 durchgeführt wurde.

2.2.3.2 Fettbestimmung

Die Bestimmung des Triglyceridgehalts der Fliegen erfolgte mithilfe des *Triglycerides* Kits (Thermo Fisher Scientific) zur Bestimmung von Triglyceriden im humanen Serum nach einem für *Drosophila*

optimierten Protokoll (Hildebrandt et al., 2011). Fliegen wurden, wie für die Lebensdauerexperimente, verpaart und anschließend 7 Tage auf dem jeweils angegebenen Medium gehalten. 5 weibliche bzw. 8 männliche Fliegen wurden auf der Feinwaage gewogen und anschließend mit je 3 Zirkonium Beads in 1 ml 0,05 % Tween-20 2 min bei 3,25 m/s im Bead Ruptor homogenisiert. Zur Hitzeinaktivierung endogener Enzyme wurden die Lysate 5 min bei 70 °C inkubiert und anschließend 3 min bei 3.000 x g zentrifugiert. Der Überstand wurde bis zur weiteren Verarbeitung bei -20 °C gelagert. Die Proben wurden im Heizblock bei 37 °C aufgetaut und 3 min bei 2.500 x g zentrifugiert. 50 µl des Überstands wurde in ein Well einer 96-Wellplatte gegeben und die Extinktion bei 562 nm gemessen (t_0 -Wert). Dann wurden 200 µl Triglyceride Solution (auf 37°C vorgewärmt) zugegeben und für 30 min bei 37°C unter leichtem Schütteln inkubiert und erneut die Extinktion (562 nm) gemessen (t_1 -Wert). Als Standard bzw. Blank dienten 100 – 1,56 µg bzw. 0 µg Triolein in 50 µl 0,05 % Tween-20. Die Standardlösung wurde wie oben für die Proben beschrieben homogenisiert. Für Proben, Standards und Blank wurde Δt (t_1-t_0) berechnet. Von Δt der Proben und Standards wurde Δt des Blanks abgezogen, eine Standardkurve erstellt und anhand dieser die Menge an Triacylglycerid berechnet.

2.2.3.3 BODIPY-Färbung und Bestimmung der Lipidtröpfchengröße

Für die Färbung der Lipidtröpfchen im Fettgewebe von L3 Larven und adulten Fliegen wurde der Fluoreszenzfarbstoff BODIPY® (4,4-Difluoro-1,3,5,7,8-Pentamethyl-4-Bora-3a,4a-Diaza-s-Indacene, 493/503) verwendet. Die Stammlösung (1 mg/ml in DMSO) wurde bei -20 °C gelagert. Nachdem die Tiere 24 h mit oder ohne RU486 behandelt wurden, wurde der Fettkörper der Larven bzw. die abdominale Cuticula der Adulten mit den an ihr haftenden Fettkörperläppchen präpariert und 1 h in 4 % PFA / PBS fixiert. Anschließend wurde dreimal 5 min in PBS gewaschen und 30 min in der Färbelösung (1 µg/ml Bodipy und 5 µg/ml Hoechst in PBS) bei RT inkubiert. Nach erneutem Waschen (dreimal 5 min in PBS) wurden die Präparate in Mowiol, das 25 mg/ml DABCO enthielt, eingedeckelt. Die Präparate wurden innerhalb der nächsten 2 Tage mit dem Mikroskop Axio imager 7.1 (Zeiss) betrachtet und mit einer AxioCam MRM Kamera (Zeiss) fotografiert. Pro Gruppe wurden 14 Fotos von 7 biologischen Replikaten mithilfe des AxioVision 4.1 (Zeiss) auf ihre Lipidtröpfchengröße hin untersucht. Um die Durchmesser der Lipidtröpfchen zu messen wurde eine Linie quer über das Bild gezogen und alle Lipidtröpfchen, die diese Linie berührten, wurden mithilfe des Längenmesswerkzeugs des Programms gemessen.

2.2.3.4 Immunhistochemischer Nachweis der zellulären Lokalisation von FOXO

Mithilfe der Immunhistochemie sollte überprüft werden, ob die Überexpression von *Sir2* im Fettkörper einen Einfluss auf die zelluläre Lokalisation von FOXO hat. Hierfür wurden adulte

Weibchen und Männchen 24 h mit oder ohne RU486-haltigem Medium gefüttert und anschließend deren abdominale Cuticula in 4 % Formaldehyd präpariert. Nach weiterer Fixierung (bis zu 24 h bei 4 °C) wurden die Präparate in Poly-L-Lysin getaucht und in 2 % Agarose eingebettet. Nun wurden mithilfe des Vibratoms Schnitte von 80 µm Dicke angefertigt und dreimal 5 min in PBT (0,3 % Triton-X 100 in PBS) gewaschen. Anschließend wurden die Schnitte 30 min in Blockpuffer (10 % NGS/PBT) blockiert und danach mit α-GST-dFoxO (1:1000 in Blockpuffer) ÜN bei 4 °C inkubiert. Am nächsten Tag wurden die Präparate viermal 5 min in PBT gewaschen und im Anschluss mit dem sekundären Antikörper (DyLight 549-conjugated goat α-rabbit, 1:500 in Blockpuffer) ÜN bei 4 °C inkubiert. Danach wurde 6 mal 5 min mit PBT gewaschen, wobei dem PBT im vorletzten Waschschrift 5 µg/ml Hoechst-Farbstoff zugegeben wurde. Nun wurden die Schnitte in Mowiol/DABCO eingebettet und am nächsten Tag mit dem Mikroskop Axio imager 7.1 (Zeiss) betrachtet und mit der Axiocam MRM Kamera (Zeiss) fotografiert.

2.2.4 Microarray

2.2.4.1 Präparation des Fettkörpers und RNA-Isolierung

Die zu präparierenden Tiere wurden auf Eis gekühlt, der Kopf und die Flügel abgetrennt und das Tier mit einer den Thorax durchstechenden Minutiennadel auf einer mit Sylgard Silikon Elastomer ausgegossenen Petrischale festgesteckt. Zur Präparation wurde der Körper des Tieres mit HL3 bedeckt und der freipräparierte Fettkörper bis zur RNA-Isolation in HL3 auf Eis gelagert. Für ein biologisches Replikat wurde der Fettkörper von 7 - 9 Tieren isoliert.

Anschließend wurde 10 min bei 12.000 x g, 4 °C zentrifugiert und das Pellet in 1 ml RNAmagic® resuspendiert. Danach wurde zweimal in flüssigem Stickstoff schockgefroren und auf Eis aufgetaut. Nach Zugabe von 250 µl Chloroform wurde 30 sec auf einem Vortexer gemischt, 10 min auf Eis inkubiert und 5 min bei 12.000 x g, 4 °C zentrifugiert. Die obere Phase wurde in ein neues Reagiergefäß überführt, mit einem Volumen Isopropanol gemischt und mind. 30 min bei -20 °C gefällt. Danach wurde 25 – 45 min bei 17.000 x g, 4 °C zentrifugiert, das Pellet in 70 % Ethanol gewaschen und danach je nach Größe in 10 – 15 µl H₂O (*HPLC grade*) aufgenommen. Die RNA-Konzentration und Reinheit wurden mithilfe des Nanodrop Spektralphotometers bestimmt.

2.2.4.2 cDNA-Synthese von Gesamt-mRNA

Für die cDNA-Synthese und anschließende Amplifizierung (s. 1.2.4.3) wurde nach dem Protokoll von Schramm et al. vorgegangen (Schramm et al., 2000).

Für die cDNA-Synthese wurden

2,5 µl	CapFinder Sp6rG (10 µM)
2,5 µl	OdT T7 I (10 µM)
1 µl	dNTPs (10 mM)
1 µl	RNA
3 µl	H ₂ O (HPLC grade)

gemischt, kurz zentrifugiert, 5 min bei 65 °C denaturiert und dann sofort wieder auf Eis gestellt.

Nun wurden

4 µl	Prime Script Puffer (5x)
0,5 µl	RiboLock™ Ribonuclease-Inhibitor
0,5 µl	MnCl ₂ (40 mM)
1 µl	Prime Script Reverse Transcriptase

zugegeben, gemischt, kurz zentrifugiert und für 45 min im Hybridofen bei 42°C inkubiert.

2.2.4.3 cDNA-PCR

Zunächst wurde nur ein PCR-Ansatz pro cDNA-Synthese-Ansatz als Test-PCR angesetzt.

Zu 2 µl cDNA Synthese-Ansatz aus 2.2.4.2 wurden

33 µl	H ₂ O (<i>HPLC grade</i>)
5 µl	Puffer
8 µl	dNTPs
1 µl	Adaptor Sp6rG (10 µM)
1 µl	OdT T7 II (10 µM)
0,5 µl	LA Taq

gegeben, gemischt, kurz zentrifugiert und mit folgendem Programm im PCR-Cyler inkubiert:

95 °C	1 min
95 °C	20 sec
53°C	20 sec
72 °C	2 min 30 sec + 5 sec /Zyklus
72 °C	5min
4 °C	∞

5 µl des PCR-Ansatzes wurden auf ein 1 %iges Agarose-Gel aufgetragen, um die Ausbeute zu überprüfen. Waren cDNA-Synthese und -PCR erfolgreich, wurde eine PCR mit 3-5 Ansätzen / Probe durchgeführt. Anschließend wurden die PCR-Produkte mithilfe von SureClean nach Angaben des Herstellers aufgereinigt, das Pellet in jeweils 10 µl H₂O (*HPLC grade*) resuspendiert und die Konzentration mithilfe des Nanodrop Spektralphotometers bestimmt.

2.2.4.4 Synthese der aminoallyl-cRNA

Die cRNA-Synthese erfolgte mithilfe des Kits MegaScript T7® (Ambion).

Zu 500 ng gereinigter Gesamt-cDNA (aus 2.2.4.3) in einem Volumen von 3 µl wurden folgende Reagenzien gegeben:

4,5 µl	H ₂ O (<i>HPLC grade</i>)
2 µl	ATP
2 µl	CTP
2 µl	GTP
1 µl	UTP
1,5 µl	aminoallyl-UTP
2 µl	10 x Puffer
2 µl	T7 Enzym-Mix

Der Mastermix wurde bei RT pipettiert, um ein Ausfallen der Pufferbestandteile zu verhindern. Die Ansätze wurden für 4 h bei 37 °C im Hybridofen inkubiert und 1 µl jedes Ansatzes wurde im 1 %igen Agarose-Gel auf Ausbeute überprüft. Dann wurde die cRNA mit dem Kit NucleoSpin® RNA II (Macherey-Nagel) wie folgt aufgereinigt. Der cRNA-Synthese-Ansatz wurde mit H₂O (*HPLC grade*) auf 100 µl aufgefüllt, mit je 350 µl RA1 und 70 % EtOH gemischt und auf die Säule aufgetragen. Es wurde 30 sec bei 11.000 x g zentrifugiert und anschließend zweimal mit 600 µl RA3 gewaschen. Nach dem dritten Waschschrift mit 250 µl RA3 wurde die Säule 2 min trocken zentrifugiert und anschließend mit 100 µl H₂O (*HPLC grade*) 1 min bei 11.000 x g eluiert. Um die RNA aufzukonzentrieren, wurde sie mit 10 µl 3 M Natriumacetat und 250 µl reinem EtOH für mind. 30 min bei -20 °C gefällt, hinterher 20 min bei 17.000 x g, 4 °C zentrifugiert. Das Pellet wurde zweimal mit 300 µl 70 % EtOH gewaschen und anschließend in 8 µl H₂O (*HPLC grade*) resuspendiert. Die Konzentration wurde mit dem Nanodrop Spektralphotometer bestimmt.

2.2.4.5 Farbstoffkopplung an die aminoallyl-cRNA

Die aminoallyl-cRNA wurde mit Fluoreszenzfarbstoffen gekoppelt, um sie anschließend auf dem Mikroarray detektieren zu können. Die cRNA der Kontrollgruppe wurde mit Alexa Fluor 555, die cRNA der Versuchsgruppe mit Alexa Fluor 647 gekoppelt. Hierfür wurden die Farbstofflyophilisate in je 40 µl DMSO gelöst. Je 40 µg aminoallyl-cRNA wurden mit 2 Vol NaHCO₃ (0,3 M, pH 9) und 3 Vol Farbstoff gemischt und für 2 h lichtgeschützt bei RT inkubiert. Hinterher wurde die gefärbte cRNA mit dem Kit NucleoSpin® RNA II (Macherey-Nagel) aufgereinigt, wie unter 2.2.4.4 beschrieben. Die Konzentration von RNA und Farbstoff wurden mithilfe des Nanodrop Spektralphotometers bestimmt.

2.2.4.6 Hybridisierung des Microarrays

Zur Vorbereitung wurde der Microarray mithilfe von Stickstoff von Staubpartikeln und anderen möglichen Verunreinigungen befreit, mit der Abdeckfolie bedeckt und in die Hybridisierungskammer gelegt. Diese wurde verschlossen und auf dem bereits auf 42 °C vorgeheizten Thermoshaker platziert. Nun wurde die Hybridisierungslösung wie folgt angesetzt: 400 µl Dig Easy Hyb Hybridisierungspuffer, je 2,2 µl Salmon testes DNA und Yeast tRNA und die farbstoffgekoppelte cRNA der Versuchsgruppe und der korrespondierenden Kontrolle. Hierbei wurde das Volumen der cRNA so gewählt, dass die Hybridisierungslösung 200 pmol des an die Kontrollprobe gekoppelten Alexa Fluor 647 und 400 pmol des an die cRNA der Versuchsgruppe gekoppelten Alexa Fluor 555 enthielt. Die Mengen der beiden Farbstoffe wurden unterschiedlich gewählt, da der rote Farbstoff Alexa Fluor 555 anfälliger ist, während der Hybridisierung und des Scannens auszubleichen. Die Hybridisierungslösung wurde für 10 min bei 65 °C denaturiert und anschließend durch eine Öffnung in der Abdeckfolie luftblasenfrei auf den Mikroarray pipettiert. Die Öffnungen wurden mithilfe von selbstklebender Folie luftdicht verschlossen und der Mikroarray über Nacht bei 42 °C auf dem Thermoshaker inkubiert.

Am nächsten Morgen wurde der Mikroarray in einer mit 1 x SSC gefüllten Glaspetrischale platziert und hier die Abdeckfolie entfernt. Die folgenden Waschschrte wurden in 50 ml-Zentrifugenröhrchen auf einem Rollenmischer durchgeführt und die Waschlösungen vorgewärmt. Die Zentrifugenröhrchen waren mit Alufolie ummantelt. Es wurde darauf geachtet, den Wechsel von einer Waschlösung zur nächsten möglichst schnell zu gestalten:

1 x SSC	RT, 45 min
1 x SSC, 0,1 % Triton X-100	60°C, 2 x 15 min
0,1 x SSC, 0,1 % Triton X-100	37 °C, 2 x 15 min
0,1 x SSC	30 sec
ddH ₂ O	10 sec

Im Anschluss wurde der Mikroarray nochmals kurz mit ddH₂O gespült und sofort mit Stickstoff getrocknet. Die langfristige Lagerung erfolgte bei -20 °C in einem mit Aluminiumfolie ummantelten frischen 50 ml-Zentrifugenröhrchen, das mit Stickstoff gefüllt wurde.

2.2.4.7 Scannen und Auswertung des Mikroarrays

Der Mikroarray wurde direkt nach Abschluss des Waschens mithilfe des GenePix 4000B Microarray Scanner (Axon Instruments) eingelesen. Es wurde zunächst ein Prescan durchgeführt, um zu überprüfen, ob die Hybridisierung erfolgreich war und der Mikroarray nicht verunreinigt ist. Ggf. wurde der Array nochmals den letzten drei Waschschrten unterzogen. Nach erfolgreichem

Prescan wurden die Laserstärke (*% power*) und -amplitude (*gain*) für die Wellenlängen 532 nm und 635 nm so eingestellt, dass die Fluoreszenzsignale für beide Wellenlängen (über den gesamten Array gemittelt) ungefähr gleich hoch waren und sich nur ca. 0,5 % der Signale in der Sättigung befanden. Die *focus position* wurde auf 0 und *lines to average* auf 4 gestellt.

Mithilfe des Programms GenePix 6.0 (Axon Instruments) wurde die im sog. *gal-file* enthaltene Maske ausgerichtet. Sie enthält Informationen darüber, welches Oligonukleotid oder welche Kontrolle wo auf dem Array liegt, und muss an das gescannte Bild angepasst werden. Außerdem werden mithilfe des Programms *spots*, auf denen sich eine Verunreinigung befindet, markiert, sodass sie später aus der Auswertung ausgeschlossen werden können (s. u.). Anschließend werden Fluoreszenzsignale für jeden *spot* über das Verhältnis der Signalintensitäten beider Wellenlängen in relative Genexpressionsdaten¹ umgerechnet. Die weitere Auswertung erfolgte mit dem Programm Acuity 4.1 (Axon Laboratories). Zunächst wurden die Mikroarrays normalisiert, hauptsächlich, um Imbalancen der Signalintensitäten beider Wellenlängen, die durch das Scannen auftreten können, auszugleichen. Der der Normalisierung zugrunde liegende Algorithmus basiert auf der Annahme, dass durch die experimentellen Bedingungen nur ein sehr kleiner Teil der auf dem Array detektierten Gene (er deckt das gesamte Genom von *Drosophila melanogaster* ab) reguliert wird und somit der Mittelwert der *ratio of medians* aller *spots* auf dem Array gleich 1 sein müssten. Nach der Normalisierung werden die für die weitere Auswertung relevanten Datenpunkte mithilfe einer Filterfunktion des Programms selektiert und dabei folgenden Kriterien gesetzt:

- das Verhältnis von Signal des *spots* zum Signal des Hintergrunds muss für mind. eine Wellenlänge > 3 sein,
- die *log ratio* des *spots* muss zwischen -10 und 10 liegen,
- die *spots* dürfen nicht als verunreinigt markiert sein.

In dem so erhaltenen Datensatz wurden solche Gene als hoch- bzw. abreguliert bezeichnet, deren *ratio of medians* in zwei von drei Arrays $\geq 1,5$ bzw. $\leq 0,67$ betrug, also gegenüber der Kontrolle mindestens 1,5fach hoch- oder abreguliert waren. Mithilfe der skalierten Venn-Diagramme, die mit Wolfram Mathematica gezeichnet wurden, wurden Überschneidungen zwischen den differentiell regulierten Genen verschiedener Versuchsgruppen dargestellt und mithilfe des exakten Tests nach Fisher in Graph Pad Prism 6.00 verglichen.

¹ Hierfür sind zwei Datenformate von Bedeutung: Die *ratio of medians* gibt das Verhältnis der Mediane der Signalintensitäten für die Wellenlängen 635 zu 532 an. Die *log ratio* ist die logarithmische Transformation zur Basis 2 der *ratio of medians*.

Mithilfe des freizugänglichen Angebots von DAVID (Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery) im Internet konnten innerhalb der hoch- oder abregulierten Gene nach biologischen Prozessen gesucht werden, die unter den differentiell exprimierten Genen im Vergleich zum Gesamtgenom überrepräsentiert sind (Huang et al., 2009a; Huang et al., 2009b). Hierbei wurde die Anwendung *Functional Annotation Chart* verwendet und nur *GO (Gene Ontology) biological process* sowie *KEGG pathway* [Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, (Kanehisa & Goto, 2000)] mit in die Analyse einbezogen. Ansonsten wurden die Grundeinstellungen verwendet und nur Gengruppen mit $p < 0,05$ als statistisch signifikant häufiger auftretend als im Referenzgenom angesehen.

2.2.5 Quantitative real-time PCR (qRT-PCR)

Zunächst wurde getestet, welches der Kandidatengene *rpl13*, *rpl32*, *actin42*, *actin79a*, *opa-1like* sich unter den Versuchsbedingungen als Referenzgen für die unterschiedlich behandelten Fettkörperproben eignet. Der Test ergab, dass die Expression von *rpl32* im Fettkörper unter den gewählten Versuchsbedingungen nicht reguliert wird, weshalb es für die folgenden Versuche als Referenzgen diente.

Für die qRT-PCR wurden jeweils 20 ng der amplifizierten cDNA (s. 2.2.4.2) in folgenden Reaktionsansatz eingesetzt und mithilfe des *DyNAmo Flash SYBR Green qPCR Kits* amplifiziert:

0,5	μl	Primer F
0,5	μl	Primer R
0,25	μl	ROX
5	μl	Sybr-Mix
x	μl	Erststrang-Syntheseansatz aus 2.2.4.2, entsprechend 20 ng cDNA
ad 10	μl	H ₂ O (HPLC grade)

Die Amplifizierung erfolgte im StepOne Real-Time PCR System (Applied Biosystems) mit folgendem Programm:

95 °C	10 min		
95 °C	10 sec	}	40 Zyklen
60°C	20 sec		
72 °C	35 sec		
95 °C	15 sec		
60 °C – 95°C	in Schritten à 0,3 °C	}	Schmelzkurve

Die Fluoreszenzintensität wurde während der Amplifizierung in jedem Zyklus bei 72 °C und während der Erstellung der Schmelzkurve bei jedem Temperaturschritt zwischen 60 °C und 95 °C gemessen.

Die Auswertung der Expressionsdaten erfolgte nach den Empfehlungen von Pfaffl (Pfaffl, 2001). Für alle verwendeten Primer wurde mithilfe einer Standardkurve die Effizienz der Amplifizierung bestimmt. Als Standard diente cDNA in serieller Verdünnung (1:2) von 125 ng bis 1,95 ng / Ansatz. Die vom Programm StepOne ausgegebene Steigung der Standardkurve (*slope*) wurde nach folgender Formel in die Primereffizienz E umgerechnet:

$$E = 10^{-1/slope}$$

Die vom Programm StepOne ausgegebenen CT-Werte (*threshold cycle*) wurden zur Berechnung der relativen Expression R des Zielgens (ZG) bezogen auf das Expressionslevel des Referenzgens *rpl32* (RG) verwendet:

$$R = \frac{E(\text{ZG})^{\Delta\text{CT}(\text{Kontrolle-Probe})}}{E(\text{RG})^{\Delta\text{CT}(\text{Kontrolle-Probe})}}$$

2.2.6 Chromatin-Immunpräzipitation und Microarray-Analyse (ChIP-Chip)

2.2.6.1 Chromatin-Extraktion

100 verpaarte Fliegen wurden in 1,75 ml 1,8 % Formaldehyd / Präparationspuffer in einem Glaspotter homogenisiert, die Suspension in ein 2 ml-Reagiergefäß überführt und bei RT auf einem Rollenmischer inkubiert. Nach genau 15 min Fixierung wurde mit 2,5 mM Glycin abgestoppt und weitere 5 min bei RT inkubiert. Anschließend wurde 5 min bei 4000 x g, 4°C zentrifugiert, der Überstand verworfen und das Pellet in 1 ml Präparationspuffer (auf Eis vorgekühlt) resuspendiert. Dieser Waschschrift wurde zweimal mit Präparationspuffer und einmal mit Lysepuffer I wiederholt. Anschließend wurde das Pellet in 700 µl Lysepuffer II resuspendiert und 30 min bei 4 °C auf einem Rollenmischer inkubiert. Mithilfe des Sonic Ruptor wurde die Gewebesuspension zweimal 30 sec mit maximaler Amplitude sonifiziert. Zwischen beiden Ultraschallbehandlungen wurde die Probe mind. 30 sec auf Eis gekühlt. Danach wurde die Suspension erneut für 10 min auf dem Rollenmischer bei 4 °C inkubiert, anschließend bei 12.000 x g und 4 °C 5 min zentrifugiert und der Überstand aliquotiert. Der Chromatinextrakt wurde in 2 Aliquots à 300 µl für die Immunpräzipitation und eines à 50 µl für die Inputkontrolle aufgeteilt, in flüssigem Stickstoff schockgefroren und bis zur weiteren Verwendung bei -80 °C gelagert.

2.2.6.2 Immunpräzipitation

Je 300 µl Chromatinextrakt wurden mit 300 µl Waschpuffer und 10 µl anti-Histon H3 acetyl-Lys9-Antikörper (Kaninchenserum, enthält 30 % Glycerol) 4 h bei 4 °C auf einem Rollenmischer inkubiert. Nun wurden je 65 µl Dynabeads® Protein G zugegeben und über Nacht bei 4 °C auf dem Rollenmischer inkubiert. Am Morgen wurde die Probe kurz zentrifugiert und mind. 30 sec in ein MagnaRack gestellt, um den Überstand abzunehmen. Das Beadpellet wurde vorsichtig in 1 ml vorgekühltem Waschpuffer resuspendiert, 5 min auf dem Rollenmischer inkubiert und anschließend der Überstand im MagnaRack abgenommen. Dieser Waschschrift wurde noch dreimal mit 1 ml Waschpuffer und zweimal mit 1 ml TE wiederholt. Anschließend wurde das Pellet in 100 µl Elutionspuffer I resuspendiert und 15 min bei 65 °C und 600 rpm eluiert. Der Überstand wurde im MagnaRack abgenommen und in ein neues Eppendorfgefäß überführt. Das Beadpellet wurde in 150 µl Elutionspuffer II resuspendiert und noch einmal wie im letzten Schritt inkubiert. Das zweite Eluat wurde mit dem ersten vereinigt.

2.2.6.3 DNA-Aufreinigung der Immunpräzipitate und der Input-Kontrollen

250 µl Eluat bzw. 50 µl Inputkontrolle wurden mit 1 Volumen Proteinase K-Lösung gemischt und mind. 5 h oder ÜN bei 56 °C auf dem Thermoshaker bei 600 rpm inkubiert. Dann wurden 1/10 Volumen 4 M LiCl und 1 Volumen Phenol/Chloroform/Isopropanol zugegeben und 30 sec auf dem Vortexer gemischt. Im Anschluss wurde 5 min bei 12.000 x g, RT zentrifugiert und die obere Phase in ein neues Eppendorfgefäß überführt. Diese wurde mit 2,5 Volumen reinem EtOH gemischt und für 30 min bei -20 °C gefällt. Danach wurde 20 min bei 17.000 x g, 4 °C zentrifugiert, das Pellet in 70 % Ethanol gewaschen und danach in 15 µl H₂O (*HPLC grade*) resuspendiert.

2.2.6.4 Amplifizierung der präzipitierten Fragmente

Die aus den Immunpräzipitaten und dem als Inputkontrolle dienendem Chromatinextrakt gewonnene DNA wurde mithilfe des *Whole Genome Amplification* Kit (Sigma-Aldrich) amplifiziert. Das Protokoll wurde mit kleinen Änderungen nach Angaben des Herstellers durchgeführt. Da die Proben bereits im Vorhinein durch Ultraschallbehandlung fragmentiert worden waren, wurde direkt mit der *Library Preparation* begonnen. Allerdings wurde zusätzlich zum vorgeschlagenen Reaktionsansatz 1 µl *Fragmentation Buffer* zugegeben. Im nächsten Schritt wurden die DNA-Fragmente mithilfe der WGA Taq Polymerase amplifiziert, hierbei wurde die vorgeschlagene Zyklenzahl von 14 auf 20 erhöht. Der Erfolg der Amplifikation und die Größe der Fragmente (idealerweise zwischen 200 und 1000 bp) wurde im 1,5 %igen Agarosegel überprüft. Hinterher wurden die PCR-Produkte mithilfe des *QIAquick PCR Purification Kits* (Qiagen) aufgereinigt. Es wurde nach den Angaben des Herstellers vorgegangen und mit 35 µl H₂O (*HPLC grade*) eluiert.

2.2.6.5 Weitere Probenprozessierung durch Source BioScience imaGenes GmbH

Die weitere Probenprozessierung bis zur Hybridisierung des Mikroarrays und der Datenaufbereitung wurde von der Firma Source BioScience imaGenes GmbH, Berlin durchgeführt. Nach einer Eingangsqualitätskontrolle wurde die DNA an Fluoreszenzfarbstoffe gekoppelt, die Inputkontrolle wurde mit Cy3, die DNA des Immunpräzipitats mit Cy5 markiert. Die DNA eines Immunpräzipitats wurde zusammen mit der korrespondierenden Inputkontrolle (DNA des gleichen Chromatinextrakts, die keiner Immunpräzipitation unterzogen worden war) auf einem Mikroarray hybridisiert. Hierbei handelt es sich um einen *Drosophila melanogaster* *ChIP 2.1M WG-Tiling Array* (Roche), auf dem 2,1 Mio. verschiedene Oligonukleotide des gesamten *Drosophila*-Genoms aufgetragen sind. Zur Aufbereitung der Daten wurden zunächst aus den Signalintensitäten *log ratios* ermittelt und normalisiert. Des Weiteren wurden mithilfe der *log ratio peak*-Daten ermittelt. Liegt die *log ratio* von mind. 4 Oligonukleotiden, die innerhalb eines Fensters von 500 bp im *Drosophila*-Genom liegen, über dem jeweils spezifischen *cut-off*-Wert,

wird in dieser Region ein *peak* verzeichnet. Jeder *peak* wird mit einer *false discovery rate* (FDR) versehen, hierbei gilt: je niedriger die FDR, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit, dass es sich bei einem *peak* um eine echte (und keine falsch positive) Bindungsstelle des Proteins handelt.

2.2.6.6 Auswertung der ChIP-Chip Daten

Die Source BioScience imaGenes GmbH übergab die *peak*-Daten für jedes biologische Replikat in einzelnen Excel-Tabellen mit Informationen zu Start- und Endposition des *peaks*, der FDR des *peaks*, Distanz zu ggf. annotierten Transkripten, Start- und Endposition sowie Leserichtung der annotierten Transkripte. Zunächst wurden die Datensätze auf relevante Daten gefiltert. Einschlusskriterien waren:

- dem *peak* werden ein oder mehrere Transkripte zugeordnet
- die Startposition des *peaks* liegt (in Leserichtung) hinter dem Transkriptionsstart des jeweiligen Transkripts und die Mitte des *peaks* liegt in den ersten 1000 bp des Transkripts.

Nun wurden Transkripte, die in allen biologischen Replikaten nach der Immunpräzipitation angereichert waren, zwischen den CM- und den DR-Proben nach Geschlechtern getrennt verglichen. Für Männchen wurden je 2, für Weibchen je 3 biologische Replikate ausgewertet. Anschließend wurden die Transkripte, die nur in CM oder nur in DR-Proben angereichert waren, mithilfe von DAVID wie in 1.2.4.7 beschrieben auf GO-Kategorien untersucht.

2.2.7 Statistik

Die statistische Auswertung aller Daten bis auf die Ergebnisse der Microarray- und der ChIP-Chip-Experimente erfolgte mit Graph Pad Prism 6.00. Hier wurden die Ergebnisse der Lebensdauerexperimente mithilfe des Log-Rang-Tests und alle weiteren Daten mit dem Mann-Whitney-Test ausgewertet. $p < 0,05$ wurde als statistisch signifikant angesehen. Für die statistische Auswertung der Mikroarray- bzw. ChIP-Chip-Experimente s. 2.2.4.7 bzw. 2.2.6.6.

3 Ergebnisse

Der Einfluss von *Sir2* und *foxo* auf die Lebensspanne

Nachweis der induzierbaren Expression im Fettkörper

Die Treiberlinie S_1106 exprimiert *geneswitch-gal4* im abdominalen Fettkörper nach Gabe von 200 – 400 μ M RU486 (Roman et al., 2001). Um zu überprüfen, ob und wie stark die Expression der Zielgene zum Zeitpunkt der Versuche im gewählten Versuchsaufbau erhöht ist, wurde die Treiberaktivität zunächst mithilfe einer *lacZ*-Reporterlinie analysiert und somit indirekt auf die Treiberaktivität geschlossen. Verpaarte $S_1106/lacZ$ -Fliegen wurden 24 h oder 7 Tage mit RU486- bzw. Ethanol-haltigem Medium gefüttert und anschließend wurde die β -Galactosidase-Aktivität bestimmt.

Die β -Galactosidase-Aktivität wurde durch Gabe von RU486 in Tieren beiderlei Geschlechts sowohl nach 24 h als auch nach 7 Tagen signifikant erhöht. In Weibchen (Abb. 3.1A) wurde eine Aktivitätssteigerung um den Faktor 1,7 nach 24 h und um Faktor 2 nach 7 Tagen induziert. In Männchen (Abb. 3.1B) betrug die Steigerung 1,6fach nach 24 h und 3,2fach nach 7 Tagen. Der Effekt ist in den 4 Gruppen signifikant höher als in der Kontrolle und unterliegt kaum Schwankungen.

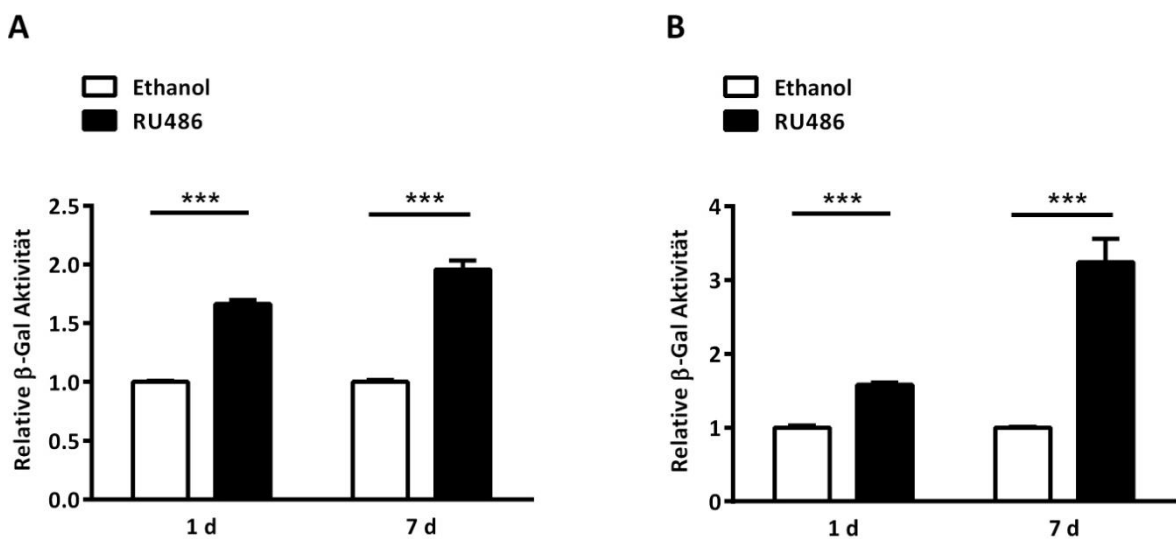


Abb. 3.1: Relative β -Galactosidase Aktivität in $S_1106/lacZ$ -Fliegen. A) Weibchen, B) Männchen. Dargestellt ist jeweils der Mittelwert + SEM aus 5 biologischen Replikaten. Zur Signifikanzanalyse diente der Mann-Whitney-Test. ***, $p < 0,001$.

Mithilfe des Treibertests wurde das Funktionieren der Treiberlinie im gewählten Versuchsaufbau als Voraussetzung für die folgenden Versuche bestätigt. Hierbei ist hervorzuheben, dass die Steigerung der Enzymaktivität relativ moderat ist. Außerdem wurde mithilfe der quantitativen real-time PCR die Stärke der *Sir2*-Überexpression in $S_{1106}/Sir2$ -Fliegen nach Gabe von RU486 bestimmt (Abb. 3.2). Die *Sir2*-Expression wird durch die 24-stündige Behandlung mit RU486 in Weibchen und Männchen ca. 3fach gesteigert.

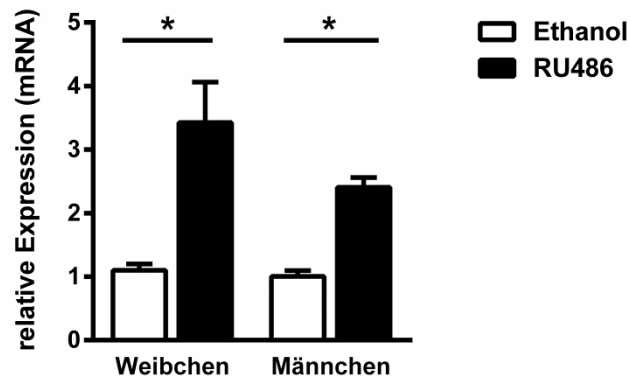


Abb. 3.2: *Sir2*-mRNA-Expression im Abdomen von $S_{1106}/Sir2$ -Fliegen nach 24 h Gabe von RU486. Dargestellt ist jeweils der Mittelwert + SEM aus 4 biologischen Replikaten. Zur Signifikanzanalyse diente der Mann-Whitney-Test. *, $p < 0,05$.

Die mit diesem System erzielte Steigerung der Genexpression ist wie die Steigerung der β -Galactosidase-Aktivität nur moderat und somit vermutlich mit den durch natürliche Stimuli hervorgerufenen Expressionsänderungen vergleichbar.

3.1.1 Charakterisierung der Funktionen von *Sir2* im Fettkörper

3.1.1.1 *Sir2*-Überexpression verlängert das Leben von *Drosophila*

Die Frage, ob die verstärkte Expression von *Sir2* die Lebensdauer von Modellorganismen verlängern kann, wurde in den letzten Jahren kontrovers diskutiert. Burnett *et al.* konnten den zuvor mehrfach beschriebenen positiven Effekt von *Sir2* auf die Lebensspanne von *C. elegans* und *Drosophila* nicht bestätigen, nachdem sie die betreffenden Stämme mit Wildtyplinien rückgekreuzt hatten, um den genetischen Hintergrund von Kontroll- und *Sir2*-überexprimierenden Tieren anzugleichen (Burnett *et al.*, 2011). In dieser Arbeit wurde das GeneSwitch System zur *Sir2*-Überexpression im Fettkörper verwendet, wo Kontroll- und Versuchstiere aus derselben Population stammen, um den genetischen Hintergrund als Störfaktor für Lebensdauerexperimente auszuschließen.

$S_1106/Sir2$ -Fliegen wurden nach dem Schlüpfen 2 Tage auf Normalmedium verpaart und anschließend nach Geschlecht getrennt mit RU486- bzw. Ethanol-haltigem Medium gefüttert und ihre Lebensdauer bestimmt. Wie in Abb. 3.3 zu sehen, sind die Überlebenskurven von Weibchen (A) und Männchen (C), die *Sir2* überexprimieren, deutlich nach rechts verschoben. Die Mediane der Lebensdauer von Weibchen bzw. Männchen wurden durch *Sir2* um 12 % bzw. 13 % erhöht und die Log-Rang-Analyse ergab statistisch signifikante Unterschiede zwischen Kontroll- und *Sir2*-überexprimierenden Tieren beider Geschlechter (Tab. 3.1).

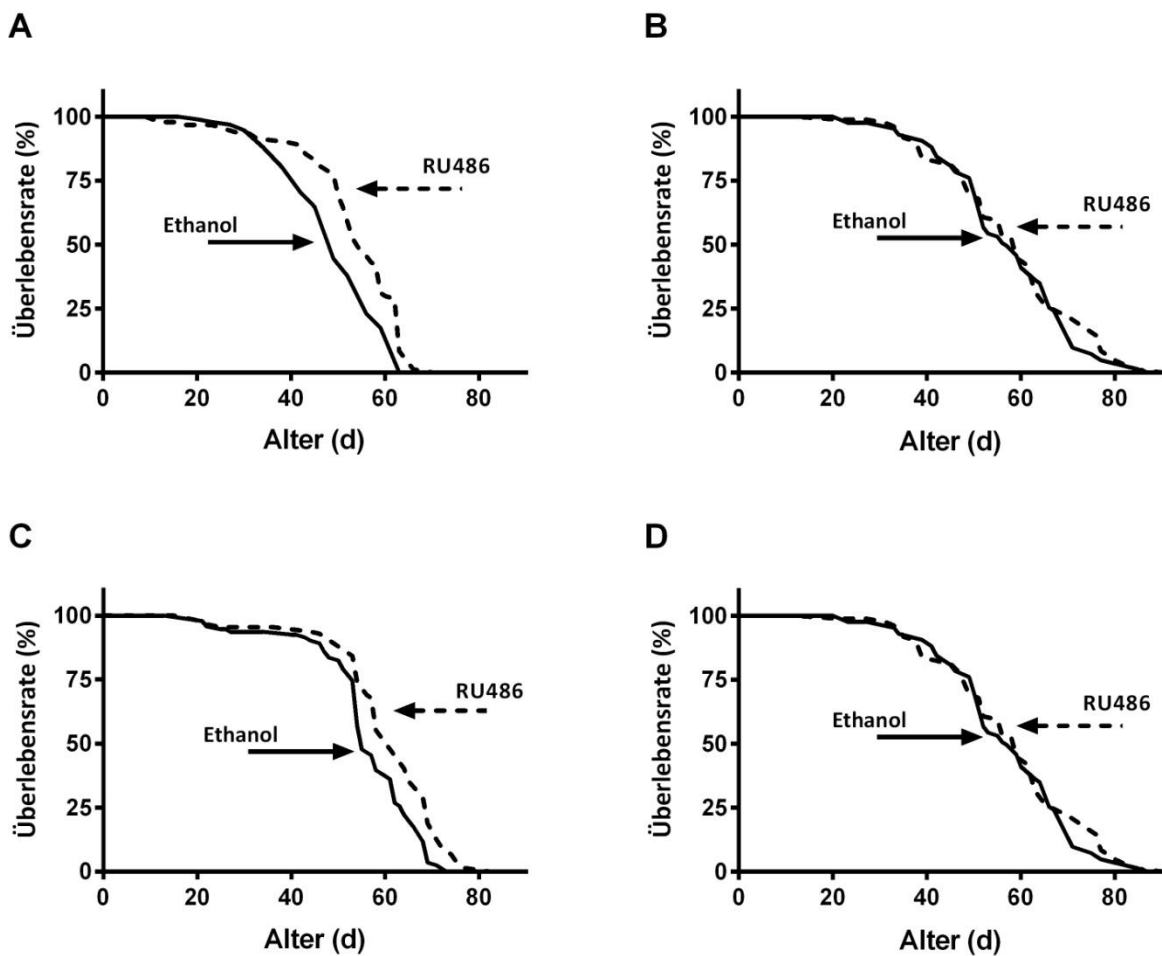


Abb. 3.3: Kaplan-Meier-Kurven von Fliegen, die mit RU486 oder Ethanol-haltigem Medium gefüttert wurden. Dargestellt sind weibliche $S_1106/Sir2$ -Fliegen (A) und $S_1106/+$ -Fliegen (B) und männliche $S_1106/Sir2$ -Fliegen (C) und $S_1106/+$ -Fliegen (D). Das Medium wurde alle 2-3 Tage gewechselt und die toten Fliegen gezählt. $n = 100$ für alle Versuchsgruppen. Details der Log-Rang-Analyse s. Tab. 3.1.

Da auch die Möglichkeit ausgeschlossen werden sollte, dass RU486 einen Effekt auf die Lebensspanne hat, wurde die Treiberlinie mit dem isogenen Stamm w^{1118} gekreuzt und deren F1 Generation der gleichen Behandlung wie die Versuchstiere unterzogen. In Weibchen (Abb. 3.3B) und Männchen (Abb. 3.3D) konnte kein Effekt von RU486 auf die mittlere und maximale Lebensdauer nachgewiesen werden (vgl. auch Tab. 3.1).

Tab. 3.1: *Ergebnisse des Log-Rang-Tests für die Überlebenskurven von Sir2-überexprimierenden Fliegen.*

Genotyp	Geschlecht	RU486	Median der Lebensdauer (d)	Änderung der mittleren Lebensdauer (% der Kontrolle)	Maximale Lebensdauer (d)	p-Wert
UAS-Sir2/S ₁ 106-P{Switch}-Gal4	w	-	49		63	
UAS-Sir2/S ₁ 106-P{Switch}-Gal4	w	+	55	+ 12,3	67	0,003
UAS-Sir2/S ₁ 106-P{Switch}-Gal4	m	-	55		71	
UAS-Sir2/S ₁ 106-P{Switch}-Gal4	m	+	62	+ 12,7	77	0,0003
w ¹¹¹⁸ /S ₁ 106-P{Switch}-Gal4	w	-	45		70	
w ¹¹¹⁸ /S ₁ 106-P{Switch}-Gal4	w	+	48	+ 6,7	73	ns
w ¹¹¹⁸ /S ₁ 106-P{Switch}-Gal4	m	-	57		79	
w ¹¹¹⁸ /S ₁ 106-P{Switch}-Gal4	m	+	59	+ 3,4	84	ns

Die maximale Lebensdauer entspricht dem Median der Lebensdauer der langlebigsten 10 %. Der Log-Rang-Test wurde mithilfe von GraphPad Prism 6.00 durchgeführt. n für alle dargestellten Experimente mind. 91. ns, nicht signifikant; w, weiblich; m, männlich.

3.1.1.2 *Sir2*-Überexpression erhöht die Hungerresistenz von männlichen Fliegen

Der Fettkörper ist als Hauptspeicherorgan der Fliegen für die Anpassung des Stoffwechsels an wechselndes Nahrungsangebot verantwortlich (Schlegel & Stainier, 2007). Da die Enzymaktivität von SIR2 als NAD⁺-abhängige Histondeacetylase durch den zellulären Energiehaushalt reguliert wird, ist es naheliegend, anzunehmen, dass SIR2 an der Reaktion des Fettkörpers auf unterschiedliche Nahrungsbedingungen beteiligt ist (Imai et al., 2000). Deshalb sollte überprüft werden, ob die milde Überexpression von *Sir2* im Fettkörper den Fliegen einen Überlebensvorteil unter Hungerbedingungen verschafft. Verpaarte Fliegen wurden mit 1 % Agar, der mit RU486 oder Ethanol versetzt war, gefüttert und ihre Lebensdauer bestimmt. Bei den Weibchen (Abb. 3.4A) wurde kein Unterschied zwischen den Überlebenskurven von *Sir2*-überexprimierenden und Kontrolltieren festgestellt. Allerdings war die mittlere Lebensdauer von männlichen Fliegen, die *Sir2* überexprimieren, mit 7,8 Tagen gegenüber der von Kontrollfliegen mit 6,9 Tagen um 13 % statistisch signifikant erhöht (Abb. 3.4B; Tab. 3.2). Weiterhin fällt auf, dass sich die mittlere Lebensdauer beider Geschlechter unter Hungerbedingungen stark unterscheidet. Die weiblichen Kontrolltiere weisen mit 9 Tagen eine gut 2 Tage höhere mittlere Lebensdauer auf als die Männchen.

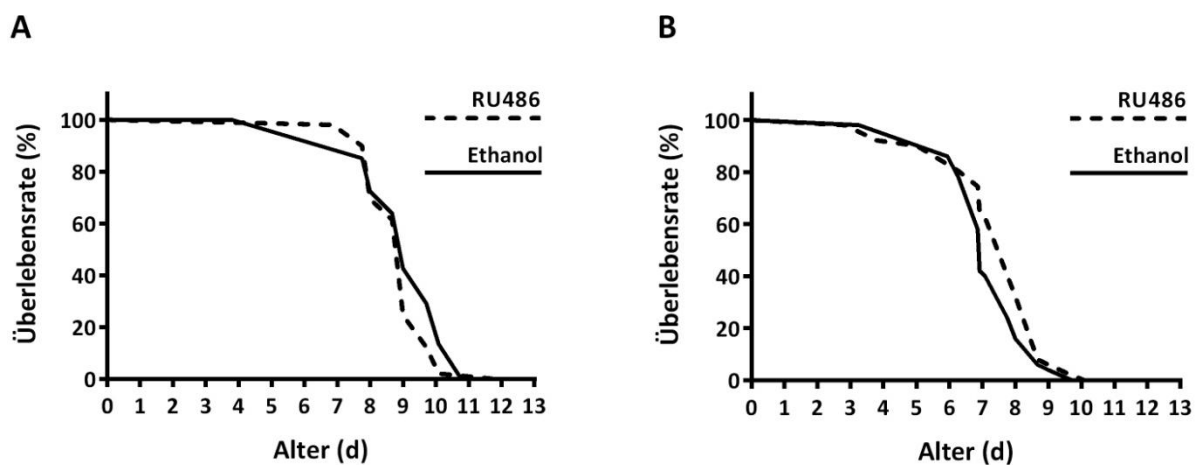


Abb. 3.4: Kaplan-Meier-Kurven von *S₁₁₀₆/Sir2*-Fliegen unter Hungerbedingungen. Weibchen (A) und Männchen (B) wurden mit RU486- oder Ethanol-haltigem 1% Agar gefüttert. Die toten Fliegen wurden mind. einmal täglich gezählt. $n=50$ für alle Versuchsgruppen. Ergebnisse der Log-Rang-Analyse s. Tab. 3.2.

Tab. 3.2: Ergebnisse des Log-Rang-Tests für das Überleben von *Sir2*-überexprimierenden Fliegen unter Hungerbedingungen

Genotyp	Geschlecht	RU486	Median der Lebensdauer (d)	Änderung der mittleren Lebensdauer (% der Kontrolle)	Maximale Lebensdauer (d)	p-Wert
UAS- <i>Sir2</i> /S ₁ 106-P{Switch}-Gal4	w	-	9,0		10,1	
UAS- <i>Sir2</i> /S ₁ 106-P{Switch}-Gal4	w	+	9,0	0	11,0	ns
UAS- <i>Sir2</i> /S ₁ 106-P{Switch}-Gal4	m	-	6,9		9,3	
UAS- <i>Sir2</i> /S ₁ 106-P{Switch}-Gal4	m	+	7,8	+ 13,0	9,3	0,0476

Die maximale Lebensdauer entspricht dem Median der Lebensdauer der langlebigsten 10 %. Der Log-Rang-Test wurde mithilfe von GraphPad Prism 6.00 durchgeführt. Dargestellt ist ein Experiment mit $n = 50$ für alle Gruppen. ns, nicht signifikant; w, weiblich; m, männlich.

3.1.1.3 Einfluss der *Sir2*-Überexpression auf die Fettspeicherung

Mit Hilfe von *Sir2*-defizienten Fliegen wurde gezeigt, dass *Sir2* an der Steuerung der Fettspeicherung beteiligt ist (Reis et al., 2010). Im folgenden Versuch sollte überprüft werden, ob die weniger tiefgreifende Intervention der vergleichsweise schwachen gewebespezifischen Überexpression von *Sir2* auch zu Veränderungen in der Fettspeicherung führt. Verpaarte S₁106/*Sir2*-Fliegen wurden für 7 Tage auf Medium mit RU486 oder Ethanol gehalten und anschließend ihr relativer Fettgehalt bezogen auf das Körpergewicht bestimmt. Die Fettbestimmung erfolgte nach dem Protokoll von Hildebrandt *et al.* (Hildebrandt et al., 2011) mithilfe des *Triglycerides Kits* (Thermo Fisher Scientific, Dreieich). Die Fettkörper-spezifische Überexpression von *Sir2* beeinflusste weder in Weibchen noch in Männchen die Fettspeicherung (Abb. 3.5A) und das Körpergewicht (Abb. 3.5B). Des Weiteren wurde die Morphologie des Fettgewebes unter dem Einfluss der *Sir2*-Überexpression mit einem besonderen Augenmerk auf der Größe der Lipidtröpfchen untersucht. Wie in Abb. 3.5 gezeigt, weist das Fettgewebe von L3 Larven (D, G), adulten Weibchen (E, H) und Männchen (F, I) große Unterschiede in Zellgröße und Füllstand der Fettspeicher auf. Allerdings wurde beim Vergleich der Gewebeproben von Kontroll- (D-I, obere Reihe) und mit RU486 behandelten Tieren (D-I, untere Reihe) kein Unterschied in der Morphologie festgestellt. Um das Ergebnis zu quantifizieren, wurde der Durchmesser der Lipidtröpfchen in den larvalen Gewebeproben mithilfe AxioVision 4.1 quantifiziert. Wie in Abb. 3.5C dargestellt, unterscheiden sich die Gewebeproben von *Sir2*-überexprimierenden Larven in Bezug auf die Größe der Lipidtröpfchen nicht von denen der Kontrolltiere.

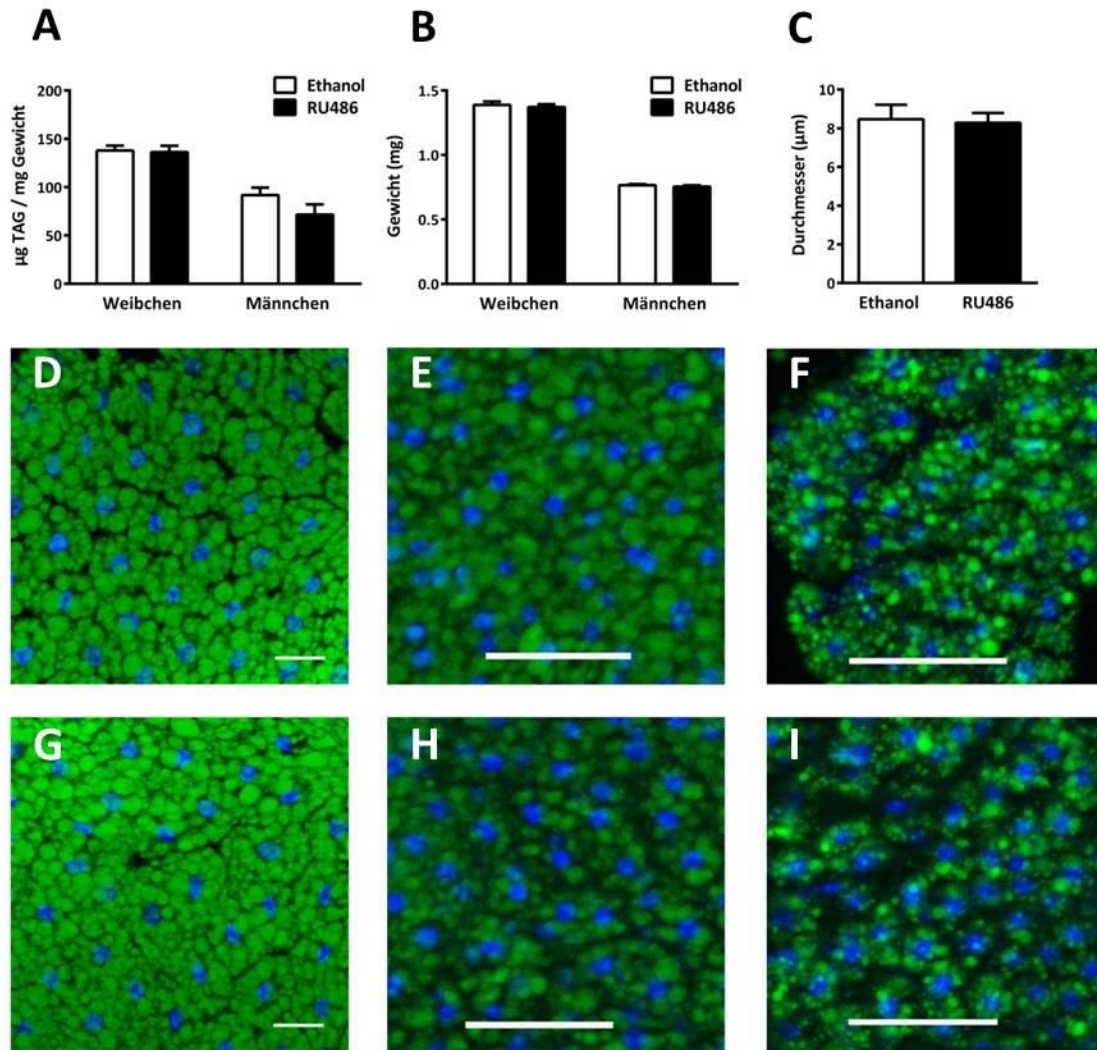


Abb. 3.5: Sir2 hat keinen Einfluss auf die Fettspeicherung. Verpaarte $S_1106/Sir2$ -Fliegen wurden 7 d mit RU486- oder Ethanol-haltigem Medium gefüttert und anschließend ihr relativer Fettgehalt (A) und das Körpergewicht (B) bestimmt. Nach Bodipy-Färbung des Fettgewebes von $S_1106/Sir2$ -L3 Larven, wurde der Durchmesser der Lipidtröpfchen bestimmt (C). D-I zeigt mit Bodipy gefärbtes Fettgewebe von L3 Larven (D, G), adulten Weibchen (E, H) und adulten Männchen (F, I), die mit Ethanol (obere Reihe) oder RU486 (untere Reihe) gefüttert wurden. A-C, Dargestellt sind Mittelwerte + SEM von 5 biologischen Replikaten für A und B und 7 biologischen Replikaten für C. Der Maßstabsbalken entspricht 50 µm. TAG, Triacylglycerid.

3.1.1.4 Einfluss der *Sir2*-Überexpression auf das Transkriptom des Fettkörpers

Zusätzlich zu bereits publizierten Ergebnissen, die auf eine prominente Rolle von *Sir2* als Langlebigkeitsgen hinweisen, zeigen auch die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen, dass *Sir2* im Fettkörper maßgeblich an der Vermittlung der Langlebigkeit beteiligt ist. Bisher ist allerdings wenig darüber bekannt, über welche physiologischen Funktionen *Sir2* Einfluss auf Alterungsprozesse nimmt. Deshalb sollten mithilfe der Mikroarray-Technologie Gene, die nach der Überexpression von *Sir2* im Fettkörper differentiell reguliert werden, identifiziert werden, um so auf die beteiligten Prozesse schließen zu können. Verpaarte Weibchen und Männchen wurden im Alter von 6 - 7 Tagen 24 h mit oder ohne RU486 behandelt, anschließend wurde RNA aus dem Fettkörper von je 7 Tieren pro biologischem Replikat isoliert und für die Mikroarray-Analyse vorbereitet. Die initiale Datenauswertung (Normalisierung und Filtern nach hoch- oder abregulierten Genen) erfolgte mithilfe der Programme GenePix® und Acuity® (Axon Laboratories). Zunächst wurden die Gene, die in Männchen und Weibchen mehr als 1,5fach hoch bzw. abreguliert waren, verglichen, um geschlechtsspezifische Veränderungen im Transkriptom sichtbar zu machen. Abb. 3.6 zeigt in Form von skalierten Venn-Diagrammen inwieweit die differentiell regulierten Gene zwischen Männchen und Weibchen überlappen. Es fällt auf, dass nur 6,5 % der in Weibchen hochregulierten Gene auch in Männchen hochreguliert sind und nur 11 % der in Weibchen abregulierten Gene ebenfalls in Männchen abreguliert wurden. Die Überlappung der differentiell regulierten Gene in Männchen und Weibchen wurde mit dem exakten Test nach Fisher auf statistische Signifikanz getestet. Die Überschneidung zwischen den hochregulierten Genen beider Geschlechter ist nicht signifikant ($p = 0,123$), während sie zwischen den abregulierten Genen von Männchen und Weibchen als signifikant berechnet wird ($p < 0,0001$), was wahrscheinlich auf die geringe Gruppengröße der in den Männchen differentiell regulierten Gene zurückzuführen ist. Die durch die *Sir2*-Überexpression induzierten Transkriptprofile unterscheiden sich stark zwischen beiden Geschlechtern, was darauf schließen lässt, dass *Sir2* im Fettkörper von Männchen und Weibchen an unterschiedlichen Prozessen beteiligt zu sein scheint.

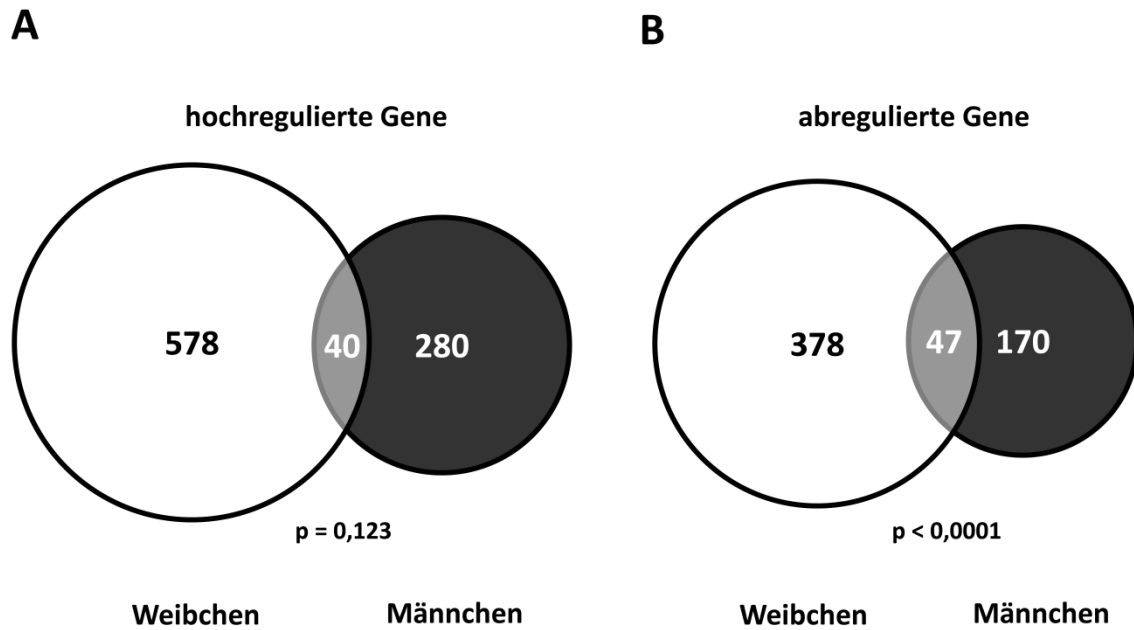


Abb. 3.6: Skalierte Venn-Diagramme der Gene, deren Expression durch *Sir2*-Überexpression im Fettkörper reguliert wurde. Dargestellt ist jeweils die Anzahl der Gene, die in der angegebenen Versuchsgruppe in 2 von 3 biologischen Replikaten mind. 1,5fach hoch bzw. abreguliert waren. Die Flächeninhalte der Kreise und ihrer Überlappungsbereiche spiegeln die Verhältnisse der Gruppengrößen zueinander wider. Die Venn-Diagramme wurden mithilfe von Wolfram Mathematica gezeichnet (Chandler & Weisstein, 2012).

Die gewonnenen Datensätze wurden nun mithilfe des freizugänglichen, internetbasierten Programms DAVID (Huang et al., 2009b) auf dominierende Gengruppen untersucht. Hierbei macht sich das Programm u. a. zunutze, dass jedes Gen anhand seiner bereits bekannten Funktionen durch das *Gene Ontology Consortium* (Ashburner et al., 2000) einer oder mehreren Gene-Ontologie-Kategorien (GO-Kategorien) zugeordnet wurde. Diese Kategorien orientieren sich beispielsweise an molekularen Funktionen, die die betreffenden Genprodukte haben, oder an biologischen Prozessen, an denen die Genprodukte beteiligt sind. Des Weiteren greift DAVID auch auf andere Datenbanken wie bspw. KEGG [Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, (Kanehisa & Goto, 2000)] zurück. In der hier dargestellten Analyse sind nur die biologischen Prozesse des *Gene Ontology Projects* sowie die durch KEGG definierten Signalwege berücksichtigt worden, die im untersuchten Datensatz statistisch signifikant häufiger auftreten als im *Drosophila*-Referenzgenom.

Tab. 3.3: GO-Kategorien, die in Weibchen, die *Sir2* im Fettkörper überexprimieren, gehäuft auftraten.

GO/KEGG ID	GO-Kategorie/KEGG-Signalweg	p-Wert	Anzahl in- begriffener Gene
GO:0046395	Katabolismus von Carboxy-Säuren	0,0080	9
GO:0042254	Ribosom-Biogenese	0,0081	11
GO:0007186	G-Protein-gekoppelter Rezeptor Signalweg	0,0136	32
GO:0007166	Oberflächenrezeptor vermittelte Signaltransduktion	0,0139	56
GO:0050906	Detektion von Sinnesreizen	0,0149	9
GO:0034660	ncRNA Metabolismus	0,0266	16
KEGG dme04310	Wnt Signalweg	0,0312	12
GO:0006418	tRNA-Aminoacylierung für die Proteintranslation	0,0316	8
GO:0006457	Proteinfaltung	0,0368	14
GO:0046958	Nicht-assoziatives Lernen	0,0374	3
GO:0009062	Fettsäure-Katabolismus	0,0393	4
GO:0022613	Biogenese von Ribonucleoproteinkomplexen	0,0422	12
GO:0030029	Actinfilament-basierter Prozess	0,0488	16

In die Analyse wurden Gene, die in mind. 2 von 3 Arrays mind. 1,5-fach hoch- oder abreguliert waren einbezogen. Dargestellt sind alle GO-Kategorien bzw. KEGG-Signalwege, die in diesem Datensatz statistisch signifikant ($p < 0,05$) gehäuft auftraten.

Im Fettkörper von Weibchen, die *Sir2* überexprimieren, sind 13 funktionelle Kategorien überrepräsentiert (Tab. 3.3). Die biologischen Prozesse sind recht unterschiedlich und reichen von Ribosom-Biogenese über Rezeptor-vermittelte Signaltransduktion bis zum Fettsäure-Abbau. Zwei der überrepräsentierten Gengruppen sollen hier im Detail dargestellt werden. Abb. 3.7A zeigt das Expressionsniveau aller Gene, die der Ribosom-Biogenese zugeordnet werden. Dieser biologische Prozess wurde ausgewählt, da er auch im Transkriptom von Weibchen, die *foxo* überexprimieren, gehäuft auftrat (vgl. Abb. 3.12B).

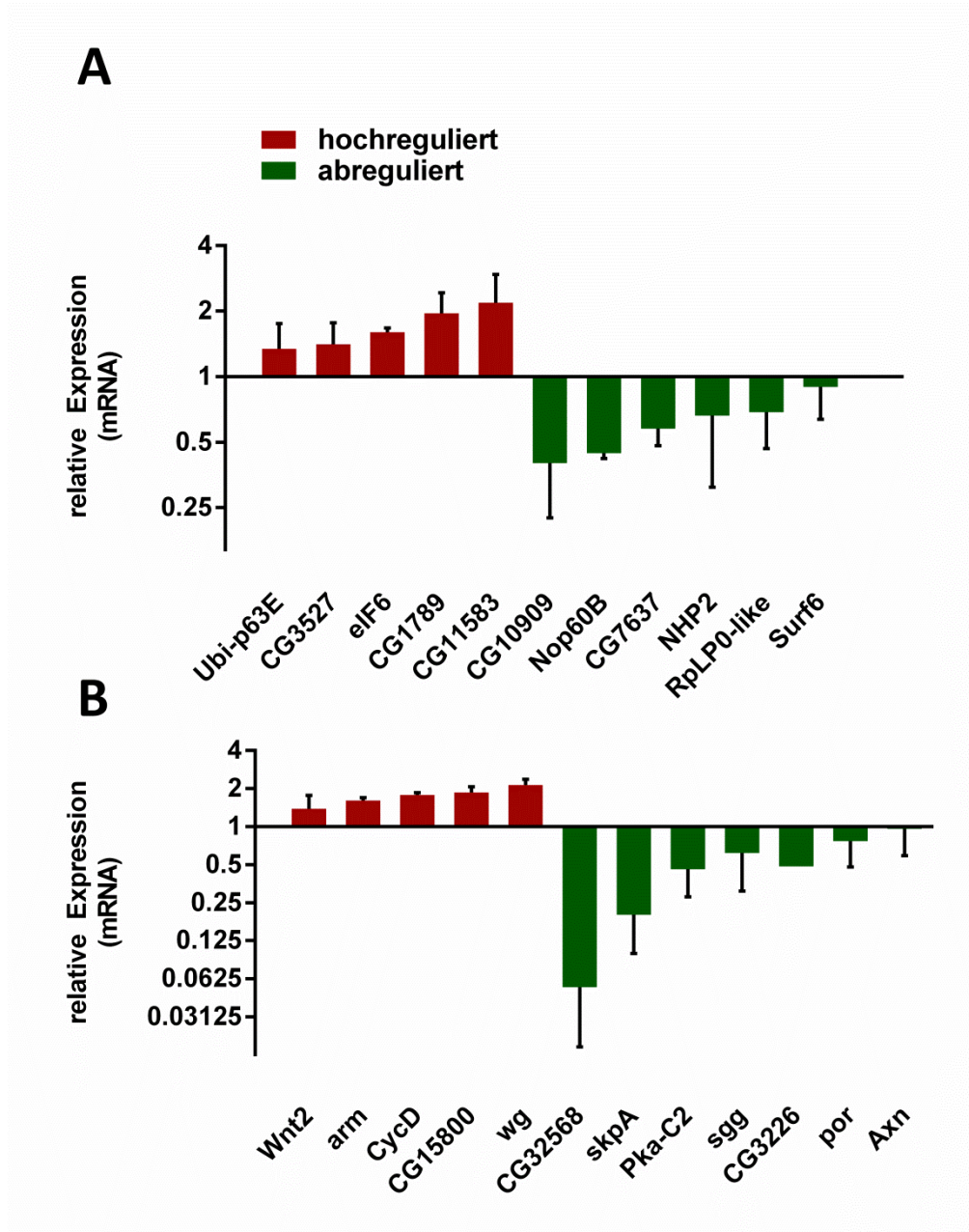


Abb. 3.7: Relatives Expressionsniveau von Genen, die den in Weibchen gehäuft auftretenden GO-Kategorien zugeordnet werden. A: Komponenten der Ribosombiogenese. B Komponenten des Wnt-Signalweges. Dargestellt sind die Mittelwerte der Ratio of Medians aus 3 biologischen Replikaten + SEM. Die Genbezeichnungen in den Diagrammen entsprechen den offiziellen Flybase Gensymbolen (FB2013_01, 23.1.2013, www.flybase.org).

Des Weiteren wurden die Gene des Datensatzes, deren Genprodukte Komponenten des Wnt-Signalweges sind, in Abb. 3.7B detailliert dargestellt. Auffällig ist, dass Komponenten, die die Aktivität des kanonischen Wnt-Signalweges positiv regulieren wie *Wnt2*, *wg* und *arm* bzw. deren Genaktivität vom Signalweg positiv reguliert wird, wie *CycD*, nach *Sir2*-Überexpression hochreguliert sind. Andererseits sind Komponenten, die dessen Aktivität negativ regulieren,

abreguliert (*sgg*, *por*, *Axn*, CG32568). Dies lässt darauf schließen, dass die *Sir2*-Überexpression im Fettkörper von Weibchen die Aktivität des Wnt-Signalweges erhöht.

Das Transkriptom der männlichen Fliegen mit *Sir2*-Überexpression weist nur 6 überrepräsentierte Gengruppen auf, die wenig Aussagen über die Funktion von *Sir2* im männlichen Fettkörper zulassen, da die überrepräsentierten Kategorien größtenteils sehr weit gefasst sind (Tab. 3.4). In Abb. 3.8 ist das Expressionsniveau der Gene, deren Genprodukte an der cAMP-Biosynthese beteiligt sind, dargestellt. Die drei Gene codieren alle für verschiedene Adenylatcyclasen und sind somit an der Signalweiterleitung von Oberflächenrezeptoren beteiligt.

Tab. 3.4: GO-Kategorien, die in Männchen, die *Sir2* im Fettkörper überexprimieren, gehäuft auftraten.

GO/KEGG ID	GO Kategorie/KEGG-Signalweg	p-Wert	Anzahl in-begriffener Gene
GO:0050877	Nervensystem-assoziiertes Prozess	0,0153	28
GO:0006171	cAMP-Biosynthese	0,0252	3
GO:0048732	Drüsenentwicklung	0,0362	11
GO:0042592	Homöostatischer Prozess	0,0362	11
GO:0007267	Zell-Zell-Kommunikation	0,0382	13
GO:0007268	Synaptische Signalweiterleitung	0,0400	12

In die Analyse wurden Gene, die in mind. 2 von 3 Arrays mind. 1,5-fach hoch- oder abreguliert waren einbezogen. Dargestellt sind alle GO-Kategorien bzw. KEGG-Signalwege, die in diesem Datensatz statistisch signifikant ($p < 0,05$) gehäuft auftraten.

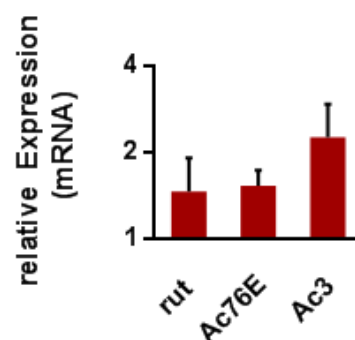


Abb. 3.8: Relatives Expressionsniveau von Genen, die der in Männchen gehäuft auftretenden GO-Kategorie cAMP-Biosynthese zugeordnet werden. Dargestellt sind die Mittelwerte der Ratio of Medians aus 3 biologischen Replikaten + SEM. Die Genbezeichnungen in den Diagrammen entsprechen den offiziellen Flybase Gensymbolen (FB2013_01, 23.1.2013, www.flybase.org).

3.1.2 Charakterisierung der Funktionen von *foxo* im Fettkörper

foxo codiert für einen evolutionär hoch konservierten Transkriptionsfaktor und ist wie *Sir2* ein vielversprechender Kandidat für ein Langlebigkeitsgen. Die Ergebnisse verschiedener Arbeitsgruppen zeigen den Einfluss von *foxo* auf die Lebensdauer von *Drosophila*, seines Orthologs *daf-16* auf die Lebensspanne von *C. elegans* oder von Polymorphismen des homologen Gens in Säugetieren, *Foxo3a*, auf die Lebenserwartung von Menschen (Lin et al., 1997; Hwangbo et al., 2004; Giannakou, Goss et al., 2004; Flachsbar et al., 2009). FOXO ist bekannt als Zielmolekül des Insulin- / IGF-Signalweges, der die Aktivität des Transkriptionsfaktors bei Vorhandensein von Nährstoffen hemmt. Bleibt die Ligandenbindung an den Rezeptor aus oder werden über andere Signalwege (bspw. JNK) Stress-Signale wahrgenommen, wird FOXO aktiviert und reguliert die Expression verschiedener Zielgene, die zum Überleben der Zelle unter Stressbedingungen beitragen. Es sollte untersucht werden, ob die Überexpression von *foxo* physiologische Funktionen des Fettkörpers beeinflusst und welche Änderungen die *foxo*-Überexpression im Transkriptom des Fettkörpers hervorruft.

3.1.2.1 Einfluss von *foxo* auf die Hungerresistenz

Da der Transkriptionsfaktor FOXO unter Stressbedingungen aktiviert wird, sollte überprüft werden, ob die moderate Überexpression von *foxo*, die durch das verwendete System ausgelöst wurde, dazu beiträgt, das Überleben unter Hungerbedingungen zu verbessern. Dafür wurden verpaarte *S₁106/foxo*-Fliegen mit 1 % Agar, der mit RU486 oder Ethanol versetzt war, gefüttert und ihre Lebensdauer bestimmt.

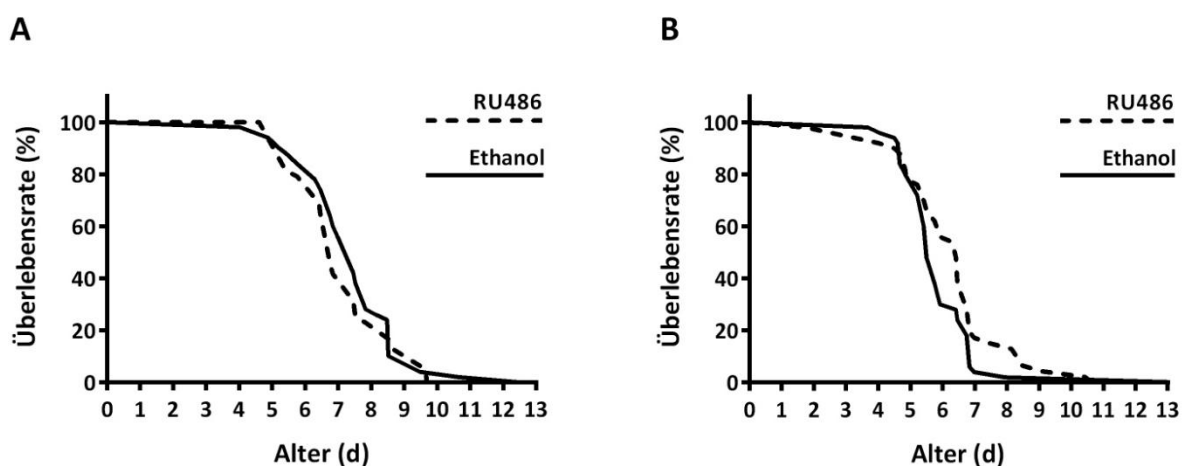


Abb. 3.9: Kaplan-Meier-Kurven von *S₁106/foxo*-Fliegen unter Hungerbedingungen. Weibchen (A) und Männchen (B) wurden mit RU486- oder Ethanol-haltigem 1% Agar gefüttert. Die toten Fliegen wurden mind. einmal täglich gezählt. $n = 50$ für alle Versuchsgruppen. Ergebnisse der Log-Rang-Analyse s. Tab. 3.5.

Abb. 3.9 zeigt, dass die *foxo*-Überexpression das Überleben der Weibchen (A) und Männchen (B) nicht signifikant verbessert hat. Allerdings ist bei den Männchen anhand der Überlebenskurven und der mittleren Lebensdauer, die in den *foxo*-überexprimierenden Fliegen um 16 % höher liegt als in den Kontrollfliegen (Tab. 3.5), eine Tendenz zur verbesserten Stressresistenz unter dem Einfluss von *foxo* zu erkennen.

Tab. 3.5: Ergebnisse des Log-Rang-Tests für das Überleben von *foxo*-überexprimierenden Fliegen unter Hungerbedingungen

Genotyp	Geschlecht	RU486	Median der Lebensdauer (d)	Änderung der mittleren Lebensdauer (% der Kontrolle)	Maximale Lebensdauer (d)	p-Wert
UAS- <i>foxo</i> /S ₁ 106-P{Switch}-Gal4	w	-	7,5	- 9,3	10,0	ns
UAS- <i>foxo</i> /S ₁ 106-P{Switch}-Gal4	w	+	6,8			
UAS- <i>foxo</i> /S ₁ 106-P{Switch}-Gal4	m	-	5,5	+ 16,4	10,2	ns
UAS- <i>foxo</i> /S ₁ 106-P{Switch}-Gal4	m	+	6,4			

Die maximale Lebensdauer entspricht dem Median der Lebensdauer der langlebigsten 10 %. Der Log-Rang-Test wurde mithilfe von GraphPad Prism 6.00 durchgeführt. Dargestellt ist ein Experiment mit $n = 50$ für alle Gruppen. ns, nicht signifikant; w, weiblich; m, männlich.

3.1.2.2 Einfluss von *foxo* auf die Fettspeicherung

Weiterhin sollte überprüft werden ob die *foxo*-Überexpression im Fettkörper die Fettspeicherung der Tiere verändert. Verpaarte *S₁106/foxo*-Fliegen wurden für 7 Tage auf Medium mit RU486 oder Ethanol gehalten und anschließend ihr relativer Fettgehalt bezogen auf das Körpergewicht bestimmt. Abb. 3.10 zeigt, dass die *foxo*-Überexpression keinen Einfluss auf die Fettspeicherung unter ausreichenden Ernährungsbedingungen nimmt und sich auch nicht auf das Körpergewicht der Fliegen auswirkt.

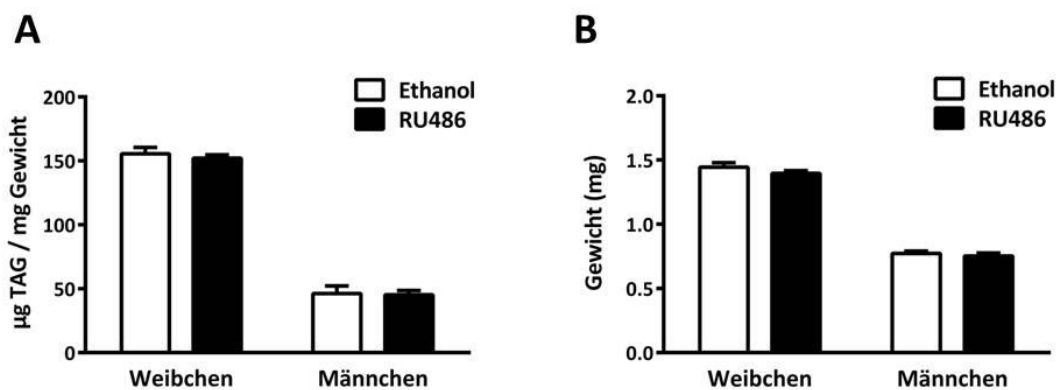


Abb. 3.10: *foxo* hat keinen Einfluss auf die Fettspeicherung. Verpaarte *S₁106/foxo*-Fliegen wurden 7 Tage mit RU486- oder Ethanol-haltigem Medium gefüttert und anschließend ihr relativer Fettgehalt (A) und das Körpergewicht (B) bestimmt. Dargestellt sind Mittelwerte + SEM von 5 biologischen Replikaten. TAG, Triacylglycerid.

3.1.2.3 Einfluss von *foxo* auf das Transkriptom des Fettkörpers

Da die Überexpression von *foxo* im Fettkörper die Lebenserwartung von Fruchtfliegen erhöht (Hwangbo et al., 2004; Giannakou, Goss et al., 2004; Giannakou et al., 2007) sollte untersucht werden, welche Zielgene in diesem Gewebe durch *foxo* differentiell reguliert werden. Analog zu den Experimenten zur *Sir2*-Überexpression wurden verpaarte *S₁106/foxo*-Fliegen im Alter von 6 - 7 Tagen für 24 h mit RU486 oder Ethanol-haltigem Medium gefüttert, bevor der Fettkörper von 7- 9 Fliegen / biologischem Replikat präpariert, deren RNA isoliert und die sich anschließenden Schritte für die Microarray-Analyse durchgeführt wurden. Abb. 3.11 zeigt die hoch- (A) und abregulierten Gene (B) in Weibchen und Männchen. Vergleicht man die Datensätze beider Geschlechter fällt zunächst auf, dass in Weibchen (810 hoch- und 490 abreguliert) wesentlich mehr Gene differentiell reguliert wurden als in Männchen (189 hoch- und 224 abreguliert).

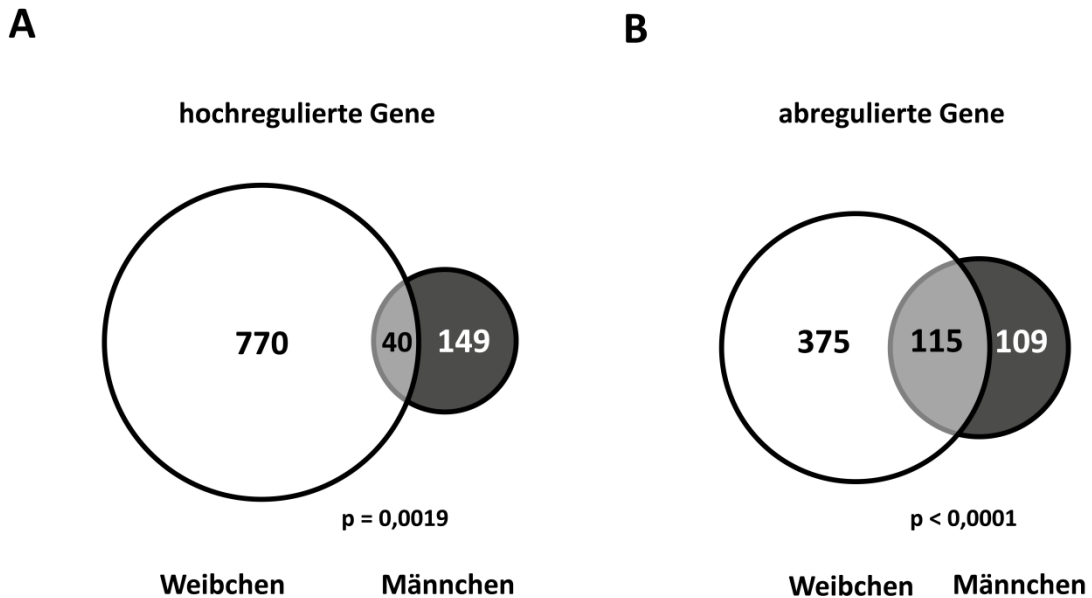


Abb. 3.11: Skalierte Venn-Diagramme der Gene, deren Expression durch foxo-Überexpression im Fettkörper reguliert wurde. Dargestellt ist jeweils die Anzahl der Gene, die in der angegebenen Versuchsgruppe in 2 von 3 biologischen Replikaten mind. 1,5fach hoch- bzw. abreguliert waren. Die Flächeninhalte der Kreise und ihrer Überlappungsbereiche spiegeln die Verhältnisse der Gruppengrößen zueinander wider. Die Venn-Diagramme wurden mithilfe von Wolfram Mathematica gezeichnet (Chandler et al., 2012).

Weiterhin zeigen sich deutliche qualitative Unterschiede in der Genexpression, so sind nur 40 der in Weibchen hochregulierten Gene auch in Männchen hochreguliert, was einem Anteil von 5 % entspricht. Auch bei den abregulierten Genen ist der Überlappungsbereich relativ gering. Es sind ca. 24 % der in Weibchen abregulierten Gene auch in Männchen abreguliert. Allerdings ist die Überlappung zwischen Männchen und Weibchen bei hoch- bzw. abregulierten Genen signifikant ($p = 0,0019$ bzw. $p < 0,0001$) was ähnlich wie bei *Sir2* auf die geringe Anzahl der in Männchen differentiell regulierten Gene zurückgeführt wird.

Mithilfe von DAVID wurden Gengruppen identifiziert (wie in 3.1.2.4 beschrieben), die in den Datensätzen von Weibchen oder Männchen gegenüber dem Referenzgenom überrepräsentiert sind. In Weibchen traten 16 GO-Kategorien gehäuft auf, die sehr verschiedene biologische Prozesse abdecken, wie bspw. Entwicklung, Zellatmung und Ribosomen-Biogenese (Tab. 3.6).

Tab. 3.6: Signifikant regulierte GO-Kategorien im Fettkörper von Weibchen, die *foxo* überexprimieren.

GO/KEGG ID	GO Kategorie/KEGG-Signalweg	p-Wert	Anzahl inbegriffener Gene
GO:0007219	Notch-Signalweg	0,0059	12
GO:0046664	Schließung der dorsalen Furche (Embryogenese)	0,0087	4
GO:0045333	Zellatmung	0,0096	17
GO:0007017	Mikrotubuli-basierter Prozess	0,0168	46
GO:0006730	Monocarbon-Metabolismus	0,0178	13
GO:0022613	Biogenese von Ribonucleoprotein-Komplexen	0,0179	15
GO:0006796	Phosphat-Metabolismus	0,0196	59
KEGG dme00983	Metabolismus von Xenobiotika	0,0243	12
GO:0007010	Organisation des Cytoskeletts	0,0299	50
GO:0055114	Oxidation / Reduktion	0,0300	64
GO:0042254	Ribosom-Biogenese	0,0310	11
GO:0009309	Amin-Biosynthese	0,0325	9
GO:0009611	Wundheilung	0,0334	6
GO:0034621	Organisation der Untereinheit eines makromolekularen Komplexes	0,0365	25
GO:0051186	Cofaktor-Metabolismus	0,0448	15
GO:0042398	Biosynthese von Aminosäure-Derivaten	0,0462	6
GO:0007243	Proteinkinase-Kaskade	0,0496	10

In die Analyse wurden Gene, die in mind. 2 von 3 Arrays mind. 1,5-fach hoch- oder abreguliert waren einbezogen. Dargestellt sind alle GO-Kategorien bzw. KEGG-Signalwege, die in diesem Datensatz statistisch signifikant ($p < 0,05$) gehäuft auftraten.

Abb. 3.12A zeigt die Expressionsniveaus der Gene, die in Weibchen mit *foxo*-Überexpression differentiell reguliert waren und dem Notch-Signalweg zugeordnet werden. Die Genprodukte der meisten hier dargestellten Gene interagieren mit dem Notch-Signalweg, sind aber nicht direkt an der Signalweiterleitung beteiligt. Interessant ist, dass Gene, die für Komponenten des Signalweges codieren wie *pen-2* und *aph-1*, deren Genprodukte Bestandteile des γ -Secretase-Komplexes sind, oder *Ser*, ein Antagonist des Notch-Rezeptors, in der Weise reguliert werden, dass die gesamte Aktivität des Signalweges erhöht wird. Außerdem ist *sgg* (*shaggy*), das orthologe Gen der humanen Glucose-Synthase-kinase-3 β , wie auch in Weibchen mit *Sir2*-Überexpression abreguliert (vgl. Abb. 3.7B).

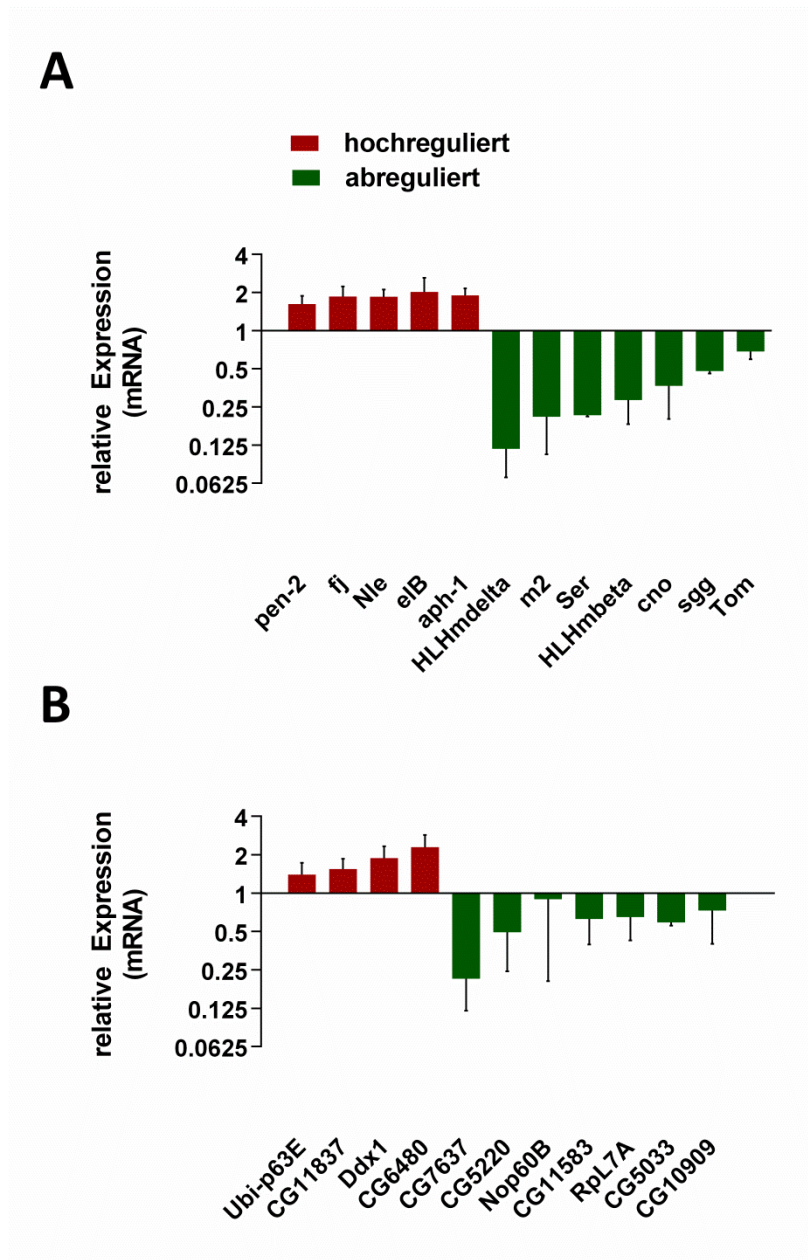


Abb. 3.12: Relatives Expressionsniveau von Genen, die den in Weibchen gehäuft auftretenden GO-Kategorien zugeordnet werden. A: Komponenten des Notch-Signalweges. B Komponenten der Ribosom-Biogenese. Dargestellt sind die Mittelwerte der Ratio of Medians aus 3 biologischen Replikaten + SEM. Die Genbezeichnungen in den Diagrammen entsprechen den offiziellen Flybase Gensymbolen (FB2013_01, 23.1.2013, www.flybase.org).

In Abb. 3.12B wird das Expressionsniveau der Gene, deren Produkte mit der Ribosom-Biogenese assoziiert sind, dargestellt. Die GO-Kategorie Ribosom-Biogenese ist auch in dem Datensatz der differentiell regulierten Gene nach *Sir2*-Überexpression überrepräsentiert. *Ubi-p63* ist in beiden Datensätzen hochreguliert, während *CG7637*, *Nop60B* und *CG10909* in beiden abreguliert sind.

In Männchen mit *foxo*-Überexpression sind 14 Gengruppen überrepräsentiert (Tab. 3.7). Unter diesen GO-Kategorien sind 4, die mit dem Hormonstoffwechsel assoziiert sind, weshalb das Expressionsniveau der Gene, die der größten Gruppe (GO:0042445 „Hormonmetabolismus“) zugeordnet werden, in Abb. 3.13A dargestellt ist. Außerdem macht die Regulation der Transkription einen großen Anteil der GO-Kategorien aus (Abb. 3.13B).

Tab. 3.7: *Signifikant regulierte GO-Kategorien im Fettkörper von Männchen, die foxo überexprimieren.*

GO/KEGG ID	GO Kategorie/KEGG-Signalweg	p-Wert	Anzahl in-begriffener Gene
GO:0042445	Hormonmetabolismus	0,0001	7
GO:0009636	Antwort auf Toxin	0,0025	5
KEGG dme00270	Cystein- und Methioninmetabolismus	0,0136	4
GO:0050877	Nervensystem-assoziiertes Prozess	0,0137	23
GO:0006697	Ecdysonbiosynthese	0,0151	3
GO:0000122	Negative Regulation der Transkription vom RNA-Polymerase II Promoter	0,0163	6
GO:0006357	Regulation der Transkription vom RNA-Polymerase II Promoter	0,0192	11
KEGG dme00981	Hormonbiosynthese in Insekten	0,0209	3
GO:0045456	Ecdysteroid-biosynthetischer Prozess	0,0235	3
GO:0050890	Kognition	0,0242	16
GO:0019748	Sekundärer metabolischer Prozess	0,0310	6
GO:0045944	Positive Regulation der Transkription vom RNA-Polymerase II Promoter	0,0333	5
GO:0009066	Metabolischer Prozess von Aminosäuren der Aspartatfamilie	0,0388	3
GO:0007606	Sensorische Perzeption eines chemischen Stimulus	0,0481	10

In die Analyse wurden Gene, die in mind. 2 von 3 Arrays mind. 1,5-fach hoch- oder abreguliert waren einbezogen. Dargestellt sind alle GO-Kategorien bzw. KEGG-Signalwege, die in diesem Datensatz statistisch signifikant ($p < 0,05$) gehäuft auftraten.

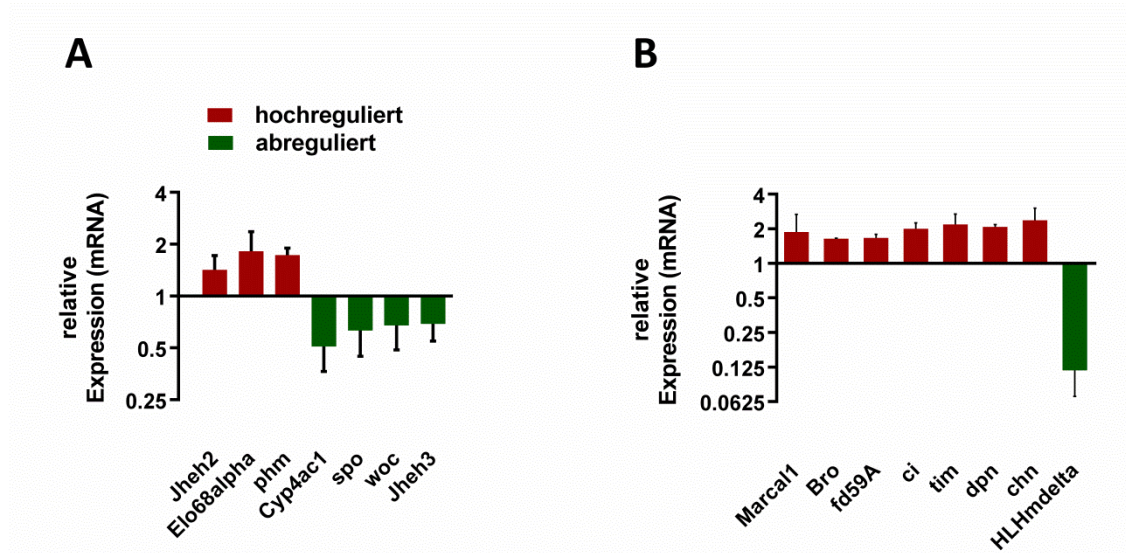


Abb. 3.13: Relatives Expressionsniveau von Genen, die den in Männchen gehäuft auftretenden GO-Kategorien zugeordnet werden. A: Komponenten der Hormonbiosynthese. B: Gene, deren Produkte an der Regulation der Transkription beteiligt sind. Dargestellt sind die Mittelwerte der Ratio of Medians aus 3 biologischen Replikaten + SEM. Die Genbezeichnungen in den Diagrammen entsprechen den offiziellen Flybase Gensymbolen (FB2013_01, 23.1.2013, www.flybase.org).

3.1.3 Vergleichende Untersuchung von Interventionen, die zur Langlebigkeit führen

3.1.3.1 Vergleich des Fettkörper-Transkriptoms nach *Sir2*-Überexpression und DR

Wie in 3.1.1.1 dargestellt, erhöht die Überexpression von *Sir2* im Fettkörper von *Drosophila* die Lebenserwartung der Fliegen. Ebenso kann auch eine Nahrungsrestriktion (DR, *dietary restriction*) die Lebensspanne der Tiere verlängern (vgl. 3.2.1). Aufgrund der NAD^+ -abhängigen Enzymaktivität von SIR2 liegt die Vermutung nahe, dass DR über einen Anstieg der NAD^+ -Konzentration die Aktivität von SIR2 erhöht und so zur Lebensverlängerung führt.

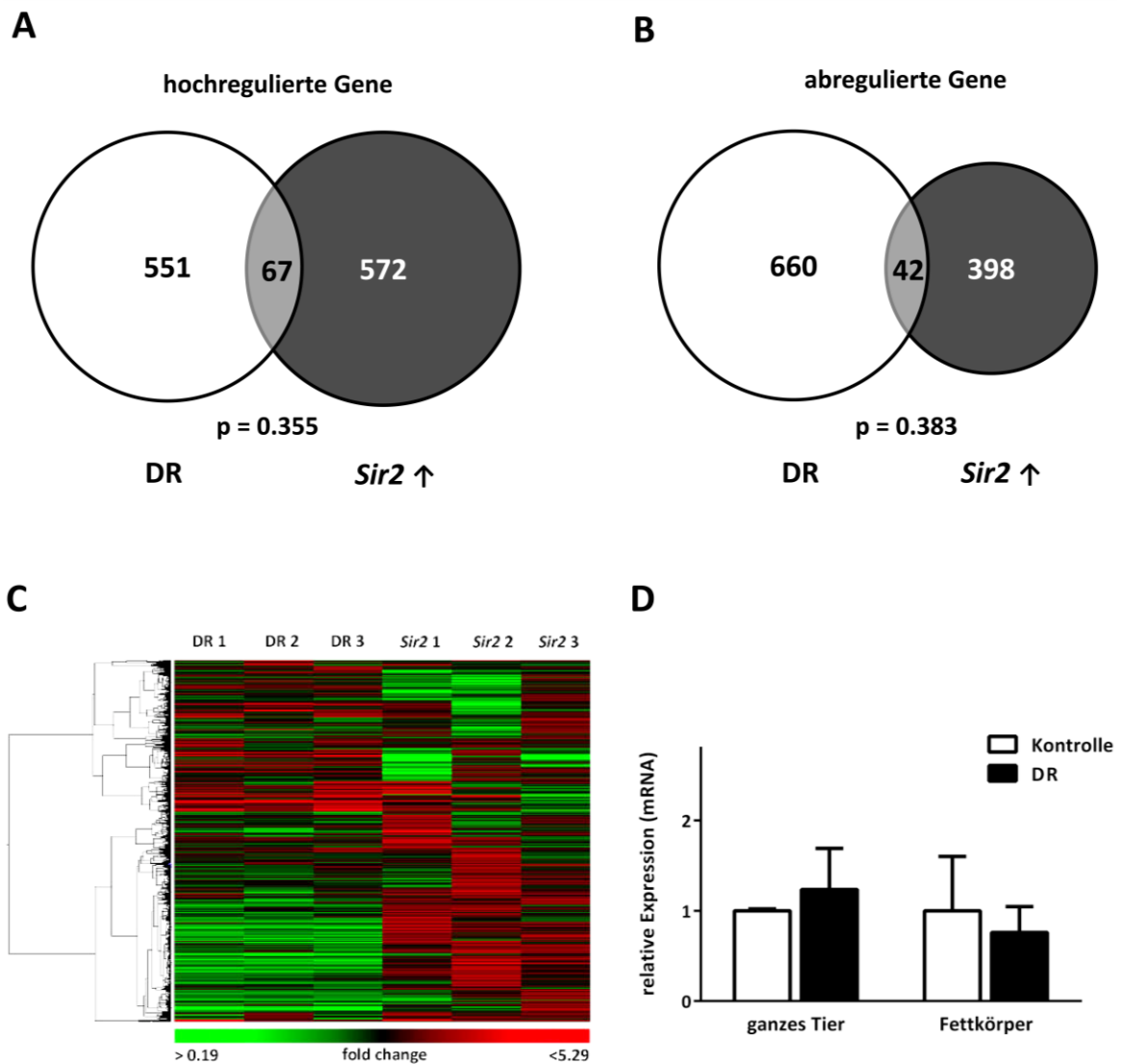


Abb. 3.14: Transkriptionelle Anpassungen nach *Sir2*-Überexpression und DR. Die skalierten Venn-Diagramme zeigen hoch (A) bzw. abregulierte Gene (B) im Fettkörper von Weibchen, die einer 7-tägigen DR ausgesetzt waren und von Weibchen, die *Sir2* überexprimieren. C zeigt die Ergebnisse des hierarchischen Clusterings der 3 biologischen Replikate für DR und *Sir2* in Form einer heat map. In D ist die relative *Sir2*-mRNA Expression von Weibchen, die einer 7-tägigen DR ausgesetzt waren, dargestellt (Mittelwerte aus 3 biologischen Replikaten + SEM).

Es sollte nun festgestellt werden, ob im Fettkörper von Tieren, die *Sir2* überexprimieren, gleiche transkriptionelle Anpassungen vorgenommen werden, wie im Fettkörper von Tieren, die einer DR ausgesetzt waren. Hierfür wurden Weibchen des Stamms *w¹¹¹⁸* 2 Tage verpaart und dann 7 Tage einer DR ausgesetzt, anschließend ihr Fettkörper präpariert und die Proben für die Microarray-Analyse aufgearbeitet. Die differentiell regulierten Gene wurden mit den Ergebnissen der Microarray-Experimente der Weibchen, die *Sir2* überexprimieren (s. 3.1.1.4), verglichen. Im Versuchsaufbau wurde darauf geachtet, Faktoren, die das Transkriptom des Fettkörpers unabhängig von den betrachteten Interventionen beeinflussen können, wie Alter, Geschlecht und genetischer Hintergrund, für beide Experimente anzugleichen.

Der Vergleich der differentiell regulierten Gene ergab, dass nur ca. 11 % der nach DR hoch bzw. 6 % der nach DR abregulierten Gene auch nach *Sir2*-Überexpression reguliert waren (Abb. 3.14A bzw. B). Die Überschneidung der hoch- bzw. abregulierten Gene nach *Sir2*-Überexpression und nach DR war laut dem exakten Test nach Fisher nicht signifikant ($p = 0,355$ bzw. $p = 0,383$). Des Weiteren wird anhand der in Abb. 3.14C dargestellten *heat map* deutlich, dass der Großteil der Gene in beiden Gruppen invers reguliert wurde. Außerdem wurde mithilfe der quantitativen real-time PCR überprüft, ob die Nahrungsrestriktion einen Anstieg der *Sir2*-Transkription hervorruft (Abb. 3.14D). Dies ist weder im Fettkörper noch im gesamten Tier der Fall. In ihrer Gesamtheit weisen die Ergebnisse nicht darauf hin, dass *Sir2* die Effekte der DR vermittelt.

3.1.3.2 Vergleich des Fettkörper-Transkriptoms nach *foxo*-Überexpression und DR

Es ist denkbar, dass FOXO infolge einer Nahrungsrestriktion verstärkt aktiviert wird, da der Insulinsignalweg bei Nahrungsmangel eine geringere Aktivität aufweist. Deshalb sollte analog zum Vergleich in 3.1.4.1 überprüft werden, inwieweit die transkriptionellen Änderungen nach der *foxo*-Überexpression mit denen nach der 7-tägigen DR übereinstimmen, um eine Aussage darüber treffen zu können, ob die beiden Interventionen ähnliche physiologische Prozesse in Gang setzen und so die Lebensverlängerung herbeiführen.

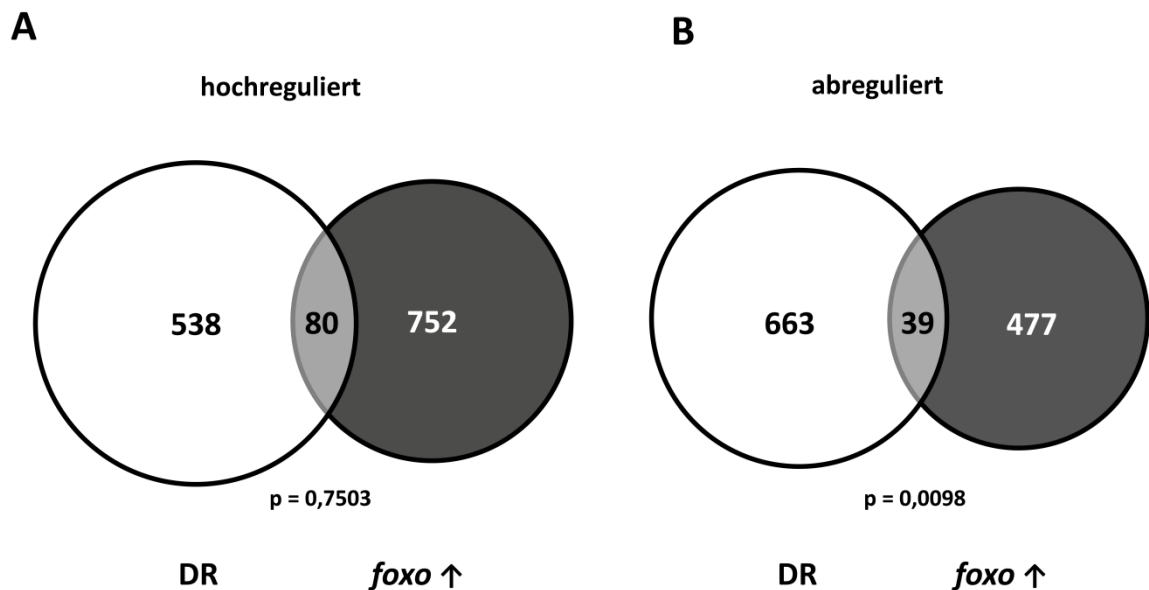


Abb. 3.15: Skalierte Venn-Diagramme der Gene, deren Expression nach DR und *foxo*-Überexpression im Fettkörper von Weibchen reguliert wurde. Dargestellt ist jeweils die Anzahl der Gene, die in der angegebenen Versuchsgruppe in 2 von 3 biologischen Replikaten mind. 1,5fach hoch- (A) bzw. abreguliert (B) waren. Die Flächeninhalte der Kreise und ihrer Überlappungsbereiche spiegeln die Verhältnisse der Gruppengrößen zueinander wider. Die Venn-Diagramme wurden mithilfe von Wolfram Mathematica gezeichnet (Chandler et al., 2012).

Der Vergleich der regulierten Gene in Abb. 3.15 zeigt, dass mit 80 Genen nur 13 % der hoch regulierten Gene ($p = 0,75$) und mit 39 nur 6 % der abregulierten Gene ($p = 0,098$) nach DR und *foxo*-Überexpression übereinstimmen. Diese geringfügige Überlappung der differentiell regulierten Gene spricht nicht dafür, dass *foxo* an der Vermittlung der Effekte der DR auf die Lebensspanne beteiligt ist.

3.1.3.3 Das Transkriptom des Fettkörpers nach *Sir2*- und *foxo*-Überexpression

Es ist bekannt, dass FOXO3 in Säugetieren von SIRT1 deacetyliert und somit aktiviert werden kann (Houtkooper et al., 2012). Weiterhin scheint die Lebensverlängerung durch *sir-2.1* in *C. elegans* von dem *foxo*-Ortholog *daf-16* abhängig zu sein (Tissenbaum et al., 2001). Die Hinweise auf einen funktionellen Zusammenhang zwischen SIR2 und FOXO mehren sich auch in *Drosophila* (Xiang et al., 2011; Koh et al., 2012; Hong et al., 2012). Deshalb sollte am Beispiel der Proben aus Weibchen untersucht werden, ob sich das Transkriptom des Fettkörpers nach *Sir2*- und *foxo*-Überexpression ähnelt.

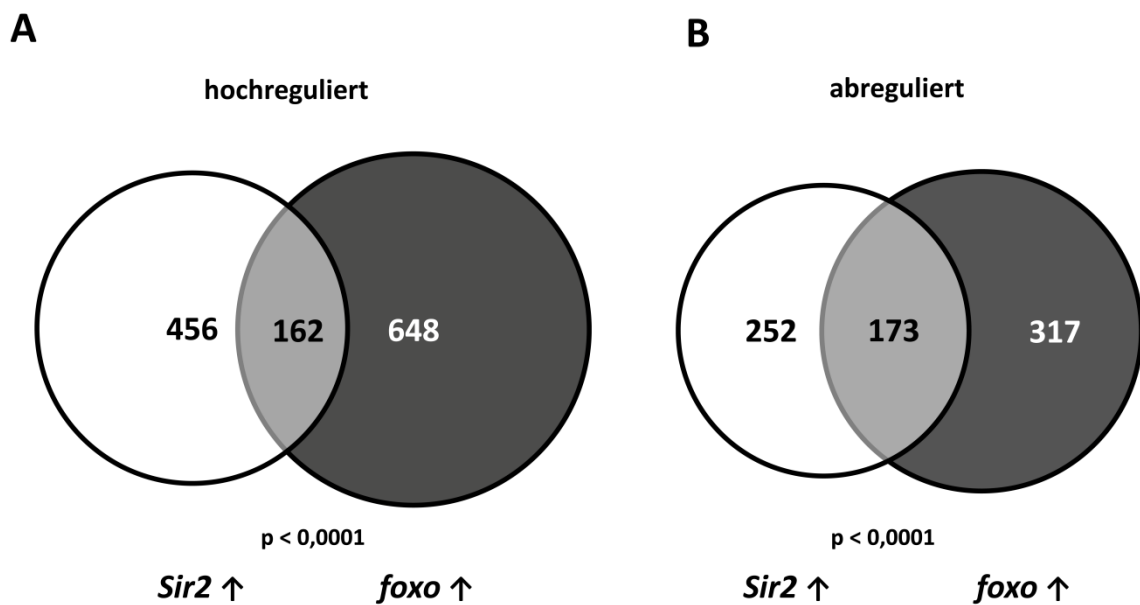


Abb. 3.16: Skalierte Venn-Diagramme der Gene, deren Expression nach *Sir2*- und *foxo*-Überexpression im Fettkörper von Weibchen reguliert wurde. Dargestellt ist jeweils die Anzahl der Gene, die in der angegebenen Versuchsgruppe in 2 von 3 biologischen Replikaten mind. 1,5fach hoch- (A) bzw. abreguliert (B) waren. Die Flächeninhalte der Kreise und ihrer Überlappungsbereiche spiegeln die Verhältnisse der Gruppengrößen zueinander wider. Die Venn-Diagramme wurden mithilfe von Wolfram Mathematica gezeichnet (Chandler et al., 2012).

Die Übereinstimmung der regulierten Gene nach beiden Interventionen ist relativ groß, wie **Abb. 3.16** zeigt. In den Datensätzen stimmen 162 der hoch regulierten Gene überein, was 26 % aller nach *Sir2*-Überexpression hoch regulierten Gene entspricht (Abb. 3.16A). Weiterhin sind mit 173 Genen 58 % der nach *Sir2*-Überexpression abregulierten Gene auch nach *foxo*-Überexpression abreguliert (Abb. 3.16B). Der exakte Test nach Fisher ergab für hoch- und abregulierte Gene eine signifikante Überschneidung ($p < 0,0001$). Diese Ergebnisse deuten daraufhin, dass *Sir2* und *foxo* im Fettkörper ähnliche Prozesse steuern. Deshalb sollte mithilfe immunhistochemischer Analysen der funktionelle Zusammenhang zwischen *Sir2* und *foxo* überprüft werden. Hierfür wurde der Fettkörper von Fliegen, die *Sir2* überexprimieren, präpariert und mithilfe des α -FOXO-Antikörpers die zelluläre Lokalisation von FOXO nachgewiesen.

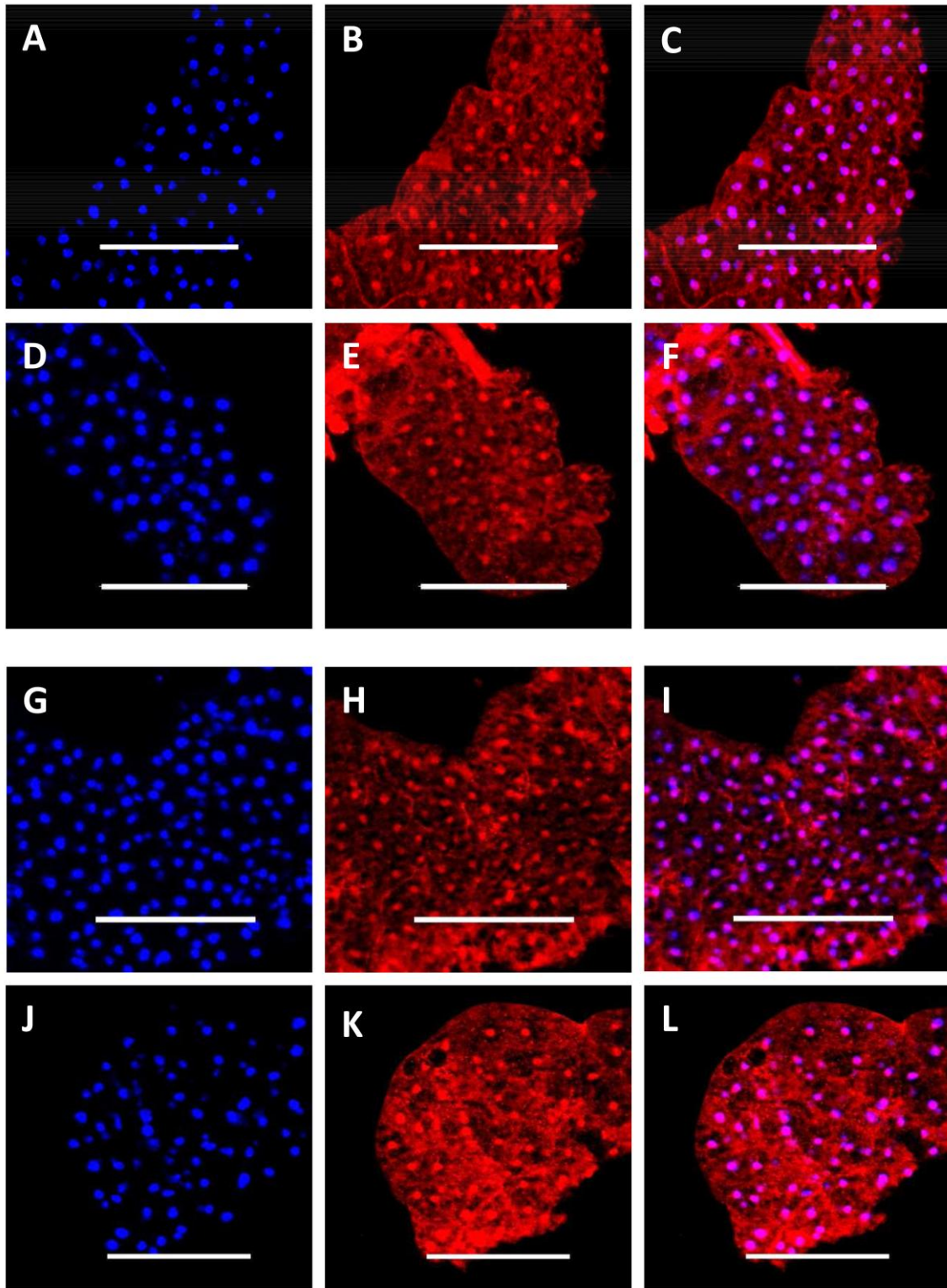


Abb. 3.17: Immunhistochemischer Nachweis der FOXO-Lokalisation in Fettkörperzellen nach Sir2-Überexpression. A-C zeigt den Fettkörper weiblicher Kontrolltiere, D-F den von Sir2-überexprimierenden Weibchen. In G-I ist der Fettkörper männlicher Kontrolltiere dargestellt, in J-L der der Sir2-überexprimierenden Männchen. Die linke Spalte zeigt jeweils die Kernfärbung (Hoechst; blau), die mittlere Spalte das α -FOXO-Signal (rot) und die rechte Spalte die Überlagerung beider Bilder. Der Maßstabsbalken beträgt 100 μ m.

Abb. 3.17 zeigt, dass FOXO in Kontroll- und *Sir2*-überexprimierenden Tieren im Zellkern lokalisiert war, was darauf hindeutet, dass die basale Aktivität des Transkriptionsfaktors im gewählten Versuchssystem vergleichsweise hoch war. Es ist deshalb mit diesem System kaum möglich, eine Aktivierung von FOXO durch SIR2 auf diese Art darzustellen.

3.1.4 Vergleich des Fettkörper-Transkriptoms nach *Sir2*-Überexpression mit dem Lipidtröpfchen-Proteom

Im Fettgewebe sind die Lipidtröpfchen von zentraler Bedeutung für die Regulation von Fettspeicherung und -mobilisierung (Kühnlein, 2011). Da *Sir2* eine Rolle in der Steuerung der Fettspeicherung zugesprochen wird (Reis et al., 2010; Banerjee, Ayyub, Sengupta et al., 2012), sollten die Genexpressionsdaten des Fettgewebes von Männchen und Weibchen, die *Sir2* überexprimieren, mit dem Proteom der Lipidtröpfchen verglichen werden. Hierfür wurde eine Liste der Gensymbole von Proteinen, die mit der Oberfläche der Lipidtröpfchen assoziiert ist (Beller et al., 2006) mit den hoch- und abregulierten Genen nach *Sir2*-Überexpression verglichen.

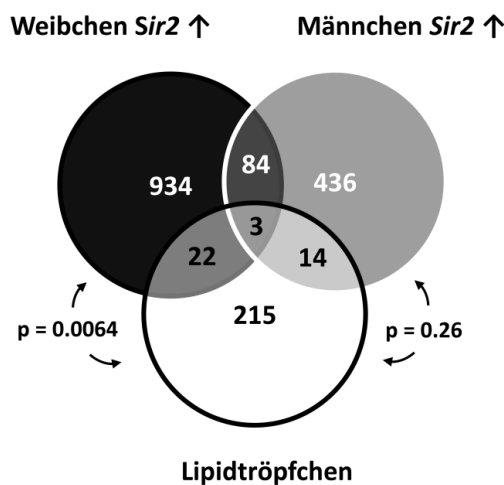


Abb. 3.18: *Differentiell regulierte Gene im Fettkörper von Weibchen und Männchen nach Sir2-Überexpression im Vergleich mit dem Lipidtröpfchen-Proteom. Es wurden Gene, die nach Sir2-Überexpression in mind. 2 von 3 Arrays mind. 1,5-fach hoch- oder abreguliert waren, mit dem Datensatz aus Beller et al., 2006 verglichen.*

Wie in Abb. 3.18 dargestellt, sind in Weibchen mit *Sir2*-Überexpression 25 der zugehörigen Gene von insgesamt 254 „Lipidtröpfchen-Proteinen“ differentiell reguliert, das entspricht ca. 10 % des Lipidtröpfchen-Proteoms ($p = 0,0064$). In Männchen sind 17 (7 %) der entsprechenden Gene differentiell reguliert ($p = 0,26$). Die (mutmaßlichen) Funktionen der Gene sind sehr unterschiedlich und reichen von Fettspeicherung und Fettsäure-Stoffwechsel über Ausbildung der Chromatinstruktur (Histone) und Energie-Stoffwechsel bis zur Stressantwort (Tab. 3.8). Auffällig ist, dass zwar viele Gene des Lipidtröpfchen-Proteoms nach *Sir2*-Überexpression in Weibchen und Männchen reguliert sind, aber nur 1 Gen in beiden Geschlechtern richtungsgleich reguliert ist (*Glutamate oxaloacetate transaminase 2*). Alle anderen Gene werden im jeweils anderen Geschlecht nicht oder invers reguliert. Zusammengefasst weisen die Ergebnisse daraufhin, dass *Sir2* die Komposition des Lipidtröpfchen-Proteoms modulieren und so Einfluss auf die

Fettverwertung und andere Funktionen der Lipidtröpfchen nehmen kann. Dies scheint jedoch in beiden Geschlechtern unterschiedlich gesteuert zu werden.

Tab. 3.8: Gene, die im Fettkörper nach Sir2-Überexpression differentiell reguliert wurden und deren Genprodukte mit der Lipidtröpfchen-Oberfläche assoziiert sind.

Gene ID	Name	(Mutmaßliche) Funktion	Geschlechter-spezifische Regulation
CG31618	Histon H2A	Ausbildung der Chromatin-Struktur	♂ ↑
CG5170	Dodeca-satellite-binding protein 1	Chromosomen-Trennung	♀ ↑
CG2512	alpha-Tubulin at 84D	Zellbewegung	♀ ↑
CG18000	short wing	intermediäre Kette des cytoplasmischen Dynein	♀ ↑
CG1049	CTP:phosphocholine cytidylyltransferase 1	Endocytose	♀ ↓
CG5915	Rab7	Transport vom Endosom zum Lysosom	♂ ↑
CG11642	TRAM	Phagocytose	♀ ↑
CG6543	CG6543	Fettsäure-β-oxidation	♀ ↑
CG12262	CG12262	Fettsäure-β-oxidation	♀ ↓
CG3523	Fatty acid synthase	Fettsäure-Synthese	♀ ↑
CG1112	alpha-Esterase-7	Fettspeicherung	♂ ↓
CG5119	polyA-binding protein	mRNA 3'-UTR Bindung	♀ ↑
CG9748	belle	ATP-abhängige RNA-Helikase	♀ ↑
CG9325	hu li tai shao	Lenkung des axonalen Wachstums	♀ ↓
CG7920	CG7920	Neurogenese	♂ ↓
CG3725	Calcium ATPase at 60A	Synaptische Signalweiterleitung an der neuromuskulären Endplatte	♂ ↑
CG8322	ATP citrate lyase	Citrat-Metabolismus	♀ ↑
CG4233	Glutamate oxaloacetate transaminase 2	Aspartat-Aminotransferase	♀ ↑ ♂ ↑
CG7998	Malate dehydrogenase 2	Citrat-Zyklus	♀ ↑
CG2968	lethal (1) G0230	H ⁺ -exportierende ATPase	♀ ↑
CG1683	Adenine nucleotide translocase 2	mitochondrialer ATP:ADP-Antiporter	♀ ↑ ♂ ↓
CG7834	CG7834	Oxidative Phosphorylierung	♂ ↑
CG10639	CG10639	Oxidoreduktase	♀ ↑
CG5590	CG5590	Oxidoreduktase	♀ ↑
CG5809	calcium-binding protein 1	cell redox homeostasis	♂ ↑
CG6988	Protein disulfide isomerase	protein disulfide isomerase activity	♀ ↑
CG5834	Hsp70Bbb	Stressantwort	♂ ↑
CG5436	Heat shock protein 68	Stressantwort	♂ ↓
CG8937	Heat shock protein cognate 1	Antwort auf falsch gefaltete Proteine	♀ ↑
CG7808	Ribosomal protein S8	struktureller Bestandteil von Ribosomen	♀ ↑
CG1524	Ribosomal protein S14a	struktureller Bestandteil von Ribosomen	♂ ↑
CG4087	Ribosomal protein LP1	struktureller Bestandteil von Ribosomen	♂ ↑
CG7014	Ribosomal protein S5b	struktureller Bestandteil von Ribosomen	♂ ↑
CG9282	Ribosomal protein L24	struktureller Bestandteil von Ribosomen	♂ ↑
CG3373	Hemomucin	Biosynthese	♀ ↓
CG6415	CG6415	Glycin-Katabolismus	♀ ↑
CG2852	CG2852	Fortpflanzung	♀ ↓
CG18212	aluminum tubes	unbekannt	♀ ↑ ♂ ↓
CG9186	CG9186	unbekannt	♂ ↓

Es wurden Gene, die nach Sir2-Überexpression in mind. 2 von 3 Arrays mind. 1,5 fach hoch- oder abreguliert waren, mit dem Datensatz aus Beller et al., 2006 verglichen.

3.2 Der Einfluss der Nahrungsrestriktion auf die epigenetische Regulation von *Drosophila*

Die Nahrungs- oder Kalorienrestriktion ist die bisher einzig bekannte, evolutionär hoch konservierte Strategie, Alterungsprozesse zu verzögern (Roth et al., 2012). Allerdings sind die molekularen Mechanismen, die durch DR in Gang gesetzt werden und zur Verlängerung der Lebens- bzw.- Gesundheitsspanne beitragen, bisher weitestgehend unverstanden. Epigenetische Regulationsmechanismen sind als Vermittler anzusehen, die in Reaktion auf Veränderungen der Umweltbedingungen langanhaltende Anpassungen der differentiellen Genexpression vornehmen. Es ist wahrscheinlich, dass Anpassungen an veränderte Nahrungsbedingungen, die Einfluss auf Alterungsprozesse nehmen, über epigenetische Mechanismen reguliert werden, da sie langfristige Änderungen der Genexpression nach sich ziehen (Romey, 2012). Im Rahmen dieser Arbeit sollte der Einfluss der Nahrungsrestriktion auf das genomweite Bindungsverhalten der Histonmodifikation H3K9ac (Acetylierung des Lysinrestes 9 von Histon H3), die mit transkriptioneller Aktivität des entsprechenden Gens assoziiert ist, untersucht werden. Zunächst wurde aber überprüft, ob das gewählte Ernährungsregime die Lebenserwartung von *Drosophila* erhöht.

3.2.1 Untersuchung der Lebensspanne von *Drosophila* unter DR

Es gibt verschiedene Protokolle, um *Drosophila* einer DR auszusetzen, allerdings scheint sich die Verringerung des Proteinanteils an der Nahrung am stärksten auf die Lebensdauer der Fliegen auszuwirken (Mair et al., 2005). Für die Versuche wurde das Futter von Ja *et al.* verwendet (Ja et al., 2009). Kontroll- und DR-Futter unterscheiden sich hier nur in der zugegebenen Menge an Hefeextrakt (5 % bzw. 0,25 %) und außerdem weisen beide einen relativ hohen Maismehlanteil auf, das hygroskopisch ist und eine ausreichende Wasserversorgung der Fliegen sicherstellt. Im folgenden Versuch wurde überprüft, ob sich die Lebensspanne von Wildtypen (w^{1118}) unter den gewählten Bedingungen verlängert. Außerdem wurden zusätzlich zur durchgängigen DR verschiedene zeitliche Muster angewandt, in denen Kontroll- und Diätmedium im Wechsel gegeben wurden. Die Ernährungsmuster sind zum einfacheren Verständnis mit Prozentangaben versehen, die angeben, wie groß der Anteil der Lebenszeit ist, der sie einer DR ausgesetzt waren. Bspw. steht 50 % DR für das Ernährungsregime, in dem Kontroll- und DR-Medium im wöchentlichen Wechsel gegeben wurden. Abb. 3.19 zeigt, dass eine dauerhafte DR (100 %) die Überlebenskurven von Weibchen und Männchen deutlich nach rechts verschiebt und die mittlere Lebensspanne der Weibchen um 28 d (64 %) und der Männchen um 14 d (27 %) erhöht (vgl. Tab. 3.9.).

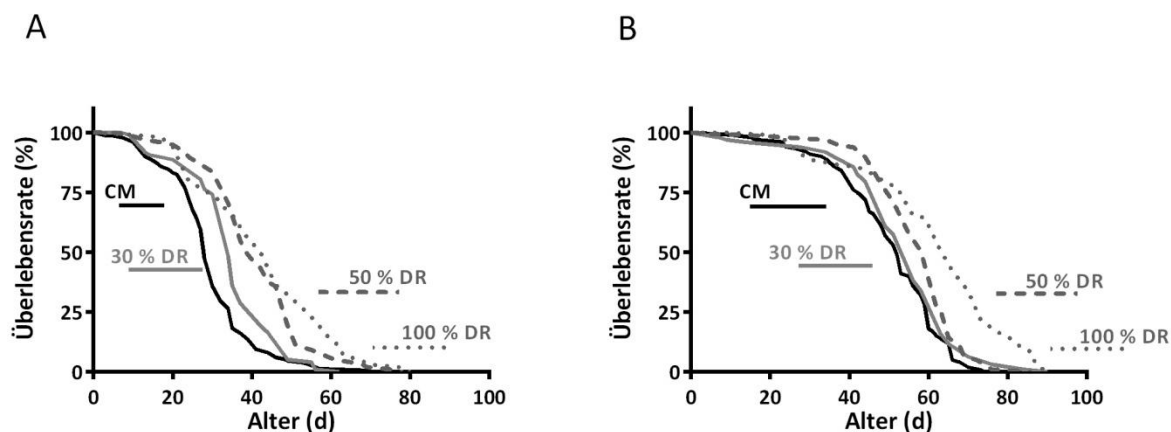


Abb. 3.19: Kaplan-Meier-Kurven von verpaarten Weibchen (A) und Männchen (B) des Fliegenstamms w^{1118} unter verschiedenen Ernährungsmustern. CM, permanent Kontrollmedium; 30 % DR, 5 d Kontrollmedium und 2 d DR-Medium im Wechsel; 50 % DR, 7 d Kontrollmedium und 7 d DR-Medium im Wechsel; 100 % DR, permanent DR-Medium. Die Überlebenskurven wurden mithilfe des Log-Rang-Tests verglichen. n für alle Versuchsgruppen mind. 95, Details s. Tab. 3.9.

Außerdem wirkt sich die DR dosisabhängig auf die Lebenserwartung aus, denn mit steigendem Zeitanteil der Gabe des DR-Mediums steigt die Lebenserwartung von Männchen und Weibchen. Bei genauerer Betrachtung der zeitlich verschiedenen Ernährungsregime fällt auf, dass der Effekt einer signifikanten Verlängerung der Lebensspanne bei Weibchen bereits bei 30 % DR auftritt, bei Männchen erst bei 50 % DR.

Tab. 3.9: Ergebnisse des Log-Rang-Tests der Überlebenskurven von w^{1118} unter DR.

Ernährungs- muster	Geschlecht	Median der Lebensdauer (d)	Änderung der mittleren Lebensdauer (% der Kontrolle)	Maximale Lebensdauer (d)	p-Wert	n
CM	w	28	-	63	-	98
30 % DR	w	34	+ 21,4	67	<0,0001	97
50 % DR	w	41	+ 46,4	71	<0,0001	98
100 % DR	w	46	+ 64,3	77	<0,0001	99
CM	m	52	-	70	-	100
30 % DR	m	56	+ 7,7	73	ns	95
50 % DR	m	62	+ 19,3	79	<0,0001	97
100 % DR	m	66	+ 27,0	84	<0,0001	95

Die maximale Lebensdauer entspricht dem Median der Lebensdauer der langlebigsten 10 %. Der Log-Rang-Test wurde mithilfe von GraphPad Prism 6.00 durchgeführt. ns, nicht signifikant; w, weiblich; m, männlich.

3.2.2 Einfluss der Nahrungsrestriktion auf die epigenetische Regulation

Mithilfe der Chromatinimmunpräzipitation gekoppelt an eine anschließende Microarray-Analyse (ChIP-Chip) sollten die Bindungsstellen von H3K9ac nach einer 7-tägigen DR genomweit lokalisiert und mit dem Bindungsprofil der Kontrolle verglichen werden. Hierfür wurden ganze Weibchen oder Männchen fixiert, das Chromatin extrahiert und anschließend mithilfe von Ultraschall auf DNA-Abschnitte von ca. 250 – 800 bp Länge fragmentiert. Nach der Präzipitation mit dem α -H3K9ac-Antikörper wurde die aufgereinigte DNA amplifiziert und mit einem *Drosophila melanogaster* ChIP 2.1M WG-Tiling Array (Roche) hybridisiert. Anschließend wurden die Datensätze auf Bindungsstellen von H3K9ac in der 5'UTR (5'-untranslated region, untranslatierter Bereich am 5'-Ende der kodierenden Sequenz) von protein-codierenden Genen gefiltert, da die Bindung von H3K9ac nur in diesem Bereich des Gens mit transkriptioneller Aktivität assoziiert ist (Kharchenko et al., 2011; Yin et al., 2011).

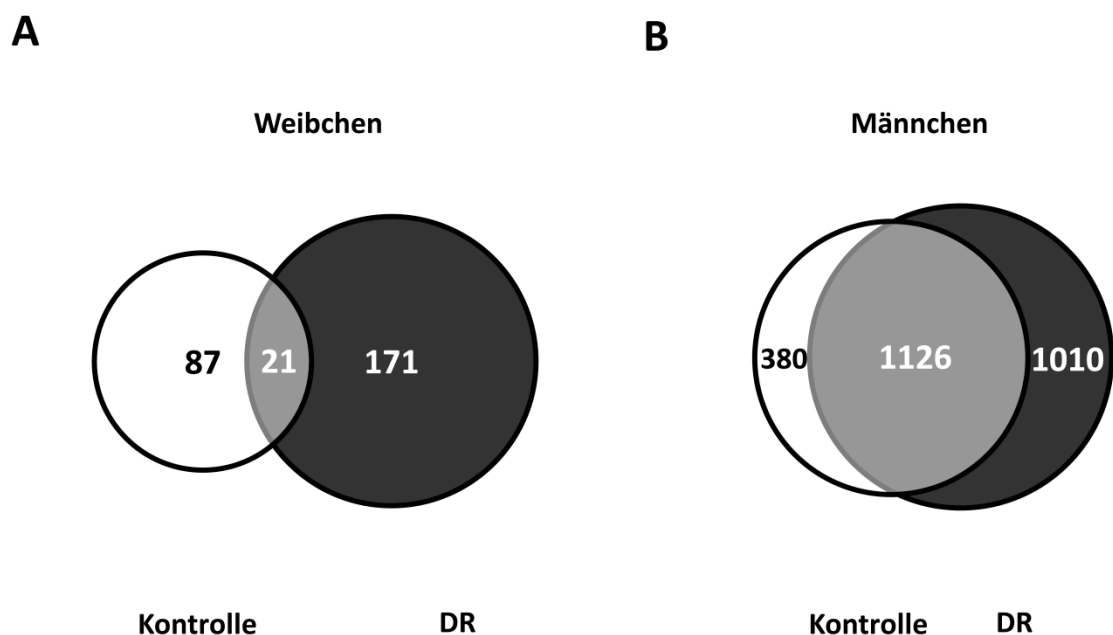


Abb. 3.20: Skalierte Venn-Diagramme zur Darstellung von Genen, deren 5'UTR an H3K9ac gebunden hat. Bei Weibchen (A) wurden Gene, die in 3 von 3 Versuchen mit einer FDR < 0,2 an H3K9ac gebunden haben, bei Männchen (B) wurden solche, die in 2 von 2 biologischen Replikaten mit einer FDR von < 0,05 gebunden haben, einbezogen.

In Abb. 3.20 ist die Anzahl der Gene dargestellt, die in Kontroll- und DR-Tieren an H3K9ac gebunden haben. Es ist auffällig, dass bei Männchen in beiden Gruppen weitaus mehr H3K9ac-bindende Gene auftraten als bei Weibchen. Weiterhin ist in beiden Geschlechtern die Anzahl der Gene, die in den DR-Proben an H3K9ac gebunden haben, größer als die in den Kontrollproben.

Im Folgenden wurden die Gene, die nur nach DR oder nur in den Kontrolltieren an H3K9ac gebunden hatten, mithilfe von DAVID auf gehäuft auftretende Gengruppen untersucht. In weiblichen Kontrolltieren, waren u. a. Stressantwort sowie Fortpflanzungs- und Entwicklungsprozesse signifikant angereichert (Tab. 3.10), während unter DR biologische Prozesse wie RNA-Prozessierung, Translation und Ribosombiogenese gehäuft auftraten (Tab. 3.11).

Tab. 3.10: GO-Kategorien, die unter den H3K9ac-bindenden Genen in weiblichen Kontrolltieren (und nicht nach DR) überrepräsentiert waren.

GO/KEGG ID	GO Kategorie/KEGG-Signalweg	p-Wert	Anzahl in- begriffener Gene
Stressantwort			
GO:0033554	Zelluläre Stressantwort	0,002	6
GO:0034984	Zelluläre Antwort auf DNA-Schäden	0,008	4
Fortpflanzung und Entwicklung			
GO:0003006	Fortpflanzungs- / Entwicklungsprozess	0,011	8
GO:0007391	Schließung der dorsalen Furche	0,011	4
GO:0016331	Morphogenese des embryonalen Epithels	0,021	4
GO:0008258	Einstülpung des Kopfes	0,024	3
GO:0045165	Determination des Differenzierungspotentials von Zellen	0,026	5
GO:0019101	somatische Geschlechtsdetermination bei Weibchen	0,029	2
GO:0032504	Fortpflanzung von Metazoen	0,033	9
GO:0007548	Sexuelle Differenzierung	0,035	3
GO:0007293	Bildung der Eihülle im Germarium	0,038	3
GO:0048477	Oogenese	0,046	7
GO:0007292	Gametenbildung bei Weibchen	0,048	7
Immunantwort			
GO:0019730	Humorale antimikrobielle Antwort	0,046	3
Zellzyklus			
GO:0000086	Fortsetzung des mitotischen Zellzyklus von G2-zu M-Phase	0,048	2
Sonstige			
GO:0006259	DNA-Stoffwechsel	0,022	5
GO:0046958	Nicht-assoziatives Lernen	0,024	2
GO:0043933	Organisation der Untereinheit eines makromolekularen Komplexes	0,048	5

In die Analyse wurden Gene, die in der 5'-UTR eine Bindungsstelle von H3K9ac mit einer FDR < 0,2 in 3 von 3 Versuchen aufwiesen. Dargestellt sind alle GO-Kategorien, die in diesem Datensatz statistisch signifikant ($p < 0,05$) gehäuft auftraten.

Tab. 3.11: GO-Kategorien, die unter den H3K9ac-bindenden Genen in Weibchen nach DR (und nicht in Kontrolltieren) überrepräsentiert waren.

GO/KEGG ID	GO Kategorie/KEGG-Signalweg	p-Wert	Anzahl in-begriffener Gene
GO:0006396	RNA-Prozessierung	0,0005	13
GO:0034470	Prozessierung nukleärer RNA	0,0057	6
GO:0006412	Translation	0,0121	14
GO:0034660	Stoffwechsel nukleärer RNA	0,0250	6
KEGG dme03010	Ribosom	0,0286	6
GO:0022613	Biogenese eines Ribonukleoprotein-Komplexes	0,0296	5
GO:0042254	Ribosom-Biogenese	0,0454	4

In die Analyse wurden Gene, die in der 5'-UTR eine Bindungsstelle von H3K9ac mit einer FDR < 0,2 in 3 von 3 Versuchen aufwiesen. Dargestellt sind alle GO-Kategorien, die in diesem Datensatz statistisch signifikant ($p < 0,05$) gehäuft auftraten.

Die Gene, die in Männchen an H3K9ac gebunden haben, wurden aufgrund der Datenmenge in DAVID auch auf funktionelle Cluster hin untersucht, die mehrere GO-Kategorien zu einem Cluster zusammenfasst und nach Signifikanz ordnet. Tab. 3.12 bzw. Tab.3.13 zeigt die angereicherten Cluster und die ihr zugehörigen GO-Kategorien für die Kontroll- bzw. DR-Tiere. Es sind nur GO-Kategorien aufgeführt, deren p-Wert < 0,05 war. In den Kontrolltieren sind vor allem sauerstoffverbrauchende Stoffwechselwege wie Fettsäure-Oxidation und Zellatmung überrepräsentiert. Unter DR nimmt der Proteinabbau und -transport einen großen Anteil der überrepräsentierten Gengruppen ein. Außerdem traten Endocytose, Stressantwort und RNA-Prozessierung gehäuft auf.

Tab. 3.12: GO-Kategorien, die unter den H3K9ac-bindenden Genen in männlichen Kontrolltieren (und nicht nach DR) überrepräsentiert waren.

GO/KEGG ID	GO Kategorie/KEGG-Signalweg	p-Wert	Anzahl in- begriffener Gene
Fettstoffwechsel			
GO:0030258	Lipid-Modifizierung	0,0275	4
GO:0034440	Lipid-Oxidation	0,0360	3
GO:0019395	Fettsäure-Oxidation	0,0360	3
Carboxy-Säure-Katabolismus			
GO:0046395	Carboxy-Säure-Katabolismus	0,0269	5
Zellatmung			
GO:0006091	Bereitstellung von Vorläufer-Metaboliten und Energiegewinnung	0,0226	12
GO:0022900	Elektronentransportkette	0,0268	7
GO:0016310	Phosphorylierung	0,0426	18

In die Analyse wurden Gene, die in der 5'-UTR eine Bindungsstelle von H3K9ac mit einer FDR < 0,05 in 2 von 2 Versuchen aufwiesen. Dargestellt sind alle GO-Kategorien, die in diesem Datensatz statistisch signifikant ($p < 0,05$) gehäuft auftraten.

Tab. 3.13: GO-Kategorien, die unter den H3K9ac-bindenden Genen in Männchen nur nach DR (und nicht in Kontrolltieren) überrepräsentiert waren.

GO/KEGG ID	GO Kategorie/KEGG-Signalweg	p-Wert	Anzahl in-begriffener Gene
Endocytose			
GO:0016044	Membran-Organisation	0,0031	37
GO:0016192	Vesikel-vermittelter Transport	0,0036	43
GO:0010324	Membraneinstülpung	0,0080	30
GO:0006897	Endocytose	0,0080	30
GO:0006911	Phagozytose	0,0395	21
Stressantwort			
GO:0009408	Reaktion auf Hitze	0,0074	12
GO:0009266	Reaktion auf Temperatur-Reiz	0,0126	12
GO:0009628	Reaktion auf abiotischen Reiz	0,0464	23
Proteinabbau			
GO:0009057	Katabolismus von Makromolekülen	0,0005	36
GO:0044265	zellulärer Katabolismus von Makromolekülen	0,0043	28
GO:0030163	Proteinkatabolismus	0,0069	25
GO:0051603	Proteolyse im Rahmen des Proteinkatabolismus	0,0093	23
GO:0006511	Ubiquitin-abh. Proteinabbau	0,0364	13
GO:0070647	Proteinmodifizierung durch Konjugation von kleinen Proteinen	0,0441	10
Purinmetabolismus			
GO:0046128	Purinribonucleosid-Stoffwechsel	0,0104	5
Proteintransport			
GO:0046907	Intrazellulärer Transport	0,0000	46
GO:0008104	Proteinlokalisierung	0,0065	42
GO:0034613	Zelluläre Proteinlokalisierung	0,0264	21
GO:0045184	Aufbau der Proteinlokalisierung	0,0277	30
GO:0015031	Proteintransport	0,0341	29
GO:0006886	Intrazellulärer Proteintransport	0,0367	20
Cofaktor-Stoffwechsel			
GO:0051188	Cofaktor-Biosynthese	0,0235	10
GO:0051186	Cofaktor-Stoffwechsel	0,0346	14
RNA-Prozessierung			
GO:0031124	Prozessierung der mRNA am 3'-Ende	0,0236	6
GO:0031123	Prozessierung der RNA am 3'-Ende	0,0434	6
Aminosäure-Biosynthese			
GO:0008652	Aminosäure-Biosynthese	0,0140	7
KEGGdme00450	Stoffwechsel von Seleno-Aminosäuren	0,0683	5

GO/KEGG ID	GO Kategorie/KEGG-Signalweg	p-Wert	Anzahl in- begriffener Gene
Spindelapparat			
GO:0000022	Verlängerung der mitotischen Spindeln	0,0079	13
GO:0051231	Spindelverlängerung	0,0088	13
Entwicklung des Komplexauges			
GO:0001751	Differenzierung der Photorezeptorzelle im Komplexauge	0,0234	15
GO:0001754	Differenzierung der Photorezeptorzelle im Auge	0,0328	15
GO:0046530	Differenzierung der Photorezeptorzelle	0,0349	16
Adherens Junction			
GO:0034332	Organisation der Adherens Junction	0,0429	3
GO:0034334	Aufrechterhaltung der Adherens Junction	0,0429	3

In die Analyse wurden Gene, die in der 5'-UTR eine Bindungsstelle von H3K9ac mit einer FDR < 0,05 in 2 von 2 Versuchen aufwiesen. Dargestellt sind alle GO-Kategorien, die in diesem Datensatz statistisch signifikant ($p < 0,05$) gehäuft auftraten.

Unter den 95 angereicherten Clustern von GO-Kategorien, die in Männchen nach DR signifikant gehäuft auftraten, war an 13. Stelle auch ein Cluster mit den drei GO-Kategorien „Determination der adulten Lebensspanne“ (GO:0008340), „Altern“ (GO:0007568), „Altern eines mehrzelligen Organismus“ (GO:0010259), die alle in Tab. 3.14 aufgeführten Gene enthielten.

Tab. 3.14: Gene, deren 5'UTR nur nach DR an H3K9ac gebunden haben und mit Alterungsprozessen in Verbindung gebracht werden (Männchen).

Annotations-symbol	Name	(Mutmaßliche) Funktion
CG17280	levy	Cytochrome-C- Oxidase
CG11427	ruby	Intrazellulärer Transport/Endocytose
CG4183	Heat shock protein 26	Reaktion auf Temperatur-Reiz
CG6284	Sirt6	NAD ⁺ -abhängige Histondeacetylase
CG10653	hook	Intrazellulärer Transport/Endocytose
CG33336	p53	Einleitung der Apoptose in Reaktion auf DNA-Schäden
CG8280	Elongation factor 1alpha48D	Elongation der Translation
CG1560	mysospheroid	Organentwicklung
CG3035	carmine	Intrazellulärer Transport/Endocytose
CG8987	tamas	mitochondriale DNA-Polymerase
CG4460	Heat shock protein 22	Reaktion auf Hitze- / oxidativen Stress

In die Analyse wurden Gene, die in der 5'-UTR eine Bindungsstelle von H3K9ac mit einer FDR < 0,05 in 2 von 2 Versuchen aufwiesen. Dargestellt sind alle GO-Kategorien, die in diesem Datensatz statistisch signifikant ($p < 0,05$) gehäuft auftraten.

4 Diskussion

Im Rahmen dieser Arbeit sollten die physiologischen Funktionen zweier potentieller Langlebigkeitsgene, *Sir2* und *foxo*, im Fettgewebe von *Drosophila* charakterisiert werden. Zunächst wurde festgestellt, dass die moderate *Sir2*-Überexpression im adulten Fettkörper die Lebensspanne von weiblichen und männlichen Fliegen verlängert. Des Weiteren verbessert die *Sir2*-Überexpression die Hungerresistenz von Männchen, aber nicht die von Weibchen, und nimmt in beiden Geschlechtern keinen Einfluss auf die Fettspeicherung und das Körpergewicht. Die Fettkörper-spezifische Überexpression von *foxo* wirkt sich nicht (signifikant) auf die Fettspeicherung, das Körpergewicht und die Hungerresistenz von Männchen und Weibchen aus. Allerdings zeigten die *foxo*-überexprimierenden Männchen eine verbesserte Hungerresistenz, die in ihrem Ausmaß mit der von Männchen, die *Sir2* überexprimieren, vergleichbar ist.

Die durch die *Sir2*- bzw. *foxo*-Überexpression hervorgerufenen Änderungen im Transkriptom des Fettkörpers sind in quantitativer und qualitativer Hinsicht stark geschlechtsspezifisch. Einerseits ist die Anzahl der differentiell regulierten Gene nach *Sir2* sowie nach *foxo*-Überexpression in Weibchen deutlich höher als in Männchen. Andererseits ist die Überlappung der differentiell regulierten Gene zwischen Männchen und Weibchen innerhalb der einzelnen Interventionen gering. Nach *Sir2*-Überexpression treten die GO-Kategorien Fettsäuremetabolismus, Ribosom-Biogenese und Wnt-Signalweg in Weibchen signifikant gehäuft auf. Bei Männchen sind Nervensystem-assoziierte Prozesse und die cAMP-Biosynthese überrepräsentiert. Im Fettkörper-Transkriptom von Weibchen nach *foxo*-Überexpression traten der Notch-Signalweg und die Ribosom-Biogenese gehäuft auf, während in Männchen mit *foxo*-Überexpression die Biosynthese von Hormonen (Ecdyson, Juvenilhormon) und die Regulation der Transkription überrepräsentiert sind. Es ist auffällig, dass sich die Transkriptmuster, die durch *Sir2* bzw. *foxo* ausgelöst werden, besonders in Weibchen stark ähneln und dass außerdem die phänotypischen Beobachtungen zwischen beiden Interventionen vergleichbar sind. Deshalb sollte mithilfe der Immunhistochemie untersucht werden, ob die *Sir2*-Expression die zelluläre Lokalisation von FOXO beeinflusst. Hierbei wurde beobachtet, dass FOXO bereits unter Kontrollbedingungen kernständig ist und die *Sir2*-Überexpression die Lokalisation von FOXO nicht veränderte.

Um die Hypothese zu überprüfen, dass *Sir2* und/oder *foxo* die lebensverlängernde Wirkung von DR vermitteln, wurden die Transkriptmuster, die durch *Sir2* bzw. *foxo* hervorgerufen wurden, mit dem nach DR verglichen. Die Überschneidung zwischen den jeweiligen Genlisten ist sehr gering, außerdem wird durch das hierarchische Clustering der in *Sir2*-überexprimierenden Fliegen

und nach DR differentiell regulierten Gene deutlich, dass der Großteil der exprimierten Gene durch beide Interventionen invers reguliert wird. Zusammen mit dem Befund, dass DR die *Sir2*-mRNA-Expression nicht erhöht, weisen die Ergebnisse darauf hin, dass *Sir2* und *foxo* die Langlebigkeit durch Mechanismen vermitteln, die von DR unabhängig sind.

Außerdem sollte untersucht werden, welche Auswirkungen DR auf das genomweite Auftreten der Histonmodifikation H3K9ac als Beispiel für eine epigenetische Modifikation hat. Das Bindungsmuster von H3K9ac an den Transkriptionsstart von Genen ist in Weibchen und Männchen sehr unterschiedlich. Es zeigt sich allerdings in beiden Geschlechtern deutlich, dass DR das Auftreten dieser Modifikation am Transkriptionsstart erhöht. Schließt man vom Vorhandensein dieser Histonmodifikation auf aktive Transkription des Gens, so wird in Weibchen die Transkription von Genen, die für die Fortpflanzung wichtig sind, durch DR gehemmt. Hingegen wird die Transkription von Genen, deren Produkte an der Transkription, Translation und der Ribosomen-Biogenese beteiligt sind, begünstigt. In Männchen hemmt DR das Auftreten von H3K9ac an Genen, die in oxidative katabole Stoffwechselprozesse involviert sind und fördert sie vor allem an Genen, deren Produkte am Proteinabbau beteiligt sind. In Männchen ist nach DR des Weiteren ein Cluster von Genen, die mit Altersprozessen assoziiert sind, an H3K9ac gebunden.

4.1 *Sir2* und *foxo* als Kandidaten für Langlebigkeitsgene

4.1.1 Die *Sir2*-Überexpression im Fettkörper erhöht die Lebenserwartung von weiblichen und männlichen Fliegen

Die Frage, ob die Überexpression von *Sir2* die Lebenserwartung von Modellorganismen erhöhen kann, wird derzeit unter Altersforschern intensiv diskutiert (Couzin-Frankel, 2011). Im Rahmen dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass eine moderate Überexpression von *Sir2* im Fettkörper von adulten Tieren die Lebenserwartung von Weibchen und Männchen signifikant verlängert. Damit wird *Sir2* als Langlebigkeitsgen bestätigt.

Dieses Ergebnis ergänzt den Befund von Banerjee et al., die die *Sir2*-Überexpression im adulten Fettkörper mithilfe einer anderen *Sir2*-Responderlinie (*Sir2*^{EP2300}) erzielt haben (Banerjee, Ayyub, Ali et al., 2012). Es ist nicht völlig auszuschließen, dass die Überexpression mithilfe von *Sir2*^{EP2300} auch zur verstärkten Expression des Gens *dnaJ-H* führt, das scheinbar in *Sir2*-regulierte Prozesse eingreifen kann (Griswold et al., 2008). Da die hier verwendeten *UAS-Sir2*-Linie diesen potentiellen Störfaktor nicht aufweist (Griswold et al., 2008), kann der lebensverlängernde Effekt allein auf *Sir2* zurückgeführt werden.

Die Arbeit von Burnett und Co-Autoren, die *Sir2* konstitutiv und im gesamten Tier überexprimiert haben und keinen Einfluss auf die Lebenserwartung feststellen konnten, steht im Gegensatz zu den hier präsentierten Ergebnissen (Burnett et al., 2011). *Sir2* scheint aber im Rahmen seiner Bedeutung für das Stilllegen von Genen essentielle Funktionen während der Entwicklung auszuüben (Rosenberg et al., 2002), sodass die verstärkte Genexpression bereits während dieser sensiblen Phase durchaus mit den lebensverlängernden Effekten im adulten Stadium interferieren könnte. Außerdem ist denkbar, dass die Überexpression im gesamten Tier den gewebespezifischen Effekten, die *Sir2* im Nervensystem und im Fettkörper gezeigt hat, entgegenwirkt (Rogina et al., 2004; Bauer et al., 2009; Banerjee, Ayyub, Ali et al., 2012). Das Eintreten der Lebensverlängerung nach Überexpression von *Sir2* im Nervensystem oder im Fettkörper und das Ausbleiben dieses Effekts nach Überexpression im gesamten Tier oder in den Muskeln korreliert einerseits mit dem endogenen Expressionsmuster, da die *Sir2*-Expression im Nervensystem und im Fettkörper höher ist als in den anderen Geweben (Rogina et al., 2004). Andererseits deutet es daraufhin, dass die Steuerung der Lebenserwartung durch *Sir2* mit der Regulation von metabolischen Anpassungen einhergeht, die in *Drosophila* hauptsächlich durch diese beiden Organe vorgenommen werden.

4.1.2 *Sir2*- und *foxo*-Überexpression lösen ähnliche Phänotypen aus

Neben den lebensverlängernden Effekten der moderaten Überexpression von *Sir2* und *foxo* im adulten Fettkörper regulieren die beiden Gene die phänotypischen Parameter Fettspeicherung, Körpergewicht und Hungerresistenz auch auf sehr ähnliche Weise. Die Überexpression von *Sir2* bzw. *foxo* nimmt keinen Einfluss auf die Fettspeicherung und das Körpergewicht, zeigt aber eine geschlechtsspezifische Verbesserung der Hungerresistenz.

Der Befund, dass die *Sir2*-Überexpression keine sichtbare Veränderung des Körperfettgehalts sowie der Größe der Fettröpfchen induziert, kam unerwartet, da die Bedeutung von *Sirt1* für die Fettspeicherung in Säugern wiederholt beschrieben wurde (Houtkooper et al., 2012). Außerdem zeigten Studien mit *Sir2*- *knockout* bzw. RNA-Interferenz-vermitteltem *knockdown* in *Drosophila* Larven bzw. Adulten, einen deutlichen Anstieg des Fettgehalts der Tiere und beobachteten die *Sir2*-abhängige Regulation der Expression von Enzymen des Fettstoffwechsels (Reis et al., 2010; Banerjee, Ayyub, Sengupta et al., 2012). Zur Regulation der Fettspeicherung durch *foxo* liegen noch kaum Erkenntnisse vor, obwohl eine Beteiligung des Transkriptionsfaktors im Rahmen der Steuerung von metabolischen Funktionen unter Stressbedingungen denkbar ist. Die oben dargestellten Ergebnisse decken sich mit dem Befund, dass auch die Expression einer konstitutiv aktiven Form von FOXO im Fettkörper die Fettspeicherung unter basalen Bedingungen nicht beeinflusst (DiAngelo & Birnbaum, 2009; Banerjee et al., 2013). Allerdings kann nicht ausgeschlossen werden, dass der normalerweise verwendete Nachweis des Triacylglyceridgehalts nicht sensitiv genug ist, um leichte Veränderungen, die durch die moderate Überexpression der beiden Gene induziert werden, darzustellen. Angesichts der Ergebnisse der Hungerresistenzversuche wäre es sinnvoll, die *Sir2*- bzw. *foxo*-induzierten Veränderungen im Fettgehalt nach einer Hungerphase zu untersuchen.

Dass sowohl die *Sir2*- als auch die *foxo*-Überexpression das Überleben von Männchen unter strengen Hungerbedingungen verbessert, stimmt mit den Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen überein. So beeinträchtigte der *Sir2*-*knockdown* die Hungerresistenz von *Drosophila* und die Überexpression verbesserte sie (Banerjee, Ayyub, Sengupta et al., 2012; Banerjee et al., 2013), während *foxo* sich bereits als notwendig für die Resistenz gegenüber Aminosäuremangel herausgestellt hat (Kramer et al., 2008). Es scheint auf den ersten Blick überraschend, dass die Überexpression beider Gene nur in Männchen zum verlängerten Leben unter Hungerbedingungen führt. Weibchen überstehen strenge Hungerbedingungen allerdings auch unter Kontrollbedingungen (ohne genetische Manipulation) deutlich besser als Männchen, was dafür spricht, dass ihre Kapazität, auf widrige Umweltbedingungen zu reagieren, im Dienste ihrer

Funktion zur Eiproduktion bereits ausgeschöpft ist. In Männchen scheint hingegen die Überexpression von *Sir2* bzw. *foxo* im Fettkörper zur effizienteren Nutzung der vorhandenen Speicherstoffe Fett und/oder Glycogen zu führen. Der Befund, dass die *Sir2*-Überexpression die Stressresistenz geschlechtsspezifisch reguliert, während die Lebensspanne in beiden Geschlechtern verlängert wird, lässt vermuten, dass die Verbesserung der allgemeinen Stressresistenz nicht der (alleinige) Mechanismus ist, der zur Erhöhung der Lebenserwartung führt.

4.1.3 *Sir2* und *foxo* rufen ähnliche Genexpressionsmuster hervor

Die Transkriptmuster, die durch *Sir2* und *foxo* im Fettkörper induziert werden, sind sich besonders in Weibchen sehr ähnlich, zeigen aber große geschlechtsspezifische Unterschiede. Da *Sir2* und *foxo* die Langlebigkeit von Männchen und Weibchen fördern, wäre es folgerichtig, eine „genetische Signatur der Langlebigkeit“ in diesen 4 Gruppen zu suchen. Allerdings finden sich aufgrund der geschlechtsspezifischen Unterschiede nur drei Gene, die in den 4 Gruppen hoch reguliert werden. Neben CG4329 (involviert in die Wahrnehmung von Geräuschen) und CG86665 (unbekannte Funktion) ist *Got2*, das für die mitochondriale Aspartat-Aminotransferase (mASAT) codiert, hochreguliert. Die mASAT ist als Teil des Aspartat-Malat-Shuttles wichtig für den Austausch von Stoffwechsel-Intermediaten zwischen Cytosol und Mitochondrium (Lehninger et al., 2001). Neben dem Austausch von NADH, das während der Glycolyse im Cytosol entsteht, mit seiner oxidierten Form NAD^+ als Produkt der oxidativen Phosphorylierung im Mitochondrium ist es auch für die Bereitstellung von Oxalacetat für die Gluconeogenese verantwortlich. Der Befund von *Got2* als Zielgen von *Sir2* und *foxo* im Fettkörper liefert eine Erklärung für die verbesserte Hungerresistenz, da die Gluconeogenese Aufgabe des Fettkörpers unter Hungerbedingungen ist (Schlegel et al., 2007). Außerdem führte die Überexpression von Genen des Aspartat-Malat-Shuttles in Hefen, darunter auch das Homolog der mASAT, *Aat1*, auf *Sir2*-abhängige Weise zur Lebensverlängerung (Easlon et al., 2008). Es ist also lohnenswert zu überprüfen, ob die genetische Interaktion von *Sir2*, *foxo* und *Got2* auch in *Drosophila* eine Bedeutung für die Langlebigkeit hat.

Darüber hinaus ist bemerkenswert, dass *Got2* auch zu den korrespondierenden Genen von Lipidtröpfchen-assoziierten Proteinen gehört (Beller et al., 2006), die eine signifikante Überschneidung mit den nach *Sir2*-Überexpression differentiell regulierten Genen zeigte. Es ist unklar, ob das Protein als Teil des Proteinmantels von Lipidtröpfchen eine Funktion hat oder ob die Oberfläche dieser Zellorganellen generell als „Zwischenlager“ für Proteine dient, bevor sie ihre eigentliche Funktion einnehmen, wie es für Histone beschrieben wurde (Cermelli et al., 2006). Die signifikante Überschneidung von differentiell regulierten Genen nach *Sir2*-Überexpression und

den Genen, die für Proteine codieren, die mit Lipidtröpfchen assoziiert sind, ist auch dahingehend interessant, dass Lipidtröpfchen in verschiedene Altersprozesse involviert sind (Goldberg et al., 2009). Die hier präsentierten Ergebnisse bieten somit einen Ansatzpunkt, um die Interaktion von *Sir2* mit Lipidtröpfchen und ihre Bedeutung für altersbedingte Erkrankungen genauer zu untersuchen.

Um einen größeren Zusammenhang herzustellen und die Langlebigkeit von *Sir2*- bzw. *foxo*-überexprimierenden Fliegen nicht nur auf ein Zielgen zu reduzieren, wurde in den Datensätzen nach überrepräsentierten GO-Kategorien gesucht. In Weibchen mit *Sir2*- und *foxo*-Überexpression ist die Kategorie „Ribosom-Biogenese“ überrepräsentiert. Es ist bekannt, dass *Sir2/Sirt1* rDNA-Loci im Nucleolus stilllegt und so die Ribosom-Biogenese hemmt (Murayama et al., 2008). Offensichtlich reguliert *Sir2* zusätzlich auch ribosomale Proteine und rRNA-modifizierende Enzyme. Allerdings bleibt zu klären, ob dies über die Stilllegung der Genloci, über die Modulation von Transkriptionsfaktoren wie FOXO oder über sekundäre Reaktionen auf andere *Sir2*-induzierte Prozesse erreicht wird. Der Befund, dass die *foxo*-Überexpression im Fettkörper Komponenten der Ribosom-Biogenese hemmt, bestätigt Ergebnisse von Microarray-Analysen von *foxo-knockout*-Larven nach einer Hungerperiode, die Gene für ribosomale Proteine und der Translationskontrolle als Zielgene von *foxo* identifizierten (Teleman et al., 2008).

Die Ribosomen-Biogenese ist die Voraussetzung für das Zellwachstum (Lempiäinen & Shore, 2009) und einer der energieaufwändigsten Prozesse in der Zelle (Warner, 1999). Ebenso wie die *Sir2*- bzw. *foxo*-Überexpression resultiert die Hemmung des TOR-Signalweges in verminderter Ribosomen-Biogenese sowie verminderter Translation und führt zur Langlebigkeit (Kaeberlein & Kennedy, 2011). Es ist unklar, ob die verminderte Ribosomen-Biogenese der Schlüssel zur Langlebigkeit ist, allerdings wäre das Aufsparen/Nutzen von Energie für andere äußerst energieaufwändige Prozesse wie die Aufrechterhaltung einer starken Immunabwehr (Lochmiller & Deerenberg, 2000) oder der Reparatur von beschädigten Molekülen im Sinne der Evolutionstheorie des Alterns als Mechanismus der Lebensverlängerung denkbar (Kirkwood & Austad, 2000). Eine jüngere Hypothese sieht den Alterungsprozess als „Artefakt“, der nur bei Menschen und Labortieren auftritt, da alle anderen durch natürliche Feinde, Hunger oder andere unwirtliche Umweltbedingungen sterben bevor sie altern. Demzufolge wäre Altern eine „Hyperfunktion“ von Prozessen, die im jungen Organismus dem Wachstum und der Reproduktion dienen und später zu altersbedingten Krankheiten, die oft mit Hyperplasie und Hypertrophie einhergehen und dem Tod führen (Blagosklonny, 2007; Gems & Partridge, 2013). Auch im Sinne dieser Hypothese wäre die verminderte Biogenese durch Verzögerung des Wachstums eine Anti-Aging-Strategie.

Auffällig war außerdem, dass der Wnt- bzw. Notch-Signalweg in *Sir2* bzw. *foxo*-überexprimierenden Fliegen differentiell reguliert wurde. Die beiden Signalwege spielen im adulten Tier vor allem bei der Zelldifferenzierung eine wichtige Rolle und weisen ein hohes Maß an Interaktion auf (Andersson et al., 2011). Vor allem der Wnt-Signalweg ist bei der Entwicklung von Adipozyten aus mesenchymalen Stammzellen von essentieller Bedeutung (Tang & Lane, 2012). In *Drosophila* gibt es bisher keine Erkenntnisse zur Regulation dieser Signalwege durch *Sir2* oder *foxo*. Allerdings ist die Bindung von β -catenin an FOXO-Proteine und die Modulation der Expression von FOXO-Zielgenen unter oxidativem Stress in *C. elegans* und in humanen Zellen beschrieben worden (Essers et al., 2005). Weiterhin demonstriert eine Studie in *C. elegans* die genetische Interaktion von β -catenin und GSK3- β mit *sir2.1* und *daf-16* in einem Muskeldystrophie-Modell (Pasco et al., 2010). In Mäusen sind Verknüpfungen von Sirtuinen und dem Wnt-Signalweg vor allem im Rahmen der Tumorforschung beschrieben worden (Yi et al., 2010). Anhand der präsentierten Ergebnisse lässt sich ableiten, dass *Sir2* und *foxo* im Fettkörper Einfluss auf die Adipocytendifferenzierung nehmen können. Dies passt zu dem Befund, dass SIRT1 über PPAR- γ die Adipogenese hemmt (Picard et al., 2004). Abgesehen von seiner Funktion in der Zelldifferenzierung wurde die Bedeutung von β -catenin bzw. des Wnt-Signalweges in der Leber für die Glucosehomöostase wiederholt beschrieben (Liu et al., 2011; Lehwald et al., 2012). So könnte sich die Regulation der Wnt- und Notch-Signalwege durch *Sir2* bzw. *foxo* über die Steuerung der Adipozytendifferenzierung und des Glucose-Metabolismus auf die Lebenserwartung auswirken.

Während der Untersuchung der Auswirkungen der *Sir2*- bzw. *foxo*-Überexpression auf Änderungen der Genexpression im Fettkörper fielen deutliche geschlechtsspezifische Unterschiede auf. Diese geschlechtsspezifischen Ausprägungen der kurzfristigen Anpassungen stehen den geschlechterübergreifenden langfristigen Effekten auf die Lebenserwartung gegenüber. Ein Grund für die Unterschiede in den Genexpressionsmustern nach 24-stündiger *Sir2* bzw. *foxo*-Überexpression kann (neben dem bekannten Geschlechtsdimorphismus) in den zwischen Männchen und Weibchen leicht variierenden Überexpressionsniveaus liegen, die durch das GeneSwitch-System hervorgerufen werden. Es ist denkbar, dass sich die leichten Schwankungen in der Expressionsstärke der ektopisch exprimierten Gene zwar auf die *Dynamik* der Änderungen im Transkriptmuster von Männchen und Weibchen unterschiedlich auswirken, aber langfristig über ähnliche Mechanismen zum gleichen Phänotyp (der erhöhten Lebenserwartung) führen.

Die beachtliche Überschneidung der differentiell regulierten Gene nach *Sir2*- und *foxo*-Überexpression deuten darauf hin, dass die Produkte der beiden Gene eventuell im gleichen

Signalweg wirken, um die Lebenserwartung von *Drosophila* zu erhöhen. Da bekannt ist, dass FOXO ein Substrat der von SIR2 katalysierten Deacetylierungsreaktion ist, wurde überprüft, ob die *Sir2*-Überexpression die zelluläre Lokalisation des Transkriptionsfaktors beeinflusst. FOXO fand sich unter Kontrollbedingungen sowie nach *Sir2*-Überexpression teils im Zellkern und teils im Cytoplasma, was die Ergebnisse von Hwangbo et al. bestätigt, die eine leichte Kernständigkeit von FOXO im Fettkörper ebenfalls unter Kontrollbedingungen beobachteten (Hwangbo et al., 2004). Weiterhin spricht es dafür, dass die moderate *Sir2*-Überexpression nicht zur Förderung der Translokation von FOXO in den Zellkern beiträgt. Es bleibt allerdings nicht ausgeschlossen, dass *Sir2* die Wirkung von FOXO *im Zellkern* der Adipozyten beeinflusst. Die Aktivität des Transkriptionsfaktors wird über die Phosphorylierung von 8 Aminosäureresten und die Acetylierung von 5 Aminosäureresten äußerst komplex reguliert (Brunet et al., 2004). Es wurde wiederholt beschrieben, dass die Deacetylierung von FOXO-Proteinen durch das Säugetier-Homolog SIRT1 scheinbar abhängig vom Zielgen zur veränderten Bindung von FOXO an die jeweiligen Promotoren führt (Giannakou & Partridge, 2004). Für *Drosophila* wurde die genetische Interaktion von *Sir2* und *foxo* in der Regulation der Futteraufnahme, in der metabolischen Kontrolle und der Prävention der mitochondrialen Dysfunktion in einem Parkinson-Modell gezeigt (Koh et al., 2012; Hong et al., 2012; Banerjee et al., 2013). Abgesehen von der direkten Deacetylierung von FOXO durch SIR2 wurde als Mechanismus auch eine indirekte Erhöhung der FOXO-Aktivität durch die SIR2-vermittelte Reduktion der ILP(Insulin-like-peptide)-Sekretion in *Drosophila* vorgeschlagen (Banerjee et al., 2013). Die Bedeutung der genetischen Interaktion von *Sir2* und *foxo* ist im Hinblick auf die Lebenserwartung bisher nur in *C. elegans* untersucht worden. Es wurde gezeigt, dass die durch Duplikation oder stabile Transfektion von *sir2.1* induzierte Lebensverlängerung durch den gleichzeitigen *knockout* von *daf-16* verhindert wird (Tissenbaum et al., 2001). Außerdem war die Erhöhung der Lebenserwartung von Würmern, die in NAD⁺-haltigem Medium gezüchtet wurden, von *sir2.1* und *daf-16* abhängig (Hashimoto et al., 2010). Die hier präsentierten Ergebnisse sowie die publizierten Interaktionen von *Sir2* und *foxo* bzw. ihrer Homologe lassen auf eine Verknüpfung der beiden Kandidaten bei der Lebensverlängerung schließen. Somit wäre es sinnvoll, diese Interaktion in *Drosophila* auf Gen- und Protein-Ebene genauer zu untersuchen.

Ausgehend von den Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen, die *Sir2* als Vermittler der Lebensverlängerung durch DR vorschlugen (Rogina et al., 2004; Banerjee, Ayyub, Ali et al., 2012), wurden die Transkriptmuster des Fettkörpers nach *Sir2*-Überexpression und nach DR verglichen. Die Überlappung der differentiell regulierten Gene war äußerst gering und anhand des hierarchischen *Clusterings* ist weiterhin ersichtlich, dass ein Großteil der Gene durch die beiden Interventionen

invers reguliert wird. Des Weiteren zeigt die *Sir2*-mRNA im Fettkörper und im gesamten Tier nach DR keine veränderte Expression. Damit widersprechen die Ergebnisse dieser Arbeit der Hypothese, dass *Sir2* durch DR aktiviert wird und zur beobachteten Lebensverlängerung führt. Gründe für die unterschiedlichen Ergebnisse können in unterschiedlichen Ernährungsregimen und Futterzubereitungen liegen. Die bisher publizierten Arbeiten zu dieser Fragestellung sind allerdings in ihrer Gesamtheit keineswegs eindeutig, so reihen sich die hier präsentierten Ergebnisse in einen Kanon von nicht einheitlichen Befunden in Hefen (Lin et al., 2000; Kaeberlein et al., 2004; Lamming et al., 2005; Kaeberlein et al., 2006), Fliegen (Rogina et al., 2004; Burnett et al., 2011; Banerjee, Ayyub, Ali et al., 2012) und Mäusen (Boily et al., 2008; Chen et al., 2008) ein.

Ähnlich wie für *Sir2* wies auch das Genexpressionsmuster von *foxo*-überexprimierenden Fliegen kaum Übereinstimmungen mit dem nach DR auf. Dies bestätigt die Ergebnisse zweier Studien, die zeigen, dass *foxo* in *Drosophila* für die DR-Antwort nicht notwendig ist, sie aber modulieren kann (Giannakou et al., 2008; Min et al., 2008). In *C. elegans* sind die Ergebnisse zur Beteiligung von *daf-16* an der DR-Antwort widersprüchlich, was wahrscheinlich auf sehr unterschiedliche Protokolle zur Applikation der DR zurückzuführen ist (Greer et al., 2009). Zusammengenommen deuten die Ergebnisse dieser Arbeit darauf hin, dass *Sir2* und *foxo* über einen gemeinsamen Signalweg aber unabhängig von DR zur Erhöhung der Lebenserwartung von *Drosophila* führen.

4.2 Einfluss der DR auf die epigenetische Regulation

4.2.1 DR führt zur Hyperacetylierung von H3K9

Mithilfe der ChIP-Chip-Technologie wurde das genomweite Auftreten von H3K9ac am Transkriptionsstart von proteincodierenden Genen nach DR untersucht. Unabhängig von qualitativen Unterschieden fiel zunächst auf, dass nach DR deutlich mehr Gene die gesuchte Histonmodifikation aufwiesen als unter Kontrollbedingungen. Es ist bereits mehrfach gezeigt worden, dass der Ernährungsstatus einen Einfluss auf die (globale) Histonacetylierung nimmt (Pham & Lee, 2012). Eine mögliche Erklärung könnte die Hemmung der HDACs durch endogenes β -Hydroxybutyrat sein, ein Ketonkörper, der unter Hungerbedingungen die Energieversorgung des Gehirns sicherstellt. Das chemisch verwandte Butyrat ist seit langem als Hemmer der klassischen HDACs (nicht der Sirtuine) bekannt (Boffa et al., 1978; Barlow et al., 2001). Eine aktuelle Studie berichtet, dass Mäuse nach einer 24 h-Hungerperiode und auch nach 6-monatiger CR erhöhte β -Hydroxybutyrat-Blutspiegel hatten und die Acetylierung von u. a. H3K9 im Nierengewebe stark erhöht war (Shimazu et al., 2013). Die Autoren zeigten weiterhin, dass β -Hydroxybutyrat ein endogener HDAC-Hemmer ist und die Konzentrationen, die in Hunger- oder CR-Phasen erreicht werden, zur signifikanten Hemmung der Enzymaktivität ausreichen. In Reaktion auf Hungerperioden werden in den Oenocyten der Fliegen ebenfalls Ketonkörper produziert (Schlegel et al., 2007), so dass diesem Befund durchaus ein analoger Mechanismus zugrunde liegen könnte.

Der Acetylierungsstatus von Histonen hat eine wesentliche Bedeutung für die Tumorgenese, da die Hypoacetylierung von Promotoren von Tumorsuppressorgenen zu deren Stilllegung führt. Deshalb sind derzeit HDAC-Inhibitoren als Adjuvantien in der Krebstherapie in der präklinischen und klinischen Testphase (Marks, 2010). Als Alternative zur Behandlung mit HDAC-Inhibitoren, die unerwünschte Nebenwirkungen birgt, würde sich eine DR / CR anbieten, nachdem die genaueren Wirkmechanismen und Zielgene der Hyperacetylierung nach DR aufgeklärt worden ist. Mit den Tumorsuppressorgen *p53* liefern die Ergebnisse dieser Arbeit bereits einen Kandidaten, dessen Transkriptionsstart nach DR erhöhte Acetylierung an H3K9 aufwies.

Es wurde postuliert, dass *Sir2* als Histondeacetylase über epigenetische Mechanismen zur Erhöhung der Lebenserwartung durch DR beiträgt (Li et al., 2011; Ford et al., 2011). Dementsprechend wäre zu erwarten, dass DR eher zu einer Hypoacetylierung führt. Die hier präsentierten Ergebnisse, die die Hyperacetylierung von H3K9 nach DR in Weibchen und Männchen zeigen, machen diese Hypothese unwahrscheinlich.

4.2.2 Epigenetische Anpassungen an DR

In dem Datensatz von Genen, die in Weibchen nur unter Kontrollbedingungen an H3K9ac gebunden vorlagen, wurde ein großer Cluster durch GO-Kategorien, die mit Fortpflanzung und Entwicklung zusammenhängen, gebildet. Dies lässt darauf schließen, dass Gene, die für diese Prozesse wichtig sind, unter DR transkriptionell inaktiviert werden. Die Ereignisse auf epigenetischer Ebene spiegeln damit die Anpassungen an die verringerte Nahrungszufuhr wider, denn es wurde wiederholt beobachtet, dass Fliegen ihre Reproduktionsrate unter DR verringern (Mair et al., 2004; Burger et al., 2007). Der Effekt dieser Anpassung wurde aus der Perspektive der Evolutionstheorie des Alterns (Kirkwood et al., 2000) als möglicher Mechanismus zur Lebensverlängerung diskutiert. Der Theorie zufolge würden Organismen vorhandene Ressourcen auf die Aufrechterhaltung der Körperfunktionen und die Fortpflanzung verteilen. Dabei würden während der reproduktiven Phase somatische Schäden gesetzt, die nicht (vollständig) repariert werden können und zur Alterung führen (Tatar, 2011). Jedoch wird die Lebensspanne von nicht fertilen *Drosophila*-Weibchen durch DR verlängert, was die verringerte Reproduktionsrate als Erklärung für die erhöhte Lebenserwartung ausschließt (Mair et al., 2004).

Ein auf den ersten Blick widersprüchlicher Befund ist das gehäufte Auftreten der GO-Kategorien „Translation“ und „Ribosomen-Biogenese“ in Weibchen nach DR, da die klassische Antwort auf Aminosäuremangel (wie durch das angewandte DR-Protokoll ausgelöst) die Abregulation der energieaufwändigen Proteinbiosynthese ist. Die genauere Betrachtung der zugehörigen Gene, die an H3K9ac gebunden waren, löst diesen Widerspruch größtenteils auf, denn neben den Genen, die für Proteine der cytoplasmatischen Ribosom-Untereinheiten codieren, macht die Hälfte der GO-Kategorie Gene aus, die für Proteine der mitochondrialen Ribosom-Untereinheiten und einen mitochondrialen Elongationsfaktor codieren. DR scheint in Weibchen also die epigenetischen Voraussetzungen für die mitochondriale Proteinbiosynthese zu verbessern. Dies deckt sich mit den Ergebnissen einer Studie, die zeigen, dass DR über 4E-BP (*eukaryotic initiation factor 4 binding protein*) die mitochondriale Biogenese erhöht. Weiterhin beeinträchtigte der RNA-Interferenz-vermittelte *knockdown* von Genen der Elektronentransportkette (die von der mitochondrialen DNA codiert werden) die DR-vermittelte Verlängerung der Lebensspanne (Zid et al., 2009).

In Männchen nimmt der Proteinabbau den überwiegenden Teil der nur nach DR an H3K9ac gebundenen Gene ein. Der Zusammenhang zwischen Proteinhomöostase und Alterungsprozessen ist hinlänglich bekannt. So sinkt die Proteasom-Aktivität mit steigendem Alter, was mit der Akkumulation und ggf. Aggregation von (nicht funktionellen) Proteinen in der Zelle einhergeht

(Merker et al., 2001). Die altersabhängige Verminderung der Proteasomaktivität wurde auch in *Drosophila* nachgewiesen (Vernace et al., 2007). In Übereinstimmung mit diesen Erkenntnissen verlängert die erhöhte Proteasomaktivität die replikative Lebensspanne von *Saccharomyces cerevisiae* (Kruegel et al., 2011). Darüber hinaus war die Proteasom-Aktivität in Fibroblastenkulturen aus gesunden Hundertjährigen auf dem Niveau von jungen Spendern (Chondrogianni et al., 2000). Es ist bisher nicht untersucht worden, ob DR in *Drosophila* zu einer Erhöhung des Proteinabbaus oder der Autophagie führt. Jedoch ist es angesichts der Tatsache, dass der TOR-Signalweg in den meisten Studien an der Vermittlung der DR-Effekte beteiligt ist, sehr wahrscheinlich (Partridge et al., 2011). Belegt wird diese Hypothese neben den Ergebnissen dieser Arbeit durch eine DR-Studie in Ratten, die nach einer kalorischen Restriktion von einem Jahr eine deutlich höhere Kapazität zur Hunger-induzierten Autophagie aufwies (Del Roso et al., 2003). Außerdem zeigten zwei Studien in *C. elegans*, dass der *knockdown* von Genen, die an der Initiierung der Autophagie beteiligt sind, die DR-induzierte Lebensverlängerung verhinderten (Jia & Levine; Hansen et al., 2008).

Des Weiteren ist nach DR ein Cluster von Genen, die bereits mit Altersprozessen in Verbindung gebracht werden, überrepräsentiert. Darunter finden sich u. a. Gene für Hitzeschockproteine, die Cytochrom-C-Oxidase und das Sirtuin *Sirt6*. Es sollte in folgenden Versuchen geklärt werden, ob diese vielversprechenden Kandidaten nach DR auch eine verstärkte Expression auf mRNA- und Proteinebene zeigen. Im nächsten Schritt könnte ihre Bedeutung für die DR-vermittelte Erhöhung der Lebenserwartung durch Überexpression und RNA-Interferenz im Lebensdauerversuch analysiert werden.

Die epigenetischen Anpassungen an DR zeigen einen deutlichen Geschlechtsdimorphismus, der sich allerdings auch im Phänotyp niederschlägt. Weibchen verwenden im Gegensatz zu Männchen einen Großteil der vorhandenen Ressourcen für die Eiproduktion und stellen diese unter unwirtschaftlichen Bedingungen weitestgehend ein (vgl. oben). Deshalb nehmen GO-Kategorien, die mit Fortpflanzung und Entwicklung assoziiert sind, in Weibchen einen Großteil der signifikant gehäuft auftretenden GO-Kategorien ein. In Männchen sind sehr viele GO-Kategorien, die in den Proteinabbau involviert sind, überrepräsentiert, die nicht in den Proben von Weibchen detektiert wurden. Dies deckt sich mit Ergebnissen, die zeigen, dass die Proteasomaktivität von Männchen und Weibchen unterschiedlich hoch ist und in alternden bzw. stressresistenten Fliegen geschlechtsspezifisch reguliert wird (Hansen et al., 2012).

Aus den hier präsentierten Ergebnissen zur epigenetischen Regulation unter DR kann geschlossen werden, dass DR-induzierte Änderungen der Physiologie, wie die verminderte Fertilität und der

erhöhte Proteinabbau, auf epigenetischer Ebene eingeleitet werden. Darüber hinaus bieten die Ergebnisse einen Ausgangspunkt, um den Effekt der DR auf die Proteasomaktivität und seine Bedeutung für die DR-vermittelte Lebensverlängerung in *Drosophila* genauer zu untersuchen.

4.2.3 Fazit und Ausblick

Ziel dieser Arbeit war es, die Auswirkungen der Überexpression der beiden Kandidaten für Langlebigkeitsgene, *Sir2* und *foxo*, im Fettkörper von adulten Fliegen auf die Lebensdauer, Hungerresistenz und die Genexpression des Fettkörpers zu charakterisieren. Es konnte gezeigt werden, dass die moderate Überexpression von *Sir2* im adulten Fettkörper die Lebensspanne von weiblichen und männlichen Fliegen um ca. 13 % erhöht. Damit wird das kontrovers diskutierte Gen als Langlebigkeitsgen bestätigt.

Darüber hinaus wird anhand der Ergebnisse dieser Arbeit postuliert, dass *Sir2* und *foxo* über einen gemeinsamen Signalweg, aber unabhängig von den Mechanismen agieren, durch die DR zur Lebensverlängerung führt. Dies wird aus den großen Überschneidungen der Genexpressionsdaten sowie der durch die Überexpression beider Gene hervorgerufenen Phänotypen geschlossen. Die Interaktion der Gene und ihrer Produkte sollte in weiterführenden Experimenten auf ihre Bedeutung für die Langlebigkeit hin untersucht werden. Ansatzpunkte hierfür bieten gemeinsame Zielgene wie *Got2* bzw. gemeinsam regulierte zelluläre Prozesse, wie die Ribosom-Biogenese oder der Wnt- und der Notch-Signalweg.

Ein weiteres Ziel der Arbeit war die Charakterisierung der epigenetischen Anpassung an DR. Dies wurde durch die Analyse des genomweiten Bindungsverhaltens von H3K9ac als Beispiel für eine Histonmodifikation, die mit aktiver Transkription assoziiert ist, untersucht. Es zeigte sich deutlich, dass DR zur allgemeinen Verstärkung der Acetylierung von H3K9 führte. Daraus ergibt sich eine Indikation der DR als unterstützende Behandlung von Tumoren, da hier häufig eine Hypoacetylierung von Tumorsuppressorgenen beobachtet wird. Darüber hinaus weisen die Ergebnisse der DR-induzierten Änderung des Bindungsverhaltens von H3K9ac auf eine prominente Rolle des Proteinabbaus als Reaktion auf DR hin, der auch aus der Perspektive aktueller Theorien zum Alterungsprozess als Mechanismus der DR-induzierten Erhöhung der Lebenserwartung sehr vielversprechend ist.

Literaturverzeichnis

- Adams, M. D., Celniker, S. E., Holt, R. A., Evans, C. A., Gocayne, J. D., Amanatides, P. G., Scherer, S. E., Li, P. W., Hoskins, R. A., Galle, R. F., George, R. A., Lewis, S. E., Richards, S., Ashburner, M., Henderson, S. N., Sutton, G. G., Wortman, J. R., Yandell, M. D., Zhang, Q., Chen, L. X., Brandon, R. C. et al. (2000). The genome sequence of *Drosophila melanogaster*. *Science*, 287, 2185–95.
- Agalioti, T., Chen, G. & Thanos, D. (2002). Deciphering the transcriptional histone acetylation code for a human gene. *Cell*, 111, 381–92.
- Albani, D., Polito, L. & Forloni, G. (2010). Sirtuins as novel targets for Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders: experimental and genetic evidence. *Journal of Alzheimer's Disease : JAD*, 19, 11–26.
- Andersson, E. R., Sandberg, R. & Lendahl, U. (2011). Notch signaling: simplicity in design, versatility in function. *Development*, 138, 3593–612.
- Anselmi, C. V., Malovini, A., Roncarati, R., Novelli, V., Villa, F., Condorelli, G., Bellazzi, R. & Puca, A. A. (2009). Association of the FOXO3A locus with extreme longevity in a southern Italian centenarian study. *Rejuvenation Research*, 12, 95–104.
- Apfeld, J. & Kenyon, C. (1999). Regulation of lifespan by sensory perception in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 402, 804–9.
- Arrese, E. L. & Soulages, J. L. (2010). Insect fat body: energy, metabolism, and regulation. *Annual Review of Entomology*, 55, 207–25.
- Ashburner, M., Ball, C. A., Blake, J. A., Botstein, D., Butler, H., Cherry, J. M., Davis, A. P., Dolinski, K., Dwight, S. S., Eppig, J. T., Harris, M. A., Hill, D. P., Issel-Tarver, L., Kasarskis, A., Lewis, S., Matese, J. C., Richardson, J. E., Ringwald, M., Rubin, G. M. & Sherlock, G. (2000). Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium. *Nature Genetics*, 25, 25–9.
- Atzmon, G., Rincon, M., Rabizadeh, P. & Barzilai, N. (2005). Biological evidence for inheritance of exceptional longevity. *Mechanisms of Ageing and Development*, 126, 341–5.
- Banerjee, K. K., Ayyub, C., Sengupta, S. & Kolthur-Seetharam, U. (2012). *dSir2* deficiency in the fatbody, but not muscles, affects systemic insulin signaling, fat mobilization and starvation survival in flies. *Aging*, 4, 206–23.
- Banerjee, K. K., Ayyub, C., Ali, S. Z., Mandot, V., Prasad, N. G. & Kolthur-Seetharam, U. (2012). *dSir2* in the Adult Fat Body, but Not in Muscles, Regulates Life Span in a Diet-Dependent Manner. *Cell Reports*, 2, 1485–91.
- Banerjee, K. K., Ayyub, C., Sengupta, S. & Kolthur-Seetharam, U. (2013). Fat body *dSir2* regulates muscle mitochondrial physiology and energy homeostasis nonautonomously and mimics the autonomous functions of *dSir2* in muscles. *Molecular and Cellular Biology*, 33, 252–64.

- Banks, A. S., Kon, N., Knight, C., Matsumoto, M., Gutiérrez-Juárez, R., Rossetti, L., Gu, W. & Accili, D. (2008). SirT1 gain of function increases energy efficiency and prevents diabetes in mice. *Cell Metabolism*, 8, 333–41.
- Barlow, A. L., Van Druenen, C. M., Johnson, C. A., Tweedie, S., Bird, A. & Turner, B. M. (2001). dSIR2 and dHDAC6: two novel, inhibitor-resistant deacetylases in *Drosophila melanogaster*. *Experimental Cell Research*, 265, 90–103.
- Bauer, J. H., Morris, S. N. S., Chang, C., Flatt, T., Wood, J. G. & Helfand, S. L. (2009). dSir2 and Dmp53 interact to mediate aspects of CR-dependent lifespan extension in *D. melanogaster*. *Aging*, 1, 38–48.
- Baur, J. A., Chen, D., Chini, E. N., Chua, K., Cohen, H. Y., De Cabo, R., Deng, C., Dimmeler, S., Gius, D., Guarente, L. P., Helfand, S. L., Imai, S.-I., Itoh, H., Kadowaki, T., Koya, D., Leeuwenburgh, C., McBurney, M., Nabeshima, Y.-I., Neri, C., Oberdoerffer, P., Pestell, R. G., Rogina, B., Sadoshima, J., Sartorelli, V., Serrano, M., Sinclair, D. A., Steegborn, C., Tatar, M., Tissenbaum, H. A., Tong, Q., Tsubota, K., Vaquero, A. & Verdin, E. (2010). Dietary restriction: standing up for sirtuins. *Science*, 329, 1012–3; author reply 1013–4.
- Beller, M., Riedel, D., Jänsch, L., Dieterich, G., Wehland, J., Jäckle, H. & Kühnlein, R. P. (2006). Characterization of the *Drosophila* lipid droplet subproteome. *Molecular & Cellular Proteomics : MCP*, 5, 1082–94.
- Beske, F. (2012). Pressemitteilung des Instituts für Gesundheits-System-Forschung.
- Blagosklonny, M. V. (2010). Calorie restriction: decelerating mTOR-driven aging from cells to organisms (including humans). *Cell Cycle*, 9, 683–8.
- Blagosklonny, M. V. (2007). Paradoxes of aging. *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)*, 6, 2997–3003.
- Boffa, L. C., Vidali, G., Mann, R. S. & Allfrey, V. G. (1978). Suppression of histone deacetylation *in vivo* and *in vitro* by sodium butyrate. *The Journal of Biological Chemistry*, 253, 3364–6.
- Boily, G., Seifert, E. L., Bevilacqua, L., He, X. H., Sabourin, G., Estey, C., Moffat, C., Crawford, S., Saliba, S., Jardine, K., Xuan, J., Evans, M., Harper, M.-E. & McBurney, M. W. (2008). SirT1 regulates energy metabolism and response to caloric restriction in mice. *PLoS One*, 3, e1759.
- Bordone, L., Motta, M. C., Picard, F., Robinson, A., Jhala, U. S., Apfeld, J., McDonagh, T., Lemieux, M., McBurney, M., Szilvasi, A., Easlson, E. J., Lin, S.-J. & Guarente, L. (2006). Sirt1 regulates insulin secretion by repressing UCP2 in pancreatic beta cells. *PLoS Biology*, 4, e31.
- Bordone, L., Cohen, D., Robinson, A., Motta, M. C., Van Veen, E., Czopik, A., Steele, A. D., Crowe, H., Marmor, S., Luo, J., Gu, W. & Guarente, L. (2007). SIRT1 transgenic mice show phenotypes resembling calorie restriction. *Aging Cell*, 6, 759–67.
- Le Bourg, E. & Minois, N. (1996). Failure to confirm increased longevity in *Drosophila melanogaster* submitted to a food restriction procedure. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 51, B280–3.
- Brand, A. H. & Perrimon, N. (1993). Targeted gene expression as a means of altering cell fates and generating dominant phenotypes. *Development*, 118, 401–15.

- Brunet, A. (2012). [Aging and the control of the insulin-FOXO signaling pathway]. *Médecine Sciences : M/S*, 28, 316–20.
- Brunet, A., Sweeney, L. B., Sturgill, J. F., Chua, K. F., Greer, P. L., Lin, Y., Tran, H., Ross, S. E., Mostoslavsky, R., Cohen, H. Y., Hu, L. S., Cheng, H.-L., Jedrychowski, M. P., Gygi, S. P., Sinclair, D. A., Alt, F. W. & Greenberg, M. E. (2004). Stress-dependent regulation of FOXO transcription factors by the SIRT1 deacetylase. *Science*, 303, 2011–5.
- Burcin, M. M., Schiedner, G., Kochanek, S., Tsai, S. Y. & O'Malley, B. W. (1999). Adenovirus-mediated regulable target gene expression *in vivo*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96, 355–60.
- Burger, J. M. S., Hwangbo, D. S., Corby-Harris, V. & Promislow, D. E. L. (2007). The functional costs and benefits of dietary restriction in *Drosophila*. *Aging Cell*, 6, 63–71.
- Burnett, C., Valentini, S., Cabreiro, F., Goss, M., Somogyvári, M., Piper, M. D., Hoddinott, M., Sutphin, G. L., Leko, V., McElwee, J. J., Vazquez-Manrique, R. P., Orfila, A.-M., Ackerman, D., Au, C., Vinti, G., Riesen, M., Howard, K., Neri, C., Bedalov, A., Kaeberlein, M., Soti, C., Partridge, L. & Gems, D. (2011). Absence of effects of *Sir2* overexpression on lifespan in *C. elegans* and *Drosophila*. *Nature*, 477, 482–5.
- Cantó, C. & Auwerx, J. (2011). Calorie restriction: is AMPK a key sensor and effector? *Physiology*, 26, 214–24.
- Cermelli, S., Guo, Y., Gross, S. P. & Welte, M. A. (2006). The lipid-droplet proteome reveals that droplets are a protein-storage depot. *Current Biology : CB*, 16, 1783–95.
- Chandler, S. J. & Weisstein, E. W. (2012). “The Perfect Venn Diagramm” from the Wolfram Demonstrations Project.
- Chen, D., Bruno, J., Easlson, E., Lin, S.-J., Cheng, H.-L., Alt, F. W. & Guarente, L. (2008). Tissue-specific regulation of SIRT1 by calorie restriction. *Genes & Development*, 22, 1753–7.
- Chondrogianni, N., Petropoulos, I., Franceschi, C., Friguet, B. & Gonos, E. S. (2000). Fibroblast cultures from healthy centenarians have an active proteasome. *Experimental Gerontology*, 35, 721–8.
- Chouliaras, L., Van den Hove, D. L. A., Kenis, G., Dela Cruz, J., Lemmens, M. A. M., Van Os, J., Steinbusch, H. W. M., Schmitz, C. & Rutten, B. P. F. (2011). Caloric restriction attenuates age-related changes of DNA methyltransferase 3a in mouse hippocampus. *Brain, Behavior, and Immunity*, 25, 616–23.
- Colman, R. J., Anderson, R. M., Johnson, S. C., Kastman, E. K., Kosmatka, K. J., Beasley, T. M., Allison, D. B., Cruzen, C., Simmons, H. A., Kemnitz, J. W. & Weindruch, R. (2009). Caloric restriction delays disease onset and mortality in rhesus monkeys. *Science*, 325, 201–4.
- Couzin-Frankel, J. (2011). Genetics. Aging genes: the sirtuin story unravels. *Science*, 334, 1194–8.
- Daitoku, H. & Fukamizu, A. (2007). FOXO transcription factors in the regulatory networks of longevity. *Journal of Biochemistry*, 141, 769–74.

- Dali-Youcef, N., Lagouge, M., Froelich, S., Koehl, C., Schoonjans, K. & Auwerx, J. (2007). Sirtuins: the “magnificent seven”, function, metabolism and longevity. *Annals of Medicine*, 39, 335–45.
- DiAngelo, J. R. & Birnbaum, M. J. (2009). Regulation of fat cell mass by insulin in *Drosophila melanogaster*. *Molecular and Cellular Biology*, 29, 6341–52.
- Duffy, J. B. (2002). GAL4 system in *Drosophila*: a fly geneticist’s Swiss army knife. *Genesis*, 34, 1–15.
- Easlou, E., Tsang, F., Skinner, C., Wang, C. & Lin, S.-J. (2008). The malate-aspartate NADH shuttle components are novel metabolic longevity regulators required for calorie restriction-mediated life span extension in yeast. *Genes & Development*, 22, 931–44.
- Elgin, C. R. & Reuter, G. (2007). Position-Effect Variegation, Heterochromatin Formation, and Gene Silencing in *Drosophila*. In C. D. Allis, T. Jenuwein, D. Reinberg, & M.-L. Caparros (Eds.), *Epigenetics* (pp. 81–100). Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Essers, M. A. G., De Vries-Smits, L. M. M., Barker, N., Polderman, P. E., Burgering, B. M. T. & Korswagen, H. C. (2005). Functional interaction between beta-catenin and FOXO in oxidative stress signaling. *Science (New York, N.Y.)*, 308, 1181–4.
- Flachsbart, F., Caliebe, A., Kleindorp, R., Blanché, H., Von Eller-Eberstein, H., Nikolaus, S., Schreiber, S. & Nebel, A. (2009). Association of FOXO3A variation with human longevity confirmed in German centenarians. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106, 2700–5.
- Fontana, L., Partridge, L. & Longo, V. D. (2010). Extending healthy life span—from yeast to humans. *Science*, 328, 321–6.
- Ford, D., Ions, L. J., Alatawi, F. & Wakeling, L. A. (2011). The potential role of epigenetic responses to diet in ageing. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 70, 374–84.
- Frye, R. A. (2000). Phylogenetic classification of prokaryotic and eukaryotic *Sir2*-like proteins. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 273, 793–8.
- Gems, D. & Partridge, L. (2013). Genetics of longevity in model organisms: debates and paradigm shifts. *Annual Review of Physiology*, 75, 621–44.
- Ghelelovitch, S. (1954). [Effect of nutritional restriction on the development of hereditary tumors in *Drosophila melanogaster* Meig]. *Comptes Rendus Hebdomadaires Des Séances De l’Académie Des Sciences*, 238, 1545–7.
- Giannakou, M. E., Goss, M., Jacobson, J., Vinti, G., Leivers, S. J. & Partridge, L. (2007). Dynamics of the action of dFOXO on adult mortality in *Drosophila*. *Aging Cell*, 6, 429–38.
- Giannakou, M. E., Goss, M., Jünger, M. A., Hafen, E., Leivers, S. J. & Partridge, L. (2004). Long-lived *Drosophila* with overexpressed dFOXO in adult fat body. *Science*, 305, 361.

- Giannakou, M. E., Goss, M. & Partridge, L. (2008). Role of dFOXO in lifespan extension by dietary restriction in *Drosophila melanogaster*: not required, but its activity modulates the response. *Aging Cell*, 7, 187–98.
- Giannakou, M. E. & Partridge, L. (2004). The interaction between FOXO and SIRT1: tipping the balance towards survival. *Trends in Cell Biology*, 14, 408–12.
- Goldberg, A. A., Bourque, S. D., Kyryakov, P., Boukh-Viner, T., Gregg, C., Beach, A., Burstein, M. T., Machkalyan, G., Richard, V., Rampersad, S. & Titorenko, V. I. (2009). A novel function of lipid droplets in regulating longevity. *Biochemical Society Transactions*, 37, 1050–5.
- Gottschling, D. E. (2007). Epigenetics: From Phenomenon to Field. In C. D. Allis, T. Jenuwein, D. Reinberg, & M.-L. Caparros (Eds.), *Epigenetics* (pp. 1–13). Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Greer, E. L., Banko, M. R. & Brunet, A. (2009). AMP-activated protein kinase and FoxO transcription factors in dietary restriction-induced longevity. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1170, 688–92.
- Griswold, A. J., Chang, K. T., Runko, A. P., Knight, M. A. & Min, K.-T. (2008). *Sir2* mediates apoptosis through JNK-dependent pathways in *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105, 8673–8.
- Grossniklaus, U. & Paro, R. (2007). Transcriptional Regulation by Trithorax Group Proteins. In C. D. Allis, T. Jenuwein, D. Reinberg, & M.-L. Caparros (Eds.), *Epigenetics* (pp. 211–230). Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Hansen, M., Chandra, A., Mitic, L. L., Onken, B., Driscoll, M. & Kenyon, C. (2008). A role for autophagy in the extension of lifespan by dietary restriction in *C. elegans*. *PLoS Genetics*, 4, e24.
- Hansen, T. O., Sarup, P., Loeschcke, V. & Rattan, S. I. S. (2012). Age-related and sex-specific differences in proteasome activity in individual *Drosophila* flies from wild type, longevity-selected and stress resistant strains. *Biogerontology*, 13, 429–38.
- Hashimoto, T., Horikawa, M., Nomura, T. & Sakamoto, K. (2010). Nicotinamide adenine dinucleotide extends the lifespan of *Caenorhabditis elegans* mediated by sir-2.1 and daf-16. *Biogerontology*, 11, 31–43.
- Hass, B. S., Hart, R. W., Lu, M. H. & Lyn-Cook, B. D. (1993). Effects of caloric restriction in animals on cellular function, oncogene expression, and DNA methylation *in vitro*. *Mutation Research*, 295, 281–9.
- Herranz, D., Muñoz-Martin, M., Cañamero, M., Mulero, F., Martinez-Pastor, B., Fernandez-Capetillo, O. & Serrano, M. (2010). Sirt1 improves healthy ageing and protects from metabolic syndrome-associated cancer. *Nature Communications*, 1, 3.
- Hildebrandt, A., Bickmeyer, I. & Kühnlein, R. P. (2011). Reliable *Drosophila* body fat quantification by a coupled colorimetric assay. *PLoS One*, 6, e23796.

- Hong, S.-H., Lee, K.-S., Kwak, S.-J., Kim, A.-K., Bai, H., Jung, M.-S., Kwon, O.-Y., Song, W.-J., Tatar, M. & Yu, K. (2012). Minibrain/Dyrk1a Regulates Food Intake through the Sir2-FOXO-sNPF/NPY Pathway in *Drosophila* and Mammals (P. Kapahi, Ed.). *PLoS Genetics*, 8, e1002857.
- Hotamisligil, G. S. (2006). Inflammation and metabolic disorders. *Nature*, 444, 860–7.
- Houtkooper, R. H., Pirinen, E. & Auwerx, J. (2012). Sirtuins as regulators of metabolism and healthspan. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 13, 225–38.
- Huang, D. W., Sherman, B. T. & Lempicki, R. A. (2009a). Bioinformatics enrichment tools: paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists. *Nucleic Acids Research*, 37, 1–13.
- Huang, D. W., Sherman, B. T. & Lempicki, R. A. (2009b). Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. *Nature Protocols*, 4, 44–57.
- Hubbard, B. P., Gomes, A. P., Dai, H., Li, J., Case, A. W., Considine, T., Riera, T. V., Lee, J. E., E, S. Y., Lamming, D. W., Pentelute, B. L., Schuman, E. R., Stevens, L. A., Ling, A. J. Y., Armour, S. M., Michan, S., Zhao, H., Jiang, Y., Sweitzer, S. M., Blum, C. A., Disch, J. S., Ng, P. Y., Howitz, K. T., Rolo, A. P., Hamuro, Y., Moss, J., Perni, R. B., Ellis, J. L., Vlasuk, G. P. & Sinclair, D. A. (2013). Evidence for a Common Mechanism of SIRT1 Regulation by Allosteric Activators. *Science*, 339, 1216–1219.
- Hwangbo, D. S., Gershman, B., Gersham, B., Tu, M.-P., Palmer, M. & Tatar, M. (2004). *Drosophila* dFOXO controls lifespan and regulates insulin signalling in brain and fat body. *Nature*, 429, 562–6.
- Imai, S., Armstrong, C. M., Kaeberlein, M. & Guarente, L. (2000). Transcriptional silencing and longevity protein Sir2 is an NAD-dependent histone deacetylase. *Nature*, 403, 795–800.
- Ja, W. W., Carvalho, G. B., Zid, B. M., Mak, E. M., Brummel, T. & Benzer, S. (2009). Water- and nutrient-dependent effects of dietary restriction on *Drosophila* lifespan. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106, 18633–7.
- Jia, K. & Levine, B. Autophagy is required for dietary restriction-mediated life span extension in *C. elegans*. *Autophagy*, 3, 597–9.
- Jiang, J. C., Jaruga, E., Repnevskaya, M. V & Jazwinski, S. M. (2000). An intervention resembling caloric restriction prolongs life span and retards aging in yeast. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 14, 2135–7.
- Johnson, S. C., Rabinovitch, P. S. & Kaeberlein, M. (2013). mTOR is a key modulator of ageing and age-related disease. *Nature*, 493, 338–45.
- Jones, P. A. & Baylin, S. B. (2002). The fundamental role of epigenetic events in cancer. *Nature Reviews. Genetics*, 3, 415–28.
- Kaeberlein, M., Steffen, K. K., Hu, D., Dang, N., Kerr, E. O., Tsuchiya, M., Fields, S. & Kennedy, B. K. (2006). Comment on “HST2 mediates SIR2-independent life-span extension by calorie restriction”. *Science*, 312, 1312; author reply 1312.

- Kaeberlein, M., Kirkland, K. T., Fields, S. & Kennedy, B. K. (2004). *Sir2*-independent life span extension by calorie restriction in yeast. *PLoS Biology*, 2, E296.
- Kaeberlein, M., McVey, M. & Guarente, L. (1999). The SIR2/3/4 complex and SIR2 alone promote longevity in *Saccharomyces cerevisiae* by two different mechanisms. *Genes & Development*, 13, 2570–80.
- Kaeberlein, M. & Kennedy, B. K. (2011). Hot topics in aging research: protein translation and TOR signaling, 2010. *Aging Cell*, 10, 185–90.
- Kaeberlein, M. & Powers, R. W. (2007). *Sir2* and calorie restriction in yeast: a skeptical perspective. *Ageing Research Reviews*, 6, 128–40.
- Kanehisa, M. & Goto, S. (2000). KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic Acids Research*, 28, 27–30.
- Kenyon, C., Chang, J., Gensch, E., Rudner, A. & Tabtiang, R. (1993). A *C. elegans* mutant that lives twice as long as wild type. *Nature*, 366, 461–4.
- Kharchenko, P. V., Alekseyenko, A. A., Schwartz, Y. B., Minoda, A., Riddle, N. C., Ernst, J., Sabo, P. J., Larschan, E., Gorchakov, A. A., Gu, T., Linder-Basso, D., Plachetka, A., Shanower, G., Tolstorukov, M. Y., Luquette, L. J., Xi, R., Jung, Y. L., Park, R. W., Bishop, E. P., Canfield, T. K., Sandstrom, R., Thurman, R. E., MacAlpine, D. M., Stamatoyannopoulos, J. A., Kellis, M., Elgin, S. C. R., Kuroda, M. I., Pirrotta, V., Karpen, G. H. & Park, P. J. (2011). Comprehensive analysis of the chromatin landscape in *Drosophila melanogaster*. *Nature*, 471, 480–5.
- Kirkwood, T. B. & Austad, S. N. (2000). Why do we age? *Nature*, 408, 233–8.
- Klass, M. R. (1977). Aging in the nematode *Caenorhabditis elegans*: major biological and environmental factors influencing life span. *Mechanisms of Ageing and Development*, 6, 413–29.
- Koh, H., Kim, H., Kim, M. J., Park, J., Lee, H.-J. & Chung, J. (2012). Silent information regulator 2 (*Sir2*) and Forkhead box O (FOXO) complement mitochondrial dysfunction and dopaminergic neuron loss in *Drosophila* PTEN-induced kinase 1 (PINK1) null mutant. *The Journal of Biological Chemistry*, 287, 12750–8.
- Kornberg, R. D. & Lorch, Y. (1999). Twenty-five years of the nucleosome, fundamental particle of the eukaryote chromosome. *Cell*, 98, 285–94.
- Kouzarides, T. & Berger, S. L. (2007). Chromatin Modifications and Their Mechanism of Action. In C. Da. Allis, T. Jenuwein, D. Reinberg, & M.-L. Caparros (Eds.), *Epigenetics* (pp. 191–210). Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Kramer, J. M., Slade, J. D. & Staveley, B. E. (2008). *foxo* is required for resistance to amino acid starvation in *Drosophila*. *Genome*, 51, 668–72.
- Kruegel, U., Robison, B., Dange, T., Kahlert, G., Delaney, J. R., Kotireddy, S., Tsuchiya, M., Tsuchiyama, S., Murakami, C. J., Schleit, J., Sutphin, G., Carr, D., Tar, K., Dittmar, G., Kaeberlein, M., Kennedy, B. K. & Schmidt, M. (2011). Elevated proteasome capacity extends replicative lifespan in *Saccharomyces cerevisiae*. *PLoS Genetics*, 7, e1002253.

- Kühnlein, R. P. (2011). The contribution of the *Drosophila* model to lipid droplet research. *Progress in Lipid Research*, 50, 348–56.
- Lamming, D. W., Latorre-Esteves, M., Medvedik, O., Wong, S. N., Tsang, F. A., Wang, C., Lin, S.-J. & Sinclair, D. A. (2005). HST2 mediates SIR2-independent life-span extension by calorie restriction. *Science*, 309, 1861–4.
- Lawler, D. F., Larson, B. T., Ballam, J. M., Smith, G. K., Biery, D. N., Evans, R. H., Greeley, E. H., Segre, M., Stowe, H. D. & Kealy, R. D. (2008). Diet restriction and ageing in the dog: major observations over two decades. *The British Journal of Nutrition*, 99, 793–805.
- Lehninger, A., Nelson, D. & Cox, M. (2001). *Lehninger Biochemie*. Springer Verlag. S. 470f
- Lehwald, N., Tao, G.-Z., Jang, K. Y., Papandreou, I., Liu, B., Liu, B., Pysz, M. A., Willmann, J. K., Knoefel, W. T., Denko, N. C. & Sylvester, K. G. (2012). β -Catenin regulates hepatic mitochondrial function and energy balance in mice. *Gastroenterology*, 143, 754–64.
- Lemaitre, B. & Hoffmann, J. (2007). The host defense of *Drosophila melanogaster*. *Annual Review of Immunology*, 25, 697–743.
- Lempiäinen, H. & Shore, D. (2009). Growth control and ribosome biogenesis. *Current Opinion in Cell Biology*, 21, 855–63.
- Li, Y., Daniel, M. & Tollefsbol, T. O. (2011). Epigenetic regulation of caloric restriction in aging. *BMC Medicine*, 9, 98.
- Li, Y., Liu, L. & Tollefsbol, T. O. (2010). Glucose restriction can extend normal cell lifespan and impair precancerous cell growth through epigenetic control of hTERT and p16 expression. *FASEB Journal : Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 24, 1442–53.
- Li, E., Bestor, T. H. & Jaenisch, R. (1992). Targeted mutation of the DNA methyltransferase gene results in embryonic lethality. *Cell*, 69, 915–26.
- Li, E. & Bird, A. (2007). DNA Methylation in Mammals. In C. D. Allis, T. Jenuwein, D. Reinberg, & M.-L. Caparros (Eds.), *Epigenetics* (pp. 341–356). Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Libert, S., Zwiener, J., Chu, X., Vanvoorhies, W., Roman, G. & Pletcher, S. D. (2007). Regulation of *Drosophila* life span by olfaction and food-derived odors. *Science*, 315, 1133–7.
- Lin, S.-J., Kaeberlein, M., Andalis, A. A., Sturtz, L. A., Defossez, P.-A., Culotta, V. C., Fink, G. R. & Guarente, L. (2002). Calorie restriction extends *Saccharomyces cerevisiae* lifespan by increasing respiration. *Nature*, 418, 344–8.
- Lin, K., Dorman, J. B., Rodan, A. & Kenyon, C. (1997). daf-16: An HNF-3/forkhead family member that can function to double the life-span of *Caenorhabditis elegans*. *Science*, 278, 1319–22.
- Lin, S. J., Defossez, P. A. & Guarente, L. (2000). Requirement of NAD and SIR2 for life-span extension by calorie restriction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Science*, 289, 2126–8.

- Liu, H., Fergusson, M. M., Wu, J. J., Rovira, I. I., Liu, J., Gavrilova, O., Lu, T., Bao, J., Han, D., Sack, M. N. & Finkel, T. (2011). Wnt signaling regulates hepatic metabolism. *Science Signaling*, 4, ra6.
- Lochmiller, R. L. & Deerenberg, C. (2000). Trade-offs in evolutionary immunology: just what is the cost of immunity? *Oikos*, 88, 87–98.
- Loeb, J. & Northrop, J. H. (1916). Is There a Temperature Coefficient for the Duration of Life? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2, 456–7.
- Lyko, F. (2001). DNA methylation learns to fly. *Trends in Genetics : TIG*, 17, 169–72.
- Mair, W., Piper, M. D. W. & Partridge, L. (2005). Calories do not explain extension of life span by dietary restriction in *Drosophila*. (T. Kirkwood, Ed.). *PLoS Biology*, 3, e223.
- Mair, W., Sgrò, C. M., Johnson, A. P., Chapman, T. & Partridge, L. (2004). Lifespan extension by dietary restriction in female *Drosophila melanogaster* is not caused by a reduction in vitellogenesis or ovarian activity. *Experimental Gerontology*, 39, 1011–9.
- Marks, P. A. (2010). The clinical development of histone deacetylase inhibitors as targeted anticancer drugs. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 19, 1049–66.
- Martienssen, R. & Moazed, D. (2007). RNAi and Heterochromatin Assembly. In C. D. Allis, T. Jenuwein, D. Reinberg, & M.-L. Caparros (Eds.), *Epigenetics* (pp. 151–166). Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Martin, G. M. (2011). The biology of aging: 1985-2010 and beyond. *FASEB Journal : Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 25, 3756–62.
- Mattison, J. A., Roth, G. S., Beasley, T. M., Tilmont, E. M., Handy, A. M., Herbert, R. L., Longo, D. L., Allison, D. B., Young, J. E., Bryant, M., Barnard, D., Ward, W. F., Qi, W., Ingram, D. K. & De Cabo, R. (2012). Impact of caloric restriction on health and survival in rhesus monkeys from the NIA study. *Nature*, 489, 318–21.
- McCay, C. M., Crowell, M. F. & Maynard, L. A. (1935). The effect of retarded growth upon the length of life span and upon the ultimate body size. *Nutrition*, 5, 155–71; discussion 172.
- Merker, K., Stolzing, A. & Grune, T. (2001). Proteolysis, caloric restriction and aging. *Mechanisms of Ageing and Development*, 122, 595–615.
- Min, K.-J., Yamamoto, R., Buch, S., Pankratz, M. & Tatar, M. (2008). *Drosophila* lifespan control by dietary restriction independent of insulin-like signaling. *Aging Cell*, 7, 199–206.
- Miyamura, Y., Tawa, R., Koizumi, A., Uehara, Y., Kurishita, A., Sakurai, H., Kamiyama, S. & Ono, T. (1993). Effects of energy restriction on age-associated changes of DNA methylation in mouse liver. *Mutation Research*, 295, 63–9.
- Motta, M. C., Divecha, N., Lemieux, M., Kamel, C., Chen, D., Gu, W., Bultsma, Y., McBurney, M. & Guarente, L. (2004). Mammalian SIRT1 Represses Forkhead Transcription Factors. *Cell*, 116, 551–563.

- Moynihan, K. A., Grimm, A. A., Plueger, M. M., Bernal-Mizrachi, E., Ford, E., Cras-Méneur, C., Permutt, M. A. & Imai, S.-I. (2005). Increased dosage of mammalian *Sir2* in pancreatic beta cells enhances glucose-stimulated insulin secretion in mice. *Cell Metabolism*, 2, 105–17.
- Murayama, A., Ohmori, K., Fujimura, A., Minami, H., Yasuzawa-Tanaka, K., Kuroda, T., Oie, S., Daitoku, H., Okuwaki, M., Nagata, K., Fukamizu, A., Kimura, K., Shimizu, T. & Yanagisawa, J. (2008). Epigenetic control of rDNA loci in response to intracellular energy status. *Cell*, 133, 627–39.
- Newman, B. L., Lundblad, J. R., Chen, Y. & Smolik, S. M. (2002). A *Drosophila* homologue of *Sir2* modifies position-effect variegation but does not affect life span. *Genetics*, 162, 1675–85.
- Osterwalder, T., Yoon, K. S., White, B. H. & Keshishian, H. (2001). A conditional tissue-specific transgene expression system using inducible GAL4. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98, 12596–601.
- Parrella, E. & Longo, V. D. (2010). Insulin/IGF-I and related signaling pathways regulate aging in nondividing cells: from yeast to the mammalian brain. *TheScientificWorldJournal*, 10, 161–77.
- Partridge, L., Alic, N., Bjedov, I. & Piper, M. D. W. (2011). Ageing in *Drosophila*: the role of the insulin/Igf and TOR signalling network. *Experimental Gerontology*, 46, 376–81.
- Pasco, M. Y., Catoire, H., Parker, J. A., Brais, B., Rouleau, G. A. & Néri, C. (2010). Cross-talk between canonical Wnt signaling and the sirtuin-FoxO longevity pathway to protect against muscular pathology induced by mutant PABPN1 expression in *C. elegans*. *Neurobiology of Disease*, 38, 425–33.
- Passarge, E. (1979). Emil Heitz and the concept of heterochromatin: longitudinal chromosome differentiation was recognized fifty years ago. *American Journal of Human Genetics*, 31, 106–15.
- Pfaffl, M. W. (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Research*, 29, e45.
- Pham, T. X. & Lee, J. (2012). Dietary regulation of histone acetylases and deacetylases for the prevention of metabolic diseases. *Nutrients*, 4, 1868–86.
- Picard, F., Kurtev, M., Chung, N., Topark-Ngarm, A., Senawong, T., Machado De Oliveira, R., Leid, M., McBurney, M. W. & Guarente, L. (2004). Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR-gamma. *Nature*, 429, 771–6.
- Purushotham, A., Schug, T. T., Xu, Q., Surapureddi, S., Guo, X. & Li, X. (2009). Hepatocyte-specific deletion of SIRT1 alters fatty acid metabolism and results in hepatic steatosis and inflammation. *Cell Metabolism*, 9, 327–38.
- Razin, A. & Riggs, A. D. (1980). DNA methylation and gene function. *Science*, 210, 604–10.
- Reis, T., Van Gilst, M. R. & Hariharan, I. K. (2010). A buoyancy-based screen of *Drosophila* larvae for fat-storage mutants reveals a role for *Sir2* in coupling fat storage to nutrient availability. *PLoS Genetics*, 6, e1001206.

- Rodgers, J. T., Lerin, C., Haas, W., Gygi, S. P., Spiegelman, B. M. & Puigserver, P. (2005). Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1 α and SIRT1. *Nature*, 434, 113–8.
- Rogina, B. & Helfand, S. L. (2004). *Sir2* mediates longevity in the fly through a pathway related to calorie restriction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101, 15998–6003.
- Roman, G., Endo, K., Zong, L. & Davis, R. L. (2001). P[Switch], a system for spatial and temporal control of gene expression in *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98, 12602–7.
- Romey, R. (2012). Der Einfluss unterschiedlicher Ernährungsregime auf Phänotyp und Genexpressionsmuster der Taufliege *Drosophila melanogaster*. Dissertation, Universitätsbibliothek der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel.
- Rosenberg, M. I. & Parkhurst, S. M. (2002). *Drosophila Sir2* is required for heterochromatic silencing and by euchromatic Hairy/E(Spl) bHLH repressors in segmentation and sex determination. *Cell*, 109, 447–58.
- Del Roso, A., Vittorini, S., Cavallini, G., Donati, A., Gori, Z., Masini, M., Pollera, M. & Bergamini, E. (2003). Ageing-related changes in the *in vivo* function of rat liver macroautophagy and proteolysis. *Experimental Gerontology*, 38, 519–27.
- Roth, L. W. & Polotsky, A. J. (2012). Can we live longer by eating less? A review of caloric restriction and longevity. *Maturitas*, 71, 315–9.
- Rutanan, J., Yaluri, N., Modi, S., Pihlajamäki, J., Vänttinen, M., Itkonen, P., Kainulainen, S., Yamamoto, H., Lagouge, M., Sinclair, D. A., Elliott, P., Westphal, C., Auwerx, J. & Laakso, M. (2010). SIRT1 mRNA expression may be associated with energy expenditure and insulin sensitivity. *Diabetes*, 59, 829–35.
- Salih, D. A. M. & Brunet, A. (2008). FoxO transcription factors in the maintenance of cellular homeostasis during aging. *Current Opinion in Cell Biology*, 20, 126–36.
- Schlegel, A. & Stainier, D. Y. R. (2007). Lessons from “lower” organisms: what worms, flies, and zebrafish can teach us about human energy metabolism. *PLoS Genetics*, 3, e199.
- Schramm, G., Bruchhaus, I. & Roeder, T. (2000). A simple and reliable 5'-RACE approach. *Nucleic Acids Research*, 28, E96.
- Schreiber, S. L. & Bernstein, B. E. (2002). Signaling network model of chromatin. *Cell*, 111, 771–8.
- Shimazu, T., Hirschey, M. D., Newman, J., He, W., Shirakawa, K., Le Moan, N., Grueter, C. A., Lim, H., Saunders, L. R., Stevens, R. D., Newgard, C. B., Farese, R. V., De Cabo, R., Ulrich, S., Akassoglou, K. & Verdin, E. (2013). Suppression of oxidative stress by β -hydroxybutyrate, an endogenous histone deacetylase inhibitor. *Science*, 339, 211–4.
- Soulard, A., Cohen, A. & Hall, M. N. (2009). TOR signaling in invertebrates. *Current Opinion in Cell Biology*, 21, 825–36.

- Statistisches Bundesamt. (2012). *Pressemitteilung Nr. 344: Lebenserwartung in Deutschland erneut gestiegen*. Wiesbaden.
- Strahl, B. D. & Allis, C. D. (2000). The language of covalent histone modifications. *Nature*, 403, 41–5.
- Tang, Q. Q. & Lane, M. D. (2012). Adipogenesis: from stem cell to adipocyte. *Annual Review of Biochemistry*, 81, 715–36.
- Tatar, M. (2011). The plate half-full: status of research on the mechanisms of dietary restriction in *Drosophila melanogaster*. *Experimental Gerontology*, 46, 363–8.
- Teleman, A. A. (2010). Molecular mechanisms of metabolic regulation by insulin in *Drosophila*. *The Biochemical Journal*, 425, 13–26.
- Teleman, A. A., Hietakangas, V., Sayadian, A. C. & Cohen, S. M. (2008). Nutritional control of protein biosynthetic capacity by insulin via Myc in *Drosophila*. *Cell Metabolism*, 7, 21–32.
- Tissenbaum, H. A. & Guarente, L. (2001). Increased dosage of a sir-2 gene extends lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 410, 227–30.
- Turner, B. M. (2005). Reading signals on the nucleosome with a new nomenclature for modified histones. *Nature Structural & Molecular Biology*, 12, 110–2.
- Vaquero, A., Scher, M., Lee, D., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P. & Reinberg, D. (2004). Human SirT1 interacts with histone H1 and promotes formation of facultative heterochromatin. *Molecular Cell*, 16, 93–105.
- Vernace, V. A., Arnaud, L., Schmidt-Glenewinkel, T. & Figueiredo-Pereira, M. E. (2007). Aging perturbs 26S proteasome assembly in *Drosophila melanogaster*. *FASEB Journal : Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 21, 2672–82.
- Villalba, J. M. & Alcáín, F. J. (2012). Sirtuin activators and inhibitors. *BioFactors*, 38, 349–59.
- Warner, J. R. (1999). The economics of ribosome biosynthesis in yeast. *Trends in Biochemical Sciences*, 24, 437–40.
- Willcox, B. J., Donlon, T. A., He, Q., Chen, R., Grove, J. S., Yano, K., Masaki, K. H., Willcox, D. C., Rodriguez, B. & Curb, J. D. (2008). FOXO3A genotype is strongly associated with human longevity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105, 13987–92.
- Willcox, D. C., Willcox, B. J., Todoriki, H. & Suzuki, M. (2009). The Okinawan Diet: Health Implications of a Low-Calorie, Nutrient-Dense, Antioxidant-Rich Dietary Pattern Low in Glycemic Load. *J. Am. Coll. Nutr.*, 28, 500S–516.
- Willcox, D. C., Willcox, B. J., He, Q., Wang, N. & Suzuki, M. (2008). They really are that old: a validation study of centenarian prevalence in Okinawa. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 63, 338–49.
- Xiang, L., Nakamura, Y., Lim, Y.-M., Yamasaki, Y., Kurokawa-Nose, Y., Maruyama, W., Osawa, T., Matsuura, A., Motoyama, N. & Tsuda, L. (2011). Tetrahydrocurcumin extends life span and

- inhibits the oxidative stress response by regulating the FOXO forkhead transcription factor. *Aging*, 3, 1098–109.
- Yi, J. & Luo, J. (2010). SIRT1 and p53, effect on cancer, senescence and beyond. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1804, 1684–9.
- Yin, H., Sweeney, S., Raha, D., Snyder, M. & Lin, H. (2011). A high-resolution whole-genome map of key chromatin modifications in the adult *Drosophila melanogaster*. *PLoS Genetics*, 7, e1002380.
- Yuan, H. & Marmorstein, R. (2013). Red Wine, Toast of the Town (Again). *Science*, 339, 1156–1157.
- Zid, B. M., Rogers, A. N., Katewa, S. D., Vargas, M. A., Kolipinski, M. C., Lu, T. A., Benzer, S. & Kapahi, P. (2009). 4E-BP extends lifespan upon dietary restriction by enhancing mitochondrial activity in *Drosophila*. *Cell*, 139, 149–60.
- Ziv, E. & Hu, D. (2011). Genetic variation in insulin/IGF-1 signaling pathways and longevity. *Ageing Research Reviews*, 10, 201–4.

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1.1:	Physiologische Funktionen von Sirt1 in Säugetieren.....	16
Abb. 1.2:	Vereinfachte Darstellung der Signalwege zur Wahrnehmung von Nährstoffen in verschiedenen Spezies.....	19
Abb. 1.3:	Die komplexe Regulation der Aktivität von FOXO-Proteinen.....	21
Abb. 1.4:	Modell zur Erläuterung der Rolle der Histonacetylierung in der Initiation der Transkription.....	27
Abb. 1.5:	Schematische Darstellung des GeneSwitch GAL4 Systems.	31
Abb. 3.1:	Relative β -Galactosidase Aktivität in $S_1106/lacZ$ -Fliegen.	59
Abb. 3.2:	Sir2-mRNA-Expression im Abdomen von $S_1106/Sir2$ -Fliegen nach 24 h Gabe von RU486..	60
Abb. 3.3:	Kaplan-Meier-Kurven von Fliegen, die mit RU486 oder Ethanol-haltigem Medium gefüttert wurden.	61
Abb. 3.4:	Kaplan-Meier-Kurven von $S_1106/Sir2$ -Fliegen unter Hungerbedingungen.	63
Abb. 3.5:	Sir2 hat keinen Einfluss auf die Fettspeicherung.....	65
Abb. 3.6:	Skalierte Venn-Diagramme der Gene, deren Expression durch Sir2-Überexpression im Fettkörper reguliert wurde.....	67
Abb. 3.7:	Relatives Expressionsniveau von Genen, die den in Weibchen gehäuft auftretenden GO-Kategorien zugeordnet werden.	69
Abb. 3.8:	Relatives Expressionsniveau von Genen, die der in Männchen gehäuft auftretenden GO-Kategorie cAMP-Biosynthese zugeordnet werden.	70
Abb. 3.9:	Kaplan-Meier-Kurven von $S_1106/foxo$ -Fliegen unter Hungerbedingungen.	71
Abb. 3.10:	foxo hat keinen Einfluss auf die Fettspeicherung.....	73
Abb. 3.11:	Skalierte Venn-Diagramme der Gene, deren Expression durch foxo-Überexpression im Fettkörper reguliert wurde.....	74
Abb. 3.12:	Relatives Expressionsniveau von Genen, die den in Weibchen gehäuft auftretenden GO-Kategorien zugeordnet werden.	76
Abb. 3.13:	Relatives Expressionsniveau von Genen, die den in Männchen gehäuft auftretenden GO-Kategorien zugeordnet werden.	78
Abb. 3.14:	Transkriptionelle Anpassungen nach Sir2-Überexpression und DR..	79
Abb. 3.15:	Skalierte Venn-Diagramme der Gene, deren Expression nach DR und foxo-Überexpression im Fettkörper von Weibchen reguliert wurde.	81

Abb. 3.16: Skalierte Venn-Diagramme der Gene, deren Expression nach Sir2- und foxo-Überexpression im Fettkörper von Weibchen reguliert wurde.	82
Abb. 3.17: Immunhistochemischer Nachweis der FOXO-Lokalisation in Fettkörperzellen nach Sir2-Überexpression.	83
Abb. 3.18: Differentiell regulierte Gene im Fettkörper von Weibchen und Männchen nach Sir2-Überexpression im Vergleich mit dem Lipidtröpfchen-Proteom.	85
Abb. 3.19: Kaplan-Meier-Kurven von verpaarten Weibchen (A) und Männchen (B) des Fliegenstamms w ¹¹¹⁸ unter verschiedenen Ernährungsmustern.....	88
Abb. 3.20: Skalierte Venn-Diagramme zur Darstellung von Genen, deren 5'UTR an H3K9ac gebunden hat.....	89

Tabellenverzeichnis

Tab. 1.1:	Die wichtigsten Histonmodifikationen, ihr Effekt auf die Transkription und Histon-modifizierende Enzyme.	26
Tab. 2.1:	In der Arbeit verwendete Primer.....	38
Tab. 2.2:	In der Arbeit verwendete Fliegenstämme.....	44
Tab. 3.1:	Ergebnisse des Log-Rang-Tests für die Überlebenskurven von Sir2-überexprimierenden Fliegen.	62
Tab. 3.2:	Ergebnisse des Log-Rang-Tests für das Überleben von Sir2-überexprimierenden Fliegen unter Hungerbedingungen.....	64
Tab. 3.3:	GO-Kategorien, die in Weibchen, die Sir2 im Fettkörper überexprimieren, gehäuft auftraten.	68
Tab. 3.4:	GO-Kategorien, die in Männchen, die Sir2 im Fettkörper überexprimieren, gehäuft auftraten.	70
Tab. 3.5:	Ergebnisse des Log-Rang-Tests für das Überleben von foxo-überexprimierenden Fliegen unter Hungerbedingungen.....	72
Tab. 3.6:	Signifikant regulierte GO-Kategorien im Fettkörper von Weibchen, die foxo überexprimieren.	75
Tab. 3.7:	Signifikant regulierte GO-Kategorien im Fettkörper von Männchen, die foxo überexprimieren.	77
Tab. 3.8:	Gene, die im Fettkörper nach Sir2-Überexpression differentiell reguliert wurden und deren Genprodukte mit der Lipidtröpfchen- Oberfläche assoziiert sind.	86
Tab. 3.9:	Ergebnisse des Log-Rang-Tests der Überlebenskurven von w^{1118} unter DR.....	88
Tab. 3.10:	GO-Kategorien, die unter den H3K9ac-bindenden Genen in weiblichen Kontrolltieren (und nicht nach DR) überrepräsentiert waren.	90
Tab. 3.11:	GO-Kategorien, die unter den H3K9ac-bindenden Genen in Weibchen nach DR (und nicht in Kontrolltieren) überrepräsentiert waren.	91
Tab. 3.12:	GO-Kategorien, die unter den H3K9ac-bindenden Genen in männlichen Kontrolltieren (und nicht nach DR) überrepräsentiert waren.	92
Tab. 3.13:	GO-Kategorien, die unter den H3K9ac-bindenden Genen in Männchen nur nach DR (und nicht in Kontrolltieren) überrepräsentiert waren.	93
Tab. 3.14:	Gene, deren 5'UTR nur nach DR an H3K9ac gebunden haben und mit Alterungsprozessen in Verbindung gebracht werden (Männchen).	94

Tab. A1:	Gene, die im Fettkörper von Weibchen, die Sir2 überexprimieren, in mindestens 2 von 3 biologischen Replikaten mehr als 1,5fach hochreguliert waren.	131
Tab. A2:	Gene, die im Fettkörper von Weibchen, die Sir2 überexprimieren, in mindestens 2 von 3 biologischen Replikaten mehr als 1,5fach abreguliert waren.	137
Tab. A3:	Gene, die im Fettkörper von Männchen, die Sir2 überexprimieren, in mindestens 2 von 3 biologischen Replikaten mehr als 1,5fach hochreguliert waren.	141
Tab. A4:	Gene, die im Fettkörper von Männchen, die Sir2 überexprimieren, in mindestens 2 von 3 biologischen Replikaten mehr als 1,5fach abreguliert waren.	144
Tab. A5:	Gene, die im Fettkörper von Weibchen, die foxo überexprimieren, in mindestens 2 von 3 biologischen Replikaten mehr als 1,5fach hochreguliert waren.	146
Tab. A6:	Gene, die im Fettkörper von Weibchen, die foxo überexprimieren, in mindestens 2 von 3 biologischen Replikaten mehr als 1,5fach abreguliert waren.	152
Tab. A7:	Gene, die im Fettkörper von Männchen, die foxo überexprimieren, in mindestens 2 von 3 biologischen Replikaten mehr als 1,5fach hochreguliert waren.	156
Tab. A8:	Gene, die im Fettkörper von Männchen, die foxo überexprimieren, in mindestens 2 von 3 biologischen Replikaten mehr als 1,5fach abreguliert waren.	158
Tab. A9:	Gene, die im Fettkörper von Weibchen, die einer DR ausgesetzt waren, in mindestens 2 von 3 biologischen Replikaten mehr als 1,5fach hochreguliert waren.	160
Tab. A10:	Gene, die im Fettkörper von Weibchen, die einer DR ausgesetzt waren, in mindestens 2 von 3 biologischen Replikaten mehr als 1,5fach abreguliert waren.	166

Lebenslauf

Geburtsdatum 23.12.1983
Geburtsort Erfurt
Staatsangehörigkeit deutsch

Wissenschaftlicher Werdegang

- seit 05/09 Wissenschaftliche Mitarbeiterin, Institut für Zoologie, Abt. Zoophysiologie, AG Roeder, Christian-Albrechts-Universität Kiel
Forschungsschwerpunkte:
- Charakterisierung von Langlebigkeitsgenen in *Drosophila*
 - Epigenetische Anpassungen an Nahrungsrestriktion
 - Hauptsächlich angewandte Methoden: Mikroarray, quantitative Real-time PCR, Chromatin-Immunpräzipitation, Immunhistochemie
- 02/09 – 04/09 Praktikum, Institut für Ernährungswissenschaften, AG Haslberger, Universität Wien
- Forschungsschwerpunkt: Einfluss der Darmflora auf epigenetische Regulationen in Kolonkarzinomzellen
 - Hauptsächlich angewandte Methoden: Bisulfitkonversion von DNA, Methylierungsspezifische PCR, Zellkultur
- 09/08 - 12/08 Wissenschaftliche Mitarbeiterin, Institut für Medizinische Biochemie und Molekularbiologie, AG Radons, Universität Greifswald
- Forschungsschwerpunkt: Einfluss eines Grünteepolyphenols auf IL-1 vermittelte Wirkungen auf Pankreas-adenokarzinomzellen
 - Hauptsächlich angewandte Methoden: Zellkultur, ELISA, Western Blot, Zellproliferationsassay
- 09/06 - 10/06 Praktikum, Forschungszentrum für Medizintechnik und Biotechnologie, Erfurt
- Etablierung einer Methode zum Nachweis von *Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis* aus boviner Kolostralmilch mittels immunomagnetischer Separation und PCR

Ausbildung

10/03 - 10/08	Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald: Studium der Humanbiologie
10/07	Theoretischer Teil der Diplomprüfung Hauptfach Biochemie/ Molekularbiologie: 1,3 Nebenfach Immunologie: 1,0 Nebenfach Physiologie: 1,0
10/08	Praktischer Teil der Diplomprüfung (Diplomarbeit): 1,5 Abschluss: Diplom-Humanbiologin, Gesamtnote: 1,2

Stipendien

04/12	Reisekostenstipendium der GlaxoSmithKline Stiftung für die Reise zur <i>2nd International Conference Genetics of Aging and Longevity</i> , 22.-5.4.2012, in Moskau, Russland
08/12-12/12	Lebensunterhaltsstipendium der Stipendienstiftung der Universität Kiel

Publikationen

Publikationen

Pallauf K, Bendall JK, Scheiermann C, Watschinger K, **Hoffmann J**, Roeder T, Rimbach G (2013) Vitamin C and Lifespan in Model Organisms. *Food Chem Toxicol.*, im Druck

Hoffmann J, Romey R, Fink C, Roeder T (2013) *Drosophila* as a model to study metabolic disorders. *Adv Biochem Eng Biotechnol*, im Druck

Hoffmann J, Romey R, Fink C, Yong L, Roeder T (2013) Overexpression of *Sir2* in the adult fat body is sufficient to extend lifespan of male and female *Drosophila*. *Aging*. 5(4): 315-327

Hoffmann J, Junker H, Schmieder A, Venz S, Brandt R, Multhoff G, Falk W, Radons J. (2011) EGCG downregulates IL-1R1 expression and suppresses IL-1-induced tumorigenic factors in human pancreatic adenocarcinoma cells. *Biochem Pharmacol*. 82(9): 1153-62.

Vorträge

Hoffmann J, Roeder T: *sir2* and *foxo*: mediating the response to dietary restriction in *Drosophila*? 2nd International Conference Genetics of Aging and Longevity, 22.-25.04.2012, Moskau, Russland

Hoffmann J, Roeder T: Epigenetic regulation of the response to dietary restriction in *Drosophila*. Graduate Meeting of Nutritional Physiologists in Animal and Human Nutrition Research, 16.-19.6.2010, Leibniz Institut für die Biologie der Nutztiere (FBN), Dummerstorf

Poster

Hoffmann J, Roeder T: Epigenetic profiling of the whole *Drosophila* genome after dietary restriction. Oskar Kellner Symposium 2011: Metabolic Flexibility in Animal and Human Nutrition, 09.-11.09.2011, Rostock-Warnemünde

Hoffmann J, Romey R, Roeder T: Starvation persistently changes expression profiles in fat storage organs of the fruit fly *Drosophila*. 61. Mosbacher Kolloquium: The Biology of Aging: Mechanisms and Intervention, 08. - 10.04.2010, Mosbach

Hoffmann J, Brandt R, Radons J: EGCG-induced suppression of tumorigenic factors is linked to down-regulation of IL-1R1 gene expression in human pancreatic adenocarcinoma cells. Joint Annual Meeting of Immunology of the Austrian and German Societies (ÖGAI, DGfI) 3.- 6.9.2008, Wien

Danksagung

Ich möchte mich ganz herzlich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. Thomas Roeder für die Bereitstellung dieses spannenden Themas, die konstruktiven Diskussionen und die Anregungen und Tipps bedanken.

Ein Riesendankeschön geht an Dr. Christine Fink für die entspannte Atmosphäre im Büro, das Schmeißen der Labororganisation, den Ideen- und Gedankenaustausch, das Feierabendbier und nicht zu letzt das Korrekturlesen der Arbeit in Windeseile.

Für die tatkräftige Unterstützung bei den Laborarbeiten danke ich Annekatriin Daniel und Britta Laubenstein.

Außerdem möchte ich mich bei allen aktuellen und ehemaligen Mitgliedern der Zoophysiologie für den regen Gedankenaustausch und die freundliche Atmosphäre bedanken.

Ganz zum Schluss und doch zuerst bedanke ich mich bei meiner Familie und besonders bei meinen Eltern – für das geduldige Korrekturlesen und vor allem für das Aufmuntern in Frustphasen. Danke, dass ich immer auf euch zählen kann.

Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit – abgesehen von der Beratung durch meinen Betreuer – selbständig angefertigt habe. Es wurden nur die in der Arbeit ausdrücklich benannten Quellen und Hilfsmittel benutzt. Wörtlich oder sinngemäß übernommenes Gedankengut habe ich als solches kenntlich gemacht.

Ein Teil der Probenprozessierung sowie die initiale Auswertung der Rohdaten der ChIP-Chip-Versuche wurden von der Firma Source BioScience imaGenes GmbH durchgeführt (vgl. 2.2.6.5).

Die Arbeit lag bisher weder ganz noch in Teilen einer anderen Stelle im Rahmen eines Prüfungsverfahrens vor, allerdings wurden Teile der Arbeit bereits veröffentlicht:

Hoffmann J, Romey R, Fink C, Yong L, Roeder T (2013) Overexpression of *Sir2* in the adult fat body is sufficient to extend lifespan of male and female *Drosophila*. *Aging*. 5(4): 315-327.

Hierbei wurden alle Versuche, die in der Publikation und in dieser Arbeit vorkommen, von mir unter Beratung durch Prof Dr. Thomas Roeder geplant und von mir eigenständig durchgeführt. Weiterhin habe ich die erste Fassung des Manuskripts und die Abbildungen angefertigt.

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

Datum, Ort

Unterschrift

A Anhang

Tab. A1: Gene, die im Fettkörper von Weibchen, die *Sir2* überexprimieren, in mindestens 2 von 3 biologischen Replikaten mehr als 1,5fach hochreguliert waren.

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG3265	Eb1	182,533	CG10834	CG10834	4,266	CG16903	CG16903	2,559
CG1683	Ant2	20,014	CG17928	CG17928	4,263	CG7967	CG7967	2,556
CG18609	CG18609	18,959	CG8937	Hsc70-1	4,141	CG3862	CG3862	2,499
CG9580	Sdic1	18,552	CG1689	lz	4,105	CG14787	CG14787	2,493
CG16827	alphaPS4	17,518	CG4707	CG4707	4,093	CG9496	Tsp29Fb	2,487
CG10470	CG10470	15,642	CG15278	CG15278	4,024	CG16901	sqd	2,480
CG3126	C3G	14,501	CG2958	lectin-24Db	3,925	CG31415	CG31415	2,452
CG14777	CG14777	13,383	CG17122	CG17122	3,918	CG16772	CG16772	2,446
CG11760	CG11760	13,208	CG14549	Slid5	3,814	CG12782	CG12782	2,434
CG6472	CG6472	12,587	CG2446	Amun	3,797	CG7928	CG7928	2,428
CG12796	CG12796	11,981	CG8874	Fps85D	3,651	CG33193	sav	2,422
CG6412	CG6412	9,906	CG4749	CG4749	3,614	CG17534	GstE9	2,410
CG13091	CG13091	9,852	CG4989	CG4989	3,553	CG31519	Or82a	2,409
CG16899	FoxP	9,729	CG12309	CG12309	3,462	CG7161	Oseg1	2,398
CG18145	Ripalpha	9,411	CG9117	CG9117	3,347	CG11642	TRAM	2,393
CG13948	Gr21a	9,059	CG3151	Rbp9	3,319	CG33124	CG33124	2,377
CG18631	CG43370	8,987	CG32633	CG32633	3,303	CG15096	CG15096	2,358
CG7989	wcd	8,869	CG17166	mRpl39	3,193	CG10747	CG10747	2,335
CG40373	CG40373	8,663	CG13966	CG43861	3,169	CG8049	Btk29A	2,315
CG4785	CG4785	8,294	CG17436	vtd	3,164	CG4180	l(2)35Bg	2,305
CG4363	CG4363	7,866	CG4313	CG4313	3,143	CG30401	CG30401	2,296
CG11814	CG42863	7,529	CG13530	CG42260	3,078	CG4095	CG4095	2,276
CG8582	Sh3beta	7,380	CG12825	CG12825	3,057	CG6386	ball	2,264
CG4233	Got2	6,055	CG17669	CG17669	3,011	CG6187	RluA-2	2,256
CG4426	ast	5,910	CG9285	Dip-B	2,962	CG5999	CG5999	2,256
CG14752	CG14752	5,768	CG32025	Fhos	2,960	CG17108	CG17108	2,248
CG6459	P32	5,583	CG7324	CG7324	2,881	CG31385	Neu3	2,243
CG5609	TotB	5,532	CG6198	CHORD	2,832	CG11910	alrm	2,237
CG9554	eya	5,261	CG18212	alt	2,751	CG6072	sra	2,237
CG4535	FKBP59	5,193	CG6496	Pdf	2,736	CG17246	SdhA	2,224
CG16836	CG16836	4,975	CG12769	CG12769	2,720	CG6057	SMC1	2,218
CG12311	tw	4,758		14-3-		CG16989	CG16989	2,215
CG4329	CG4329	4,580	CG31196	3epsilon	2,691	CG33301	CG33301	2,214
CG17045	yellow-e3	4,541	CG6488	CG6488	2,641	CG3052	HLH4C	2,185
CG6484	CG6484	4,364	CG8827	Ance	2,589	CG1103	CG1103	2,174

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG10948	CG10948	2,166	CG32556	chas	1,975	CG9916	Cyp1	1,866
CR30367	Lcp1Psi	2,165	CG3810	Edem1	1,975	CG3536	CG42260	1,862
CG3740	CG3740	2,163	CG3746	CG3746	1,974	CG5170	Dp1	1,861
CG17242	CG17242	2,161	CG4376	Actn	1,974	CG5005	HLH54F	1,860
CG33198	pen-2	2,156	CG12373	mRpL18	1,973	CG32253	CG11583	1,856
CG7371	CG7371	2,155	CG1618	comt	1,973	CG7882	CG7882	1,855
CG18432	CG43370	2,153	CG33206	Gmap	1,972	CG6219	cav	1,854
	snRNA:U6:9		CG16812	CG16812	1,971	CG6652	CG6652	1,850
CR31379	6Aa	2,147	CG12754	Or42b	1,970	CG9333	Oseg5	1,850
CG3281	CG3281	2,145	CG31422	CG31422	1,970	CG9709	Acox57D-d	1,849
CG30036	CG30036	2,140	CG16952	CG16952	1,956		tRNA:CR302	
CG11109	CG11109	2,135	CG1844	SelG	1,950	CR30249	49	1,841
CG6094	CG6094	2,129	CG4925	CG4925	1,950	CG11951	CG11951	1,840
CG11143	Inos	2,126	CG6225	CG6225	1,947	CG15049	CG43843	1,834
CG5191	CG5191	2,120	CG32444	CG32444	1,945	CG15800	CG15800	1,832
CG4889	wg	2,118	CG3349	CG3349	1,944	CG5288	Galk	1,832
CG11562	CG11562	2,113	CG12347	CG12347	1,942	CG8200	Flo-1	1,831
CG15634	CG15634	2,113	CG1531	CG42593	1,940	CG31381	CG31381	1,829
CG4029	jumu	2,110	CG32577	disco-r	1,929		alpha-Man-	
CG11912	CG11912	2,102	CG13852	mats	1,927	CG4606	Ilb	1,821
CG6020	CG6020	2,094	CG9426	CG9426	1,917	CG33337	CG33337	1,821
CG11594	CG11594	2,072	CG15343	CG15343	1,915	CR32078	CG42575	1,820
CG13977	Cyp6a18	2,067	CG6519	Cp15	1,913	CG8965	CG8965	1,819
CG33007	PR2	2,063	CG18171	CG18171	1,912	CG14646	CG14646	1,818
CG2109	mRpL44	2,060	CG15771	CG15771	1,911	CG8552	CG8552	1,818
CG6835	GS	2,058	CG6989	Octbeta2R	1,905	CG16844	IM3	1,816
CG7029	CG7029	2,057	CG8819	achi	1,905	CG7276	CG7276	1,814
CG8193	PO45	2,051	CG11964	CG11964	1,905	CG10604	bsh	1,812
CG11111	rdgB	2,029	CG4938	Aats-ser	1,903	CG7509	CG7509	1,812
CG6544	fau	2,020	CG9887	VGlut	1,901	CG13954	CG13954	1,811
CG7188	Bl-1	2,016	CG17603	Taf1	1,899	CG1789	CG1789	1,810
CG15432	CG15432	2,009	CG4214	Syx5	1,898	CG5939	Prm	1,810
CG1889	CG1889	2,003	CG11670	CG11670	1,893	CG7850	puc	1,807
CG10249	CG10249	2,002	CG5718	CG5718	1,889	CG14808	Scgdelta	1,806
CG9717	CG9717	1,997	CG7186	SAK	1,889	CG15844	CG43324	1,803
CG3723	Dhc93AB	1,994	CG6053	CG6053	1,888	CG3259	CG3259	1,802
CG4573	CG4573	1,993	CG7330	CG7330	1,888	CG33123	CG33123	1,802
CG32702	CG32702	1,993	CG9503	CG9503	1,882	CG15883	Obp18a	1,801
CG10200	CG10200	1,991	CG17462	Trf4-2	1,882	CG14870	CG14870	1,800
CG3517	CG3517	1,988	CG31267	CG31267	1,880	CG1759	cad	1,799
CG9665	Cpr73D	1,986	CG17816	CG17816	1,875	CG8462	Obp56e	1,798

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG9376	CG9376	1,797	CG7097	hppy	1,737	CG14213	Rcd-1	1,689
CG15747	CG15747	1,796	CG9695	Dab	1,737	CG4903	MESR4	1,688
CG6789	CG6789	1,795	CG6800	CG6800	1,736	CG10092	CG10092	1,686
CG11902	CG11902	1,790	CG14174	CG14174	1,735	CG9415	Xbp1	1,684
CG32164	CG32164	1,790	CG8697	Lcp2	1,733	CG5945	CG5945	1,680
CG5252	Ranbp9	1,789	CG31171	CG31171	1,731	CG18809	CG18809	1,679
CG16728	Git	1,784	CG3461	pn	1,730	CG6865	CG6865	1,678
CG2104	CG2104	1,784	CG9951	CG9951	1,730	CG1116	CG1116	1,677
CG31145	CG31145	1,784	CG9882	Art7	1,729	CG7919	fan	1,677
CG32278	CG32278	1,783	CG10317	CG10317	1,726	CG8422	Dh44-R1	1,677
CG9096	CycD	1,778	CG11661	Nc73EF	1,724	CG31249	CG31249	1,675
CG3051	SNF1A	1,777	CG6551	fu	1,724	CG5277	lp259	1,675
CG11873	CG11873	1,776	CG6903	CG6903	1,722	CG12835	esn	1,674
CG2714	dwg	1,776	CG11844	vig2	1,720	CG18030	Jon99Fi	1,674
CG14593	CCha2r	1,772		alphaTub84		CG9853	CG9853	1,672
CG6838	ArfGAP3	1,770	CG2512	D	1,719	CG1519	Prosalph7	1,671
CG15894	CG15894	1,769	CG17903	Cyt-c-p	1,716	CG31991	mdy	1,670
CG30121	CR30121	1,767	CG3626	CG3626	1,714	CG1403	Sep 01	1,669
CG33256	Lmpt	1,767	CG30149	rig	1,713	CG6933	CG6933	1,668
CG3801	Acp76A	1,767	CG1629	yellow-h	1,712	CG7107	up	1,664
CG10566	CG10566	1,767	CG1787	Hexo2	1,711	CG9115	mtm	1,664
CG10798	dm	1,766	CG5284	CIC-c	1,708	CG10287	Gasp	1,663
CG7808	RpS8	1,766	CG12236	CG12236	1,705	CG7012	nct	1,663
CG8191	CG8191	1,764	CG8474	Meics	1,705	CG17618	CG17618	1,662
CG7062	Rab19	1,762	CG3853	Glut3	1,704	CG4051	egl	1,659
CG13796	CG13796	1,758	CG3421	RhoGAP93B	1,703	CG11878	CG11878	1,658
CG4996	CG4996	1,756	CG5431	St3	1,702	CG9293	CG9293	1,657
CG7104	spz3	1,756	CG41050	CG41050	1,701	CG8230	CG8230	1,656
CG6988	Pdi	1,755	CG5734	CG5734	1,701	CG7122	RhoGAP16F	1,654
CG10303	Osi4	1,754	CG11379	CG11379	1,701	CG8323	CG8323	1,654
CG6022	Cchl	1,754	CG4735	shu	1,700	CG15756	CG15756	1,653
CG7199	Hr78	1,753	CG13856	CG13856	1,697	CG7170	Jon66Cii	1,652
CG10481	CG10481	1,752	CG10466	CG10466	1,696	CG7839	CG7839	1,652
CG11144	mGluRA	1,751	CG32276	CG32276	1,696	CG8195	CG8195	1,652
CG10598	CG10598	1,749	CG1750	CG1750	1,694	CG15172	CG15172	1,648
CG11133	BoYb	1,747	CG13964	sick	1,692	CG9454	Spn42Db	1,648
CG4914	CG4914	1,746	CG9354	RpL34b	1,692	CG7279	Lip1	1,644
CG32267	CG32267	1,742	CG12155	CG12155	1,691	CG15753	CG15753	1,643
CG1978	Or45a	1,739	CG14680	Cyp12e1	1,690	CG13394	CG42820	1,642
CG3942	CG3942	1,739	CG16793	brv2	1,690	CG10837	eIF-4B	1,641
CG4184	MED15	1,737	CG1126	CG1126	1,689	CG11113	CG11113	1,639

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
	7SLRNA:CR3		CG4438	CG4438	1,596	CG40085	CG40085	1,551
CR32864	2864	1,639	CG17855	CG17855	1,595	CG5316	CG5316	1,550
CG1070	Alh	1,638	CG4488	wee	1,595	CG3018	lwr	1,549
CG30177	CG30177	1,637	CG9046	Vm26Ab	1,595	CG5108	mRpS7	1,549
CG31451	CR31451	1,637	CG4497	CG4497	1,593	CG10215	Ercc1	1,548
CG18374	Gyk	1,634	CG7177	Wnk	1,593	CG13229	CG13229	1,548
CG1874	Not1	1,633	CG10686	tral	1,592	CG7998	Mdh2	1,548
CG5011	CG5011	1,632		Prosbeta2R		CG16987	daw	1,547
CG8417	CG8417	1,632	CG18341	1	1,592	CG6347	CG6347	1,547
CG1063	ltp-r83A	1,628	CG6955	Lcp65Ad	1,591	CG3613	qkr58E-1	1,543
CG6948	Clc	1,628	CG9748	bel	1,590	CG10581	CG10581	1,542
CG31784	CG31784	1,627	CG6143	Pep	1,589	CG8396	Ssb-c31a	1,542
CG12158	CG12158	1,625	CG3274	Bap170	1,588	CG5249	Blimp-1	1,541
CG15720	CG42629	1,625	CG12177	CG12177	1,587	CG14556	CG14556	1,540
CG1507	Pur-alpha	1,624	CG30052	Obp49a	1,586	CG9741	Dhod	1,539
CG15785	CG42749	1,624	CG7700	Gos28	1,583	CG13463	CG13463	1,538
CG9000	ste24a	1,624	CG10320	CG10320	1,579	CG18555	CG44002	1,536
CG12263	CG12263	1,620	CG9356	CG9356	1,578	CG3544	CG3544	1,535
CG8237	CG8237	1,620	CG4318	CG4318	1,576	CG1971	CG1971	1,533
CG6669	klg	1,620	CG13284	CG13284	1,575	CG13054	CG13054	1,533
CG15777	CG42265	1,618	CG12284	th	1,571	CG30281	CG30281	1,530
CG14895	Pak3	1,617	CG6415	CG6415	1,571	CG8562	CG8562	1,527
CG32737	CG43736	1,616	CG8023	eIF4E-3	1,570	CG32843	Dh31-R1	1,526
CG1389	tor	1,615	CG10734	CG10734	1,567	CG4265	Uch	1,525
CG7085	l(2)s5379	1,615	CG15261	UK114	1,565	CG6610	CG6610	1,525
CG2772	CG2772	1,611	CG9411	CG9411	1,565	CG30152	CG30152	1,524
CG4394	Traf-like	1,609	CG13424	lms	1,564	CG8597	lark	1,521
CG31508	TotC	1,608	CG41130	Mitf	1,564	CG30403	CG30403	1,520
CG14647	CG14647	1,607	CG31764	vir-1	1,563	CG10013	CG10013	1,519
CG17241	Or94a	1,607	CG17494	CG17494	1,562	CG10563	l(2)37Cd	1,519
CG7884	CG7884	1,606	CG7103	Pvf1	1,561	CG9362	GstZ1	1,517
CG31316	CG31316	1,604	CG32447	CG32447	1,560	CG17932	Ugt36Bc	1,516
CG6543	CG6543	1,604	CG8464	HtrA2	1,559	CG4602	Srp54	1,515
CG18000	sw	1,603	CG9076	Cpr47Ed	1,559	CG13867	MED8	1,514
CG7488	CG7488	1,602	CG15080	CG15080	1,556	CG14059	llp8	1,514
CG11579	arm	1,600	CG13441	Gr57a	1,555	CG11928	CG34351	1,511
CG9746	ird1	1,598	CG33332	CG33332	1,555	CG4697	CSN1a	1,510
CG30279	CG30279	1,598	CG31110	5Ptasel	1,553	CG15740	CG15740	1,508
CG4349	Fer3HCH	1,597	CG3352	ft	1,553	CG31546	CG31546	1,508
CG7246	CG7246	1,597	CG13214	Cpr47Ef	1,552	CG5625	Vps35	1,506
CG17611	eIF6	1,597	CG3006	Fmo-1	1,551	CG17658	CG17658	1,505

Anhang

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG30217	CG43326	1,501	CG3523	CG3523	1,462	CG4886	cyp33	1,387
CG4603	CG4603	1,501	CG7876	Muc18B	1,462	CG31050	CG31050	1,386
CG11398	CG11398	1,500	CG15313	Cht6	1,460	CG11166	Eaf	1,382
CG4337	mtSSB	1,500	CG32582	CG32582	1,460	CG10639	CG10639	1,381
CG7975	Grx-1	1,500	CG7918	CG7918	1,460	CG8322	ATPCL	1,380
CG1158	Tim17b1	1,499	CG10844	Rya-r44F	1,456	CG6854	CTPsyn	1,379
CG8481	CG8481	1,499	CG2968	l(1)G0230	1,452	CG11563	CG11563	1,374
CG2162	CG2162	1,498	CG7481	RhoGAP18B	1,452	CG11859	CG11859	1,370
CG12975	CG12975	1,495	CG6211	gce	1,448	CG5038	CG5038	1,370
CG31637	CG31637	1,495	CG7931	janB	1,447	CG30181	CG30181	1,368
CG15803	CG15803	1,491	CG11458	CG11458	1,446	CG32417	Myt1	1,367
CG17853	Or43b	1,491	CG9077	Cpr47Ec	1,445	CG3973	pigs	1,361
CG32919	CG10097	1,491	CG9581	CG9581	1,444	CG6541	Mst33A	1,359
CG5300	Klp31E	1,491	CG33493	CG33493	1,443	CG1021	CG1021	1,357
CG7354	mRpS26	1,491	CG7169	S1P	1,443	CG33303	CG33303	1,357
CG11153	Sox102F	1,490	CG16749	CG16749	1,442	CG16761	Cyp4d20	1,355
CG4089	CG4089	1,490	CG13506	CG13506	1,437	CG8374	dmt	1,355
CG7974	CG7974	1,490	CG5215	Zn72D	1,437	CG12814	CG12814	1,354
CG1115	CG1115	1,489	CG8850	CG8850	1,436	CG9281	CG9281	1,351
CG13454	CG13454	1,489	CG8327	SpdS	1,433	CG31373	CG31373	1,349
CG30019	CG18003	1,489	CG14638	TwdIU	1,432	CG8760	dysc	1,348
CG3085	CG3085	1,489	CG15541	CG34433	1,429	CG11970	CG11970	1,345
CG6291	ApepP	1,489	CG9388	AP-47	1,425	CG10660	CG10660	1,342
CG7039	CG7039	1,489	CG3849	Lasp	1,421	CG3294	CG3294	1,338
CG40275	CG40275	1,488	CG8138	CG8138	1,421	CG9347	ninaB	1,338
CG4249	c(2)M	1,488	CG31648	CG31648	1,416	CG13364	CG13364	1,336
CG10062	CG10062	1,485	CG31776	CG31776	1,415	CG15860	pain	1,332
CG17522	GstE10	1,485	CG6115	CG6115	1,415	CG4004	CG4004	1,332
CG4326	mRpS17	1,485	CG12911	CG12911	1,414	CG13610	Orct2	1,329
CG7772	CG7772	1,485	CG5473	SP2637	1,413	CG18617	Vha100-2	1,329
CG4781	CG4781	1,483	CG10812	Drsl5	1,407	CG10662	sick	1,328
CG6201	CG6201	1,483	CG8197	CG8197	1,405	CG4236	Caf1	1,327
CG17260	CG17260	1,482	CG10339	CG10339	1,404	CG14960	CG14960	1,326
CG33103	Ppn	1,482	CG10591	CG10591	1,403	CG9284	CR9284	1,317
CG6304	CG6304	1,481	CG6000	CG6000	1,402	CG7972	mus301	1,311
CG3048	Traf4	1,474	CG5590	CG5590	1,401	CG6095	exo84	1,297
CG10864	CG10864	1,472	CG4561	Aats-tyr	1,398	CG5119	hyd	1,295
CG3059	NTPase	1,471	CG30160	CG30160	1,393	CG3527	CG3527	1,294
CG30278	CG30278	1,467	CG11141	CG11141	1,390	CG1871	e(r)	1,293
CG11308	sa	1,464	CG11753	CG11753	1,390	CG10763	Gbeta5	1,291
CG5171	CG5171	1,464	CG11762	CG11762	1,390	CG18636	CG18636	1,282

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG3837	CG3837	1,280
CG7519	CG7519	1,277
CG15275	CG42313	1,275
CG1670	Obp19b	1,261
CG18607	CG18607	1,246
CG1916	Wnt2	1,246
CG13041	CG13041	1,242
CG31305	fabp	1,230
CG6249	Csl4	1,209
CG7497	CG7497	1,209
CG7394	CG7394	1,204
CG11590	CG11590	1,196
CG11241	CG11241	1,187
CG11624	Ubi-p63E	1,182
CG8865	Rgl	1,164
CG10572	Cdk8	1,158
CG8913	Irc	1,151
CG6492	Ucp4A	1,137
CG4205	Fdxh	1,136
CG10173	Best2	1,135
CG5121	MED28	1,135
CG17375	CG17375	1,130
CG5020	CLIP-190	1,128
CG14794	Nmdar2	1,112
CG3700	CG3700	1,087
CG5903	CG5903	1,032
CG33149	Mlp60A	1,027
CG9781	obst-G	1,004
CG5484	CG5484	0,882
CG13445	CG13445	0,787
CG32284	CG32284	0,535

Tab. A2: Gene, die im Fettkörper von Weibchen, die Sir2 überexprimieren, in mindestens 2 von 3 biologischen Replikaten mehr als 1,5fach abreguliert waren.

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG10147	CG10147	0,407	CG12091	CG12091	0,442	CG14032	Cyp4ac1	0,156
CG10237	CG10237	0,539	CG12094	CG34104	0,583	CG14050	CG14050	0,424
CG10306	CG10306	0,563	CG12106	CG12106	0,339	CG14096	CG14096	0,161
CG1044	dos	0,59	CG12108	Ppt1	0,656	CG14207	CG14207	0,375
CG1049	Cct1	0,554	CG12133	CG12133	0,487	CG14275	CG14275	0,603
CG10494	CG10494	0,795	CG12262	CG12262	0,615	CG14353	CG14353	0,378
CG10559	CG10559	0,585	CG12338	CG12338	0,636	CG14438	CG14438	0,708
CG10697	Ddc	0,614	CG12389	Fpps	0,493	CG14443	CG14443	0,531
CG10706	SK	0,387	CG1240	CG1240	0,58	CG14477	mbl	0,53
CG10738	CG10738	0,548	CG12420	CG12420	0,882	CG14483	CG14483	0,587
CG1074	CG1074	0,2	CG12424	ckn	0,177	CG14491	CG14491	0,606
CG10749	CG10749	0,263	CG1244	MEP-1	0,368	CG14502	CG14502	0,2
CG10759	Or7a	0,697	CG12508	CG43861	0,066	CG14763	CG14763	0,637
CG10794	DptB	0,061	CG12519	CG12519	0,604	CG14841	CG14841	0,193
CG10850	ida	0,24	CG1264	lab	0,621	CG14957	CG14957	0,193
CG10858	CG10858	0,193	CG12708	CG12708	0,556	CG14981	mge	0,727
CG10868	orb	0,478	CG12720	Ten-a	0,708	CG14990	CG14990	0,689
CG10897	tou	0,117	CG12740	RpL28	0,291	CG14995	CG14995	0,173
CG10909	CG10909	0,263	CG12765	fsd	0,519	CG14998	ens	0,799
CG10928	CG10928	0,758	CG12799	Ubc84D	0,765	CG15010	ago	0,821
CG10934	CG10934	0,732	CG12809	nerfin-2	0,144	CG15033	CheA7a	0,729
CG11018	CG11018	0,13	CG12822	CG12822	0,663	CG15065	CG15065	0,646
CG11019	CG31688	0,574	CG12923	CG12923	0,088	CG15069	Rgk2	0,223
CG11107	CG11107	0,57	CG12936	mms4	0,494	CG15083	CG15083	0,357
CG11159	CG11159	0,549	CG13094	Dh31	0,794	CG15088	List	0,071
CG11203	CG43901	0,127	CG13106	Or30a	0,917	CG15151	rdo	0,601
CG11219	PIP82	0,343	CG13170	CG13170	0,054	CG1520	WASp	0,641
CG11242	CG11242	0,319	CG13202	CG13202	0,832	CG15203	CG15203	0,657
CG11281	snky	0,522	CG13320	Sans	0,632	CG15214	CG34391	0,118
CG11448	CG11448	0,535	CG13330	CG13330	0,647	CG1523	CG1523	0,44
CG11459	CG11459	0,121	CG13345	tum	0,585	CG1529	CG1529	0,21
CG1154	Osi12	0,439	CG13426	CG13426	0,525	CG15309	CG15309	0,398
CG11601	CG11601	0,07	CG13625	CG13625	0,609	CG15344	CG15344	0,047
CG11654	Ahcy13	0,389	CG13645	Nmnat	0,532	CG15358	CG15358	0,517
CG11671	CG11671	0,38	CG13732	qjt	0,118	CG15483	CG15483	0,377
CG11686	CG11686	0,473	CG13761	Bzd	0,651	CG15533	CG15533	0,325
CG11710	CG11710	0,504	CG1381	RpLP0-like	0,611	CG15538	Osi23	0,432
CG11908	rha	0,645	CG13826	cnc	0,679	CG15555	CG15555	0,095
CG11994	Ada	0,566	CG13875	CG13875	0,068	CG15633	CG34351	0,337
CG12014	CG12014	0,65	CG13887	CG13887	0,52	CG1602	CG1602	0,376
CG12047	mud	0,528	CG13980	CG42534	0,074	CG1675	Ntmt	0,459
CG12066	Pka-C2	0,357	CG14014	CG14014	0,08	CG16894	CG16894	0,267
CG1208	CG1208	0,695	CG14023	Ncoa6	0,427	CG16965	CG16965	0,745

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG16983	skpA	0,148
CG16996	Phae1	0,254
CG1702	GstT3	0,558
CG17034	CG42321	0,561
CG17148	Est-P	0,063
CG17200	Ugt86Dg	0,11
CG17208	mun	0,053
CG17218	crok	0,57
CG17224	CG17224	0,323
CG17230	CG17230	0,581
CG17248	n-syb	0,18
CG17264	CG17264	0,223
CG17293	Wdr82	0,096
CG17565	CG17565	0,513
CG17601	CG17601	0,326
CG17732	CG17732	0,731
CG1774	CG1774	0,511
CG17906	CG17906	0,613
CG17930	CG17930	0,596
CG18031	CG18031	0,543
CG18179	CG18179	0,684
CG1825	Map60	0,445
CG18271	slx1	0,182
CG1908	CG1908	0,86
CG2009	bip2	0,743
CG2031	Hpr1	0,571
CG2051	CG2051	0,452
CG2059	CG2059	0,613
CG2150	CG2150	0,469
CG2152	Pcmt	0,19
CG2155	v	0,76
CG2358	twr	0,107
CG2621	sgg	0,432
CG2684	lds	0,052
CG2698	CG2698	0,483
CG2788	Dot	0,299
CG2852	CG2852	0,071
CG2957	mRpS9	0,576
CG2961	lpod	0,048
CG2973	Cpr23B	0,116
CG30038	MCPH1	0,399
CG30071	CG30071	0,116
CG30118	CG30118	0,146
CG30194	CG30194	0,536
CG30322	Sema-2b	0,549

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG30353	CG30353	0,06
CG30429	CG30429	0,469
CG30438	CG30438	0,298
CG30480	CG30480	0,532
CG3081	CG3081	1.084
CG31013	CG31013	0,34
CG3107	CG3107	0,093
CG31160	CG34376	0,693
CG31235	CG31235	0,556
CG31245	CG31245	0,139
CG31283	CG31283	0,539
CG31312	mld	0,304
CG31436	CG31436	0,292
CG31484	CG31484	0,35
CG31605	Bsg	0,569
CG31609	CG31609	0,118
CG31626	CG31626	0,128
CG3164	CG3164	0,6
CG31662	Gr22a	0,14
CG3168	CG3168	0,588
CG31694	CG31694	0,476
CG31730	CG31730	0,523
CG31738	CG42389	0,131
CG31744	Gr36b	0,553
CG31765	nimA	0,531
CG31789	CG31789	0,445
CG31807	CG31807	0,52
CG31832	CG31832	0,608
CG31855	CG31855	0,458
CG31873	Mulk	0,475
CG31937	CG31937	0,691
CG31988	CG31988	0,04
CG32032	CG32032	0,529
CG32044	CG42268	0,084
CG32171	Lmpt	0,32
CG32250	CG32250	0,435
CG3226	CG3226	0,483
CG32368	CG32368	0,609
CG32532	CG32532	0,689
CG32568	CG32568	0,04
CG3267	CG3267	0,085
CG32715	CG32715	0,2
CG32971	CG32971	0,419
CG3301	CG3301	0,432
CG33070	Sxl	0,343

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG33114	Gyc32E	0,425
CG33142	ste24c	0,107
CG33144	CG33144	0,146
CG33151	Gr59e	0,777
CG33166	stet	0,734
CG33207	pxb	0,787
CG33213	CG33213	0,68
CG33223	CG33223	0,078
CG33279	CG42458	0,688
CG33455	mute	0,492
CG3371	ebd1	0,067
CG3373	Hmu	0,332
CG3434	CG3434	0,447
CG3525	eas	0,669
CG3597	CG3597	0,429
CG3624	babos	0,572
CG3704	CG3704	0,07
CG3760	CG3760	0,04
CG3772	cry	0,42
CG3909	CG3909	0,57
CG3927	CG3927	0,735
CG3948	zetaCOP	0,575
CG3957	wmd	0,105
CG3998	zf30C	0,755
CG40002	CG40002	0,601
CG40123	spok	0,201
CG40131	CG40131	0,731
CG4084	l(2)not	0,65
CG4099	Sr-CI	0,521
CG4103	l(2)35Bc	0,263
CG4110	ppk16	0,486
CG41106	CG41106	0,283
CG41107	CG41107	0,694
CG4118	nxf2	0,203
CG4125	rst	0,461
CG4170	vig	0,435
CG4198	CG4198	0,424
CG4342	mun	0,08
CG4510	Surf6	0,83
CG4605	Acp32CD	0,189
CG4648	CG42399	0,86
CG4669	CG4669	0,357
CG4696	Mp20	0,345
CG4699	wah	0,289
CG4712	CG4712	0,54

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG4713	l(2)gd1	0,474
CG4729	CG4729	0,368
CG4741	CG4741	0,403
CG4743	CG4743	0,575
CG4760	bol	0,752
CG4780	membrin	0,156
CG4836	CG4836	0,192
CG4921	Rab4	0,592
CG4930	EndoGl	0,59
CG5044	CG5044	0,677
CG5048	CG5048	0,065
CG5093	Doc3	0,207
CG5154	Idgf5	0,654
CG5164	GstE1	0,766
CG5172	CG5172	0,297
CG5258	NHP2	0,505
CG5262	CG5262	0,137
CG5303	mei-S332	0,438
CG5327	CG5327	0,344
CG5334	CG5334	0,284
CG5377	CG5377	0,689
CG5378	Rpn7	0,613
CG5408	trbl	0,699
CG5428	St1	0,55
CG5435	CG5435	0,035
CG5444	Taf4	0,374
CG5482	CG5482	0,762
CG5510	CG5510	0,566
CG5516	CG5516	0,513
CG5554	CG5554	0,776
CG5566	CG34353	0,038
CG5611	CG5611	0,655
CG5714	ecd	0,852
CG5740	CG42390	0,328
CG5811	NepYr	0,05
CG5819	CG5819	0,657
CG5890	CG5890	0,448
CG5938	CG5938	0,644
CG6038	crim	0,266
CG6104	m2	0,084
CG6119	Vmat	0,046
CG6129	Rootletin	0,711
CG6140	CG6140	0,192
CG6205	por	0,663
CG6265	Nep5	0,555

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG6361	CG6361	0,249
CG6428	CG6428	0,495
CG6443	CG6443	0,093
CG6463	CG6463	0,108
CG6475	CG6475	0,506
CG6490	CG6490	0,205
CG6562	synj	0,376
CG6615	scaf6	0,449
CG6620	ial	0,183
CG6660	CG6660	0,689
CG6667	dl	0,281
CG6687	Spn88Eb	0,309
CG6705	tsl	0,544
CG6827	Nrx-IV	0,395
CG6874	HipHop	0,705
CG6891	CG6891	0,119
CG6959	CG6959	0,4
CG6978	CG6978	0,214
CG7007	VhaPPA1-1	0,451
CG7013	Manf	0,575
CG7057	AP-50	0,554
CG7065	CG7065	0,373
CG7238	sip1	0,519
CG7260	byn	0,422
CG7274	CG34422	0,656
CG7277	CG7277	0,541
CG7428	halo	0,695
CG7445	fln	0,48
CG7466	CG7466	0,596
CG7467	osa	0,562
CG7471	Rpd3	0,052
CG7595	ck	0,61
CG7675	CG7675	0,024
CG7697	CstF-64	0,359
CG7704	Taf5	0,695
CG7712	CG7712	0,265
CG7756	Hsc70-2	0,628
CG7911	CG7911	0,675
CG7926	Axn	0,836
CG7985	CG7985	0,158
CG8032	CG8032	0,58
CG8097	CG8097	0,801
CG8127	Eip75B	0,374
CG8199	CG8199	0,368
CG8254	exex	0,077

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG8286	P58IPK	0,73
CG8328	HLHmdelt a	0,164
CG8418	Ric	0,404
CG8561	conv	0,502
CG8746	CG8746	0,439
CG8817	lilli	0,404
CG8831	Nup54	0,627
CG8878	CG8878	0,765
CG8998	Roc2	1.538
CG9023	Drip	0,084
CG9068	CG9068	0,716
CG9184	CG9184	0,346
CG9213	CG9213	0,734
CG9235	CG9235	0,658
CG9257	CG9257	0,772
CG9323	CG9323	0,713
CG9325	hts	0,602
CG9345	Adgf-C	0,812
CG9394	CG9394	0,734
CG9449	CG9449	0,911
CG9523	l(2)k11101	0,434
CG9526	frj	0,696
CG9536	CG9536	0,571
CG9556	alien	0,684
CG9591	omd	0,695
CG9640	CG9640	0,638
CG9682	CG9682	0,529
CG9740	CG9740	0,394
CG9753	AdoR	0,44
CG9895	CG42741	0,706
CG9918	Pk1r	0,612
CG9925	CG9925	0,759
CG9926	CG9926	0,677
CG9953	CG9953	0,551
CG10160	ImpL3	0,391
CG10207	NaPi-T	0,6
CG10383	CG10383	0,459
CG1064	Snr1	0,322
CG1108	alpha-Est6	0,105
CG11388	CG11388	0,311
CG11486	CG11486	0,514
CG11757	CG34348	0,328
CG12018	CG12018	0,254
CG12441	CG34109	0,468
CG12656	CG12656	0,192

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG13717	axo	0,216
CG13830	CG13830	0,056
CG1402	CG1402	0,268
CG14153	CG14153	0,215
CG14550	CG14550	0,429
CG15060	CG15060	0,285
CG15118	CG15118	0,528
CG15166	CG15166	0,425
CG15609	Ehbp1	0,312
CG16718	CG16718	0,414
CG18530	CG18530	0,36
CG1980	dj	0,438
CG3093	dor	0,518
CG3171	Tre1	0,457
CG31958	CG31958	0,155
CG32234	axo	0,355
CG32640	CG32640	0,545
CG33204	Doa	0,279
CG3333	Nop60B	0,445
CG6813	CG6813	0,436
CG6834	CG6834	0,427
CG7242	Spc25	0,201
CG7637	CG7637	0,568
CG8295	Mlf	0,311
CG8399	CG8399	0,387
CG8977	Cctgamma	0,353
CG9664	CG9664	0,586
CG9884	oaf	0,236

Tab. A3: Gene, die im Fettkörper von Männchen, die Sir2 überexprimieren, in mindestens 2 von 3 biologischen Replikaten mehr als 1,5fach hochreguliert waren.

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG10060	G- ialpha65 A	1,448	CG11409	CG11409	1,968	CG1524	RpS14a	1,517
CG10079	Egfr	1,954	CG11444	CG11444	1,843	CG15283	CG15283	1,486
CG10092	CG10092	1,272	CG11466	Cyp9f2	1,744	CG1532	CG1532	1,636
CG10131	CG10131	1,666	CG11693	CG11693	1,427	CG15354	CG33543	1,564
CG10147	CG10147	2,299	CG11771	CG11771	1,69	CG15570	CG15570	1,778
CG10158	CG10158	1,318	CG11778	CNT1	1,297	CG15609	Ehbp1	2,08
CG1017	Mfap1	1,385	CG11861	Cul-3	1,741	CG15747	CG15747	1,331
CG10186	CG10186	1,52	CG11878	CG11878	1,753	CG15887	CG15887	1,327
CG10205	CG10205	1,187	CG12210	Syb	1,46	CG1594	hop	1,49
CG10243	Cyp6a19	0,972	CG12259	CG12259	1,578	CG1631	CG1631	1,8
CG10309	pad	1,258	CG12400	CG12400	1,339	CG1652	lectin- 46Cb	1,049
CG10339	CG10339	1,451	CG12529	Zw	1,591	CG1674	CG1674	1,327
CG10345	CG10345	1,706	CG12674	CG12674	1,689	CG16801	Hr51	1,412
CG1046	zen	1,409	CG12765	fsd	1,499	CG16837	CG16837	1,715
CG10477	CG10477	1,582	CG13000	CG13000	1,295	CG16848	CG16848	2,021
CG10484	Rpn3	1,479	CG13079	Tep5	1,282	CG16852	CG16852	2,234
CG10653	hk	1,423	CG1308	CG43367	1,7	CG16873	nimB5	1,717
CG10694	CG10694	1,371	CG13117	CG13117	1,534	CG16880	nimC3	1,504
CG10722	nesd	2,16	CG13120	CG44152	1,441	CG16902	Hr4	1,664
CG10747	CG10747	1,49	CG13364	CG13364	1,262	CG16978	CG16978	1,48
CG10799	CG10799	3,956	CG13424	lms	1,493	CG17202	CG17202	1,294
CG10810	Drs	2,021	CG13661	lobo	1,737	CG17347	l(2)37Ce	1,434
CG1082	alpha- Est4	1,517	CG13796	CG13796	1,631	CG17377	CG17377	2,846
CG10822	CG10822	1,744	CG13966	CG43861	1,545	CG17378	CG17378	2,092
CG10837	eIF-4B	1,513	CG14207	CG14207	1,958	CG1744	chp	1,83
CG10839	CG10839	1,652	CG14213	Rcd-1	1,524	CG17559	dnt	1,5
CG1086	Glut1	1,734	CG1424	mst	1,442	CG17569	gry	1,37
CG10874	CG10874	1,447	CG14275	CG14275	2,794	CG17782	CG17782	1,635
CG10913	Spn6	0,762	CG14328	CG14328	2,466	CG17883	CG17883	1,604
CG10946	dpr14	1,465	CG14341	CG14341	2,305	CG17959	CG17959	1,887
CG10948	CG10948	1,322	CG14387	d-cup	2,675	CG18012	CG18012	2,247
CG11024	cl	1,341	CG14426	nullo	1,655	CG18110	CG18110	2,019
CG11113	CG11113	1,428	CG14450	CG14450	1,47	CG18132	CG18132	1,725
CG11221	CG11221	1,652	CG14488	CG14488	1,413	CG18193	CG18193	1,649
CG11257	CG11257	1,442	CG14752	CG14752	1,794	CG18234	CG18234	1,598
CG11281	snky	1,344	CG14817	CG14817	1,457	CG1835	CG1835	2,05
CG11303	TM4SF	1,357	CG14872	CG44014	1,448	CG18374	Gyk	2,164
CG11319	CG11319	2,01	CG14990	CG14990	1,283	CG18467	CG18467	1,29
CG11330	cort	1,369	CG14997	CG14997	1,407	CG18468	Lhr	1,893
CG1136	CG1136	1,778	CG1506	Ac3	2,036	CG18539	CG18539	2,134
CG11378	CG11378	0,927	CG15067	CG15067	2,267	CG18555	CG44002	2,344
			CG15068	CG15068	2	CG18578	Ugt86Da	1,408
			CG15083	CG15083	1,415			

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG18581	CG18581	1,668
CG18604	Sik3	1,404
CG18627	betaggt-II	1,848
CG18628	CG18628	1,774
CG18641	CG18641	2,096
CG18646	CG42629	1,765
CG18731	CG18731	1,277
CG18764	CG18764	2,001
CG18787	CG18787	4,454
CG1963	Pcd	1,418
CG1967	p24-1	0,909
CG2183	CG2183	2,044
CG2478	bru	2,362
CG2534	cno	2,033
CG2675	Csat	1,506
CG2720	Hop	2,257
CG2819	Pph13	1,485
CG30045	Cpr49Aa	1,441
CG30051	CG30051	1,333
CG30062	CG30062	1,305
CG30083	CG30083	2,29
CG30149	rig	1,575
CG30177	CG30177	1,424
CG30187	CG30187	1,392
CG30457	CG30457	1,4
CG30477	CG30477	1,437
CG3064	futsch l(1)G014 4	1,251
CG3073	PH4alpha SG1	1,504
CG31014	SG1	1,663
CG31286	CG31286	3,561
CG31313	CG31313	1,379
CG31441	CG31441	1,589
CG31453	pch2	2,023
CG31508	TotC	1,928
CG31519	Or82a	2,058
CG31545	CG31545	2,135
CG31546	CG31546	1,913
CG31557	Obp83ef	1,719
CG3161	Vha16-1 His2A:CG	1,539
CG31618	31618	1,68
CG31623	dtr	1,074
CG31709	CG31709	2,034
CG31778	CG31778	1,856
CG31817	CG31817	1,578

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG31821	CG31821	2,709
CG31842	mRpS23	1,284
CG31851	CG31851	2,156
CG31859	CG31859	1,341
CG32267	CG32267	2,03
CG32276	CG32276	1,533
CG32332	CG9133	2,79
CG32435	chb	1,623
CG3246	CG3246	1,416
CG32469	Glut4EF	1,446
CG32485	CG32485	1,177
CG32577	disco-r	2,068
CG32662	CG43154	1,365
CG32670	Rab9Fb	2,161
CG32700	CG32700	1,63
CG3273	sced	1,809
CG32940	Pif1B	1,3
CG33125	CG33125	1,802
CG33192	MtnD	1,947
CG3322	LanB2	1,368
CG33286	CG33286	2,409
CG33330	jvl	1,567
CG3527	CG3527	1,477
CG3567	Cyp6u1	1,494
CG3661	RpL23	1,823
CG3701	CG3701	1,502
CG3705	aay	3,652
CG3723	Dhc93AB	1,31
CG3725	Ca-P60A	1,433
CG3746	CG3746	2,437
CG40128	CG40128	1,363
CG40188	CG40188	1,474
CG40203	CG40203	1,942
CG40287	CR41440	1,77
CG40322	CG40322	2,476
CG4087	RpLP1	2,615
CG4162	lace	1,84
CG4233	Got2	1,159
CG4247	mRpS10	1,5
CG4271	CG4271	1,688
CG4329	CG4329	2,583
CG4438	CG4438	1,447
CG4481	Glu-RIB	1,414
CG4720	Pk92B	2,405
CG4741	CG4741	1,706

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG4751	CG4751	9,629
CG4785	CG4785	2,117
CG5003	CG5003	1,518
CG5069	croc	1,384
CG5070	CG5070	1,235
CG5073	CG5073	1,534
CG5186	slim	1,093
CG5315	CG5315	1,026
CG5493	CG5493	1,664
CG5634	dsd	1,219
CG5734	CG5734	1,401
CG5773	CG5773	1,579
CG5778	CG5778	1,395
CG5809	CaBP1 Hsp70Bb	1,327
CG5834	b	1,335
CG5850	CG5850	1,698
CG5874	Nelf-A	1,686
CG5915	Rab7 DNApol- alpha73	1,411
CG5923	alpha73	1,878
CG6156	CG34404	1,609
CG6219	cav	1,235
CG6361	CG6361	1,572
CG6375	pit	5,499
CG6425	CG6425	1,793
CG6434	CG6434	3,624
CG6551	fu	1,641
CG6778	Aats-gly	1,63
CG6833	CG6833	3,408
CG6912	CG6912	1,542
CG6993	ss	1,415
CG7005	Esp	2,45
CG7014	RpS5b	1,534
CG7053	CG7053	1,299
CG7137	CG7137	1,163
CG7245	eyes	1,392
CG7269	Hel25E	1,156
CG7297	pgant8	1,676
CG7454	Or85a	1,568
CG7497	CG7497	1,881
CG7668	CG7668	1,321
CG7713	CG7713	2,14
CG7759	CG7759	1,306
CG7768	CG7768	1,264
CG7787	CG7787	1,94

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG7823	RhoGDI	1,857
CG7829	CG7829	1,579
CG7834	CG7834	1,428
CG7882	CG7882	1,631
CG7933	janA	2,064
CG7936	mex1	1,358
CG7950	CG7950	1,413
CG7967	CG7967	1,427
CG7978	Ac76E	1,498
CG8476	CG8476	1,28
CG8520	CG8520	1,716
CG8533	lr76a	6,501
CG8585	lh	1,458
CG8610	Cdc27	1,274
CG8611	CG8611	1,328
CG8613	CG8613	1,354
CG8625	lswi	1,259
CG8704	dpn	5,24
CG8722	Nup44A	1,504
CG8757	CG8757	1,698
CG8817	lilli	1,575
CG8877	Prp8	1,535
CG8902	Nuf2	1,892
CG8963	CG8963	2,141
CG9060	Zpr1	1,788
CG9072	CG9072	1,496
CG9122	Trh	1,701
CG9183	plu	1,379
CG9224	sog	2,557
CG9231	CG9231	1,555
CG9282	Rpl24	1,353
CG9346	CG9346	1,348
CG9362	GstZ1	1,416
CG9398	king- tubby	1,427
CG9456	Spn1	1,579
CG9506	slam	1,423
CG9533	rut	1,295
CG9553	chic	1,353
CG9587	bbg	1,552
CG9686	CG9686	1,619
CG9769	CG9769	1,901
CG9945	CG9945	1,433
CG9989	CG9989	1,056
CR31379	snRNA:U 6:96Aa	1,528

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CR32660	CR32660	2,379
CR32665	roX2	1,444
CR32895	snoRNA: U29:54E d	2,536
CR32905	snoRNA: Me28S- A1322	2,141
CR32910	snoRNA: U49:66D b	1,357
CG11574	CG42233	2,459
CG16914	Lcp9	2,044
CG18102	shi	2,408
CG18140	Cht3	2,212
CG2201	CG2201	1,607
CG2906	CG2906	1,987
CG31230	CG31230	2,532
CG32104	CG32104	1,893
CG33497	Sdic2	2,465
CG7698	Cpsf73	1,833
CG9993	CG9993	3,046
CR31511	alpha- Est4aPsi	2,047

Tab. A4: *Gene, die im Fettkörper von Männchen, die Sir2 überexprimieren, in mindestens 2 von 3 biologischen Replikaten mehr als 1,5fach abreguliert waren.*

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG10200	CG10200	0,665	CG13993	CG13993	0,664	CG2788	Dot	0,31
CG10237	CG10237	0,542	CG14096	CG14096	0,441	CG2910	nito	0,7
CG10240	Cyp6a22	0,61	CG14160	CG14160	0,737	CG2957	mRpS9	0,694
CG10298	CG10298	0,622	CG14353	CG14353	0,494	CG30044	s-cup	0,636
CG10375	CG10375	0,701	CG14407	CG14407	0,689	CG30142	Obp57b	0,528
CG10376	CG10376	0,554	CG14443	CG14443	0,623	CG3018	lwr	0,735
CG10385	msl-1	0,644	CG1455	CanA1	0,457	CG30188	CG34371	0,713
CG10388	Ubx	0,53	CG14550	CG14550	0,59	CG30287	CG30287	0,66
CG10422	bam	0,683	CG14921	CG14921	0,475	CG30401	CG30401	0,268
CG10444	CG10444	0,595	CG14957	CG14957	0,464	CG30429	CG30429	0,746
CG10513	CG10513	0,27	CG14995	CG14995	0,357	CG30475	aPKC	0,454
CG10573	ko	0,558	CG15211	CG15211	0,68	CG31013	CG31013	0,548
CG10855	ntc	0,465	CG16755	Or85f	0,909	CG31220	CG31220	0,17
CG10858	CG10858	0,227	CG16757	CG32295	0,144	CG31314	Neu3	0,46
CG11018	CG11018	0,171	CG16827	alphaPS4	0,453	CG31373	CG31373	0,369
CG11019	CG31688	0,634	CG1683	Ant2	0,311	CG3164	CG3164	0,641
CG11069	CG11069	0,637	CG16836	CG16836	0,773	CG31882	CG31882	0,578
CG1112	alpha-Est7	0,412	CG16894	CG16894	0,427	CG32029	Cpr66D	0,642
CG11121	so	0,513	CG16903	CG16903	0,767	CG32032	CG32032	0,835
CG11159	CG11159	0,552	CG16905	eloF	0,494	CG32368	CG32368	0,471
CG11191	CG11191	0,691	CG16996	Phae1	0,414	CG32437	CG32437	0,852
CG11219	PIP82	0,338	CG17248	n-syb	0,562	CG32537	CG32537	0,71
CG11321	CG11321	0,671	CG17264	CG17264	0,583	CG32715	CG32715	0,35
CG11421	Obp83a	0,734	CG17440	CG17440	0,634	CG32743	nonC	0,538
CG11486	CG11486	0,831	CG17838	Syp	0,726	CG32951	CG9960	0,322
CG11505	CG11505	0,802	CG17888	Pdp1	0,676	CG33144	CG33144	0,499
CG11750	Pa1	0,832	CG17928	CG17928	0,862	CG33274	Dscam4	0,67
CG11977	CG11977	0,607	CG18039	KaiRIA	0,668	CG3353	CG3353	0,72
CG12061	CG12061	0,559	CG18041	dgt1	0,652	CG3639	Pex12	0,703
CG12729	CG12729	0,291	CG18066	Cpr57A	0,325	CG3650	CG3650	0,754
CG13091	CG13091	0,299	CG18139	Hmx	0,495	CG3699	CG3699	0,665
CG13106	Or30a	0,63	CG18212	alt	0,376		gammaS	
CG13123	CG13123	0,578	CG18258	CG18258	0,294	CG3988	nap	0,704
CG13285	CG13285	0,636	CG1844	SelG	0,633	CG3989	ade5	0,683
CG13426	CG13426	0,648	CG18636	CG18636	0,605	CG40131	CG40131	0,592
CG13517	Obp59a	0,798	CG18779	Lcp65Ag3	0,745	CG40177	CG40177	0,553
CG13596	CG33988	1,029	CG18801	Ku80	0,832	CG4101	CG4101	0,637
CG1362	cdc2rk	0,152	CG18853	CG18853	0,582	CG4212	Rab14	0,652
CG13698	CG13698	0,704	CG1903	sno	0,752	CG4374	CG4374	0,285
CG1389	tor	0,649	CG2046	CG2046	0,69	CG4482	mol	0,206
CG13948	Gr21a	0,183	CG2233	CG2233	0,49	CG4501	bgm	0,775
CG13954	CG13954	0,771	CG2257	Ubc-E2H	0,779	CG4630	CG4630	0,378
			CG2684	lds	0,164	CG4697	CSN1a	0,593

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG4699	wah	0,524
CG4738	Nup160	0,156
CG4780	membrin	0,604
CG5011	CG5011	0,506
CG5056	CG5056	0,751
CG5125	ninaC	0,671
CG5399	CG5399	0,522
CG5436	Hsp68	0,683
CG5599	CG5599	0,578
CG5804	CG5804	0,461
CG5965	woc	0,545
CG6119	Vmat	0,229
CG6412	CG6412	0,622
CG6453	CG6453	0,644
CG6459	P32	0,407
CG6472	CG6472	0,16
CG6484	CG6484	0,365
CG6490	CG6490	0,392
CG6568	CG6568	0,757
CG6758	CG6758	0,608
CG6827	Nrx-IV	0,792
CG7038	mRpL30	0,658
CG7045	CG7045	0,549
CG7092	Dhc16F	0,566
CG7101	CG7101	0,614
CG7311	CG7311	0,648
CG7637	CG7637	0,13
CG7853	Papst2	0,54
CG7864	Pex10	0,658
CG7865	Pngl	0,738
CG7920	CG7920	0,632
CG7997	CG7997	0,588
CG8193	PO45	0,733
CG8200	Flo-1	0,453
CG8221	Amyrel	0,518
CG8399	CG8399	0,498
CG8727	cyc	0,619
CG8956	Ahcy89E Cctgamm	0,424
CG8977	a	0,663
CG9033	Tsp47F	0,597
CG9117	CG9117	0,191
CG9175	CG9175	0,509
CG9181	Ptp61F	0,757
CG9372	CG9372	0,705
CG9384	CG9384	0,665

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG9386	CG9386	0,567
CG9395	CG9395	0,71
CG9505	CG9505	0,734
CG9589	CG9589	0,899
CG9603	CG9603	0,624
CG9761	Nep2	0,208
CG9855	CG9855	0,559
CG9894	CG9894	0,755
CG9981	CG9981	0,287
CR32489	CR32489	0,708
CG11200	CG11200	0,418
CG11203	CG43901	0,274
CG12441	CG34109	0,458
CG12508	CG43861	0,4
CG1330	Ccp84Ae	0,191
CG13548	CG34371	0,442
CG14014	CG14014	0,12
CG16727	CG16727	0,362
CG18530	CG18530	0,57
CG1910	CG1910	0,612
CG2826	lectin- 21Ca	0,568
CG2945	cin	0,583
CG2961	lpod	0,245
CG30033	CG30033	0,321
CG32611	mamo	0,487
CG3267	CG3267	0,075
CG32920	Prx5	0,239
CG33127	CG33127	0,62
CG3876	CG3876	0,57
CG3938	CycE	0,461
CG4761	knrl	0,472
CG5289	Pros26.4	0,401
CG5853	CG5853	0,582
CG5999	CG5999	0,389
CG6070	gb	0,591
CG6145	CG6145	0,433
CG6547	mRpL37	0,467
CG6642	a10	0,547
CG6792	CG6792	0,237
CG6891	CG6891	0,107
CG7138	r2d2	0,627
CG7957	MED17	0,646
CG8295	Mlf	0,564
CG9186	CG9186	0,278
CG9220	CG9220	0,652

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG9361	Task7	0,431

Tab. A5: Gene, die im Fettkörper von Weibchen, die foxo überexprimieren, in mindestens 2 von 3 biologischen Replikaten mehr als 1,5fach hochreguliert waren.

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG10159	BEAF-32	1,884	CG30166	prom	2,621	CG7623	sll	1,874
CG10192	elF4G2	2,108	CG30203	CG30203	2,605	CG7928	CG7928	1,956
CG10662	sick	2,181	CG3081	CG3081	2,958	CG7967	CG7967	2,105
CG1079	Fie	2,127	CG31028	CG31028	1,802	CG8385	Arf79F	1,546
CG10810	Drs	2,527	CG31122	CG31122	2,637	CG8431	Aats-cys	2,509
CG1082	alpha-Est4	2,251	CG31313	CG31313	2,793	CG8553	SelD	2,538
CG11091	CG11091	2,684	CG31519	Or82a	2,503	CG8582	Sh3beta	6,621
CG11112	CG11112	2,17	CG31607	CG43394	4,793	CG8877	Prp8	1,772
CG11173	usnp	2,584	CG31628	ade3	2,512	CG9138	uif	2,581
CG1126	CG1126	1,659	CG31709	CG31709	2,43	CG9415	Xbp1	1,902
CG11415	Tsp2A	2,473	CG31764	vir-1	1,998	CG10414	Atac2	1,448
CG11579	arm	1,77	CG31800	CG31800	2,482	CG12204	CG12204	1,438
CG11899	CG11899	1,73	CG32042	PGRP-LA	2,301	CG12210	Syb	1,665
CG11963	skap	1,989	CG32047	CG33696	2,254	CG12218	mei-P26	1,89
CG12147	CG12147	2,085	CG32495	CG32495	1,819	CG12224	CG12224	1,332
CG12201	CG12201	1,817	CG33332	CG33332	1,917	CG12227	skpF	1,485
CG12846	Tsp42Ed	2,894	CG3536	CG42260	1,801	CG12241	CG12241	1,742
CG12905	Obp46a	2,61	CG3700	CG3700	2,068	CG12259	CG12259	1,868
CG13120	CG44152	2,949	CG4043	Rrp46	1,815	CG12292	spict	1,288
CG13190	cuff	1,813	CG40463	CG40463	2,222	CG12311	tw	9,041
CG13394	CG42820	1,808	CG4067	pug	1,849	CG12342	dgo	1,616
CG14121	ver	1,847	CG41050	CG41050	1,888	CG12347	CG12347	1,609
CG14160	CG14160	2,424	CG41125	CG41125	1,926	CG12384	CG12384	1,458
CG14551	CG14551	1,976	CG4313	CG4313	2,263	CG12389	Fpps	1,472
CG14752	CG14752	4,207	CG4329	CG4329	2,447	CG12400	CG12400	1,518
CG14777	CG14777	4,496	CG4462	CG4462	1,559	CG12441	CG34109	1,533
CG15118	CG15118	2,002	CG4681	CG4681	1,958	CG12454	CG12454	1,487
CG15152	CG15152	2,874	CG5222	IntS9	2,843	CG12534	Alr	1,423
CG15354	CG33543	2,307	CG5235	CG5235	2,178	CG12546	CG12546	30,059
CG15844	CG43324	3,023	CG5428	St1	1,795	CG12750	ncm	1,567
CG15894	CG15894	2,909	CG5493	CG5493	2,993	CG12796	CG12796	2,455
CG17108	CG17108	2,384	CG5730	AnnIX	1,801	CG12837	Tsp42Er	1,85
CG17244	CG17244	2,192	CG6020	CG6020	1,862	CG12840	Tsp42Ei	1,564
CG17534	GstE9	1,854	CG6130	h-cup	1,642	CG12843	Tsp42Ei	1,403
CG17569	gry	1,703	CG6211	gce	1,961	CG10447	Nf-YB	1,405
CG17603	Taf1	2,042	CG6282	CG6282	2,102	CG12861	CG12861	1,587
CG17757	CG34401	2,115	CG6300	CG6300	1,738	CG10477	CG10477	1,565
CG17816	CG17816	1,81	CG6623	SIDL	1,786	CG12908	Ndg	1,977
CG18604	Sik3	1,691	CG6817	foi	1,665	CG12926	CG12926	1,647
CG18817	Tsp42Ea	2,522	CG6896	MYPT-75D	1,752	CG12963	CG12963	1,631
CG2264	magu	2,036	CG7292	Rrp6	2,387	CG13043	CG13043	1,384
CG2446	Amun	2,937	CG7324	CG7324	1,989	CG13070	CG13070	1,737
CG2855	aph-1	1,868	CG7327	Eig71Ei	3,23	CG13073	CG13073	1,359
CG30036	CG30036	2,048	CG7533	chrb	1,961	CG1308	CG43367	1,472
CG30108	CG30108	3,895	CG7570	hale	2,129	CG13090	CG13090	2,151

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG10546	Cralbp	1,581
CG13126	CG13126	1,45
CG13157	CG13157	1,451
CG10563	l(2)37Cd	2,033
CG13299	CG13299	1,625
CG13323	CG13323	2,19
CG13365	CG13365	1,472
CG10581	CG10581	1,34
CG13424	lms	1,882
CG13460	CG13460	1,516
CG13466	DCX-EMAP	1,981
CG13474	CG13474	1,981
CG13535	CG13535	1,631
CG1360	CG1360	1,447
CG13699	CG13699	1,561
CG13728	CG13728	1,415
CG13758	Pdfr	1,609
CG13784	CG13784	1,827
CG13810	CG13810	1,9
CG13826	cnc	1,728
CG13856	CG13856	1,751
CG1387	CG1387	1,95
CG13893	CG13893	1,896
CG13901	CG13901	1,69
CG13904	CG34057	1,604
CG13964	sick	1,919
CG13977	Cyp6a18	1,483
CG1401	Cul-5	1,962
CG14028	cype	1,69
CG1404	ran	1,675
CG14040	CG14040	2,449
CG14048	mRpl14	1,931
CG14060	Exn	1,914
CG14084	Bet1	1,549
CG14098	Rcd7	2,161
CG10641	CG10641	1,629
CG14142	CG14142	1,917
CG1009	Psa	1,434
CG14184	CG14184	1,553
CG14229	CG14229	1,582
CG14237	CG14237	1,384
CG14253	CG14253	1,709
CG14269	CG14269	1,503
CG14275	CG14275	1,821
CG14283	mRpl55	1,388
CG14328	CG14328	3,036
CG14341	CG14341	2,875

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG14402	CG14402	1,434
CG14426	nullo	1,506
CG14443	CG14443	1,476
CG14450	CG14450	1,492
CG1448	inx3	1,674
CG14497	CG34386	1,47
CG10734	CG10734	1,57
CG14570	CG14570	1,464
CG14580	CG14580	1,436
CG14644	CG14644	1,892
CG1468	CG1468	1,355
CG14710	CG14710	1,584
CG1075	CR1075	1,483
CG10752	CG10752	1,438
CG14803	CG14803	1,332
CG14817	CG14817	1,405
CG14904	Scp2	1,487
CG14910	CG42747	1,3
CG14939	CycY	1,939
CG14963	CG14963	1,858
CG14979	Gr63a	1,458
CG15000	nab	2,104
CG15007	Cpr64Ab	1,402
CG15009	ImpL2	1,325
CG1506	Ac3	1,854
CG15060	CG15060	1,688
CG15067	CG15067	2,365
CG15081	l(2)03709	2,34
CG15083	CG15083	2,483
CG15111	CG15111	1,455
CG10103	CG10103	1,413
CG10158	CG10158	1,844
CG15155	CG15155	1,778
CG15168	CG15168	1,464
CG15180	glob2	1,819
CG15191	e(y)2	1,602
CG15210	CG15210	1,87
CG15211	CG15211	1,443
CG15212	CG15212	1,836
CG15233	CG15233	1,867
CG15275	CG42313	1,458
CG15278	CG15278	2,548
CG15282	CG15282	2,006
CG15283	CG15283	1,657
CG15306	CG15306	1,653
CG15313	Cht6	1,728
CG1532	CG1532	2,699

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG15321	nej	1,607
CG15347	CG15347	1,544
CG15352	rdgA	1,719
CG10811	eIF4G	2,049
CG15358	CG15358	1,484
CG15370	CG15370	1,399
CG15377	Or22c	1,6
CG15398	CG15398	1,591
CG15470	CG42594	1,624
CG15536	CG15536	1,505
CG15541	CG34433	1,497
CG15546	CG15546	1,649
CG15585	Osi1	1,478
CG15593	Osi10	2,145
CG15661	CG15661	1,204
CG15669	MESK2	1,334
CG15699	CG15699	1,645
CG1571	CG1571	1,432
CG15730	CG15730	1,514
CG15744	CG15744	1,393
CG15749	dmt11E	1,377
CG10814	CG10814	2,015
CG15860	pain	1,561
CG15881	CG15881	1,406
CG1591	REG	1,669
CG1598	CG1598	1,517
CG1623	hebe	1,882
CG1637	CG1637	1,777
CG16704	CG16704	1,751
CG16716	CG16716	1,78
CG16743	CG16743	1,803
CG16753	CG16753	1,838
CG16758	CG16758	1,861
CG16772	CG16772	1,497
CG16799	CG16799	1,862
CG16848	CG16848	1,647
CG16852	CG16852	2,41
CG16873	nimB5	1,768
CG16905	eloF	1,564
CG16947	CG16947	1,326
CG16978	CG16978	2,089
CG16986	CG16986	1,49
CG16987	daw	1,555
CG17030	CG17030	1,722
CG17045	yellow-e3	1,52
CG10047	Syt4	1,759
CG17116	Lip2	1,507

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG1715	I(3)03670	1,725
CG17167	CG17167	1,19
CG17202	CG17202	1,824
CG17241	Or94a	1,603
CG10834	CG10834	2,56
CG17246	SdhA	1,735
CG17257	GABPI	1,533
CG17260	CG17260	1,583
CG17295	Rcd4	1,758
CG17321	CG17321	1,678
CG17347	I(2)37Ce	1,739
CG17389	Oaz	1,697
CG17462	Trf4-2	1,456
CG17470	CG17470	1,793
CG17510	Fis1	1,469
CG17520	Ckl1alpha	1,468
CG10845	CG10845	1,499
CG17544	CG17544	1,517
CG17559	dnt	1,439
CG1756	CG43155	1,505
CG10846	dyn-p25	1,51
CG10855	ntc	1,392
CG17612	CG17612	1,525
CG1762	betalnt-nu	1,424
CG17645	Pglym87	1,623
CG17669	CG17669	1,733
CG17691	CG17691	1,491
CG1089	alpha-Est5	2,186
CG17777	CG17777	1,476
CG10914	CG10914	1,984
CG17853	Or43b	1,419
CG17916	Or92a	1,937
CG17928	CG17928	1,602
CG17930	CG17930	1,495
CG1794	Mmp2	1,79
CG17952	Rbbp5	1,584
CG18110	CG18110	2,329
CG18132	CG18132	1,487
CG1827	CG1827	2,66
CG18296	axo	1,889
CG18335	CG18335	1,842
CG18341	Prosbeta2	
CG18341	R1	1,513
CG1837	prtp	1,67
CG1841	Tango10	1,312
CG18437	CG18437	1,847
CG18449	CG18449	1,445

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG18455	Optix	1,483
CG18467	CG18467	1,855
CG18495	Prosalpha 1	1,498
CG18505	Acyp2	1,589
CG18510	CG33988	1,842
CG18537	CG18537	1,541
CG18578	Ugt86Da	1,788
CG10917	fj	1,78
CG18635	CG18635	1,474
CG18646	CG42629	1,98
CG18809	CG18809	1,991
CG18810	CG18810	1,418
CG1885	CG1885	1,757
CG1894	CG1894	2,14
CG1902	CG1902	1,484
CG1963	Pcd	2,059
CG1983	CG1983	1,462
CG1999	CG1999	1,693
CG2038	CSN7	1,653
CG2045	Ser7	1,445
CG2046	CG2046	1,522
CG2078	Myd88	1,513
CG2083	CG43444	1,657
CG2145	CG2145	1,711
CG2177	CG2177	1,206
CG2201	CG2201	1,844
CG2248	Rac1	1,457
CG10967	Atg1	1,482
CG2374	lbn	1,924
CG2411	ptc	1,914
CG11012	Ugt37a1	1,173
CG2478	bru	2,648
CG2493	CG2493	1,558
CG2503	atms	1,626
CG2512	alphaTub8 4D	1,884
CG2670	Taf7	1,493
CG2720	Hop	2,353
CG2830	Hsp60B	2,211
CG2854	CG2854	1,511
CG2863	Nle	1,818
CG2922	exba	1,507
CG2968	I(1)G0230	1,696
CG30000	GstT1	1,918
CG30015	CG30015	1,449
CG1106	Gel	1,469
CG30083	CG30083	2,139

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG11061	GM130	2,975
CG30121	CR30121	1,63
CG30143	CG12484	1,476
CG30149	rig	1,613
CG30158	CG30158	1,825
CG3016	CG3016	2,113
CG30160	CG30160	1,607
CG11070	CG11070	2,968
CG30174	Mlp60A	1,348
CG30183	CG30183	1,367
CG1017	Mfap1	2,279
CG30217	CG43326	1,462
CG30259	CG30259	1,324
CG30264	CG42284	1,79
CG30384	CG30384	1,874
CG30401	CG30401	2,083
CG30413	CG30413	1,437
CG30415	CG30415	1,642
CG3068	aur	1,375
CG3073	I(1)G0144	1,486
CG11095	CG11095	1,887
CG3085	CG3085	1,535
CG3099	CG42797	1,623
CG10059	MAGE	1,685
CG11113	CG11113	1,388
CG31210	CG31210	1,407
CG31301	CG31301	1,391
CG11137	CG11137	1,358
CG31345	CG31345	1,525
CG31368	CG31368	1,503
CG31381	CG31381	1,597
CG31422	CG31422	1,672
CG31451	CR31451	1,488
CG31508	TotC	1,787
CG3151	Rbp9	1,91
CG1021	CG1021	1,574
CG31546	CG31546	1,981
CG31548	CG31548	1,559
CG31557	Obp83ef	1,641
CG11199	Liprin-alpha	1,296
CG11219	PIP82	0,619
CG31648	CG31648	1,526
CG31649	Msp-300	1,347
CG10261	aPKC	1,445
CG31714	CG44153	1,924
CG31750	Gr36d	1,346
CG31763	bru-2	1,958

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG11319	CG11319	1,843
CG31776	CG31776	1,108
CG31784	CG31784	1,127
CG11320	CG11320	1,504
CG31803	CG31803	1,651
CG31815	CG31815	1,507
CG31842	mRp523	1,505
CG3191	CG3191	1,68
CG31912	CR31912	1,922
CG31952	CG31952	1,758
CG32041	Hsp67Bb	1,673
CG11404	CG11404	1,566
CG11405	Atf3	1,639
CG32070	CG32070	1,565
CG32072	Elo68alpha	2,278
CG32073	CG32073	1,947
CG32076	Alg10	1,756
CG32164	CG32164	1,528
CG32190	NUCB1	2,085
CG32230	CG32230	1,539
CG32267	CG32267	1,586
CG32276	CG32276	1,581
CG32282	Drsl4	2,021
CG32284	CG32284	1,929
CG32444	CG32444	1,546
CG32447	CG32447	1,528
CG32487	CG32487	1,848
CG10309	pad	1,807
CG32670	Rab9Fb	2,542
CG32696	CG42262	1,308
CG32700	CG32700	1,421
CG32714	CG32714	1,361
CG32795	CG32795	1,389
CG32850	CG32850	1,287
CG32852	Csk	2,424
CG32856	CG32856	1,429
CG32918	CG15892	2,652
CG32921	CG33934	1,565
CG3294	CG3294	1,413
CG32940	Pif1B	1,609
CG33007	PR2	1,566
CG33103	Ppn	1,528
CG33123	CG33123	1,41
CG33124	CG33124	1,556
CG33149	Mlp60A	3,253
CG33178	CG33178	1,681
CG33183	Hr46	1,496

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG33193	sav	1,621
CG33198	pen-2	1,583
CG33206	Gmap	1,467
CG33220	CG33220	1,464
CG33232	CG33232	1,563
CG33249	CG42271	1,504
CG33303	CG33303	1,447
CG33330	jvl	2,661
CG1142	CG1142	1,386
CG33343	mld	1,853
CG33352	mim	1,365
CG11482	Mlh1	1,489
CG33493	CG33493	1,528
CG3409	CG3409	1,615
CG3446	CG3446	1,439
CG3448	CG3448	1,466
CG3454	Hdc	1,602
CG3523	CG3523	2,642
CG11525	CycG	1,396
CG3567	Cyp6u1	1,551
CG3568	CG3568	1,548
CG3671	Mvl	1,425
CG3675	Art2	1,507
CG3688	I(2)35Bd	1,358
CG11562	CG11562	2,069
CG3702	CG3702	1,411
CG3707	wapl	1,595
CG3714	CG3714	1,62
CG3753	Marcal1	1,763
CG3782	mRpL28	1,363
CG3847	CG3847	1,507
CG3905	Su(z)2	1,635
CG3941	pita	1,446
CG3998	zf30C	1,578
CG4008	und	1,4
CG4015	Fcp3C	1,441
CG4017	CG4017	1,861
CG40203	CG40203	1,479
CG40235	CG40235	1,475
CG40275	CG40275	1,308
CG40287	CR41440	1,266
CG40294	CG40294	1,615
CG11567	Cpr	1,27
CG10336	CG10336	1,622
CG4051	egl	1,59
CG1158	Tim17b1	1,746
CG4073	CG4073	1,689

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG4086	Su(P)	1,53
CG4088	lat	1,596
CG11590	CG11590	1,612
CG11619	CG11619	1,544
CG4144	GNBP2	1,48
CG4148	wek	1,494
CG4157	Rpn12	1,465
CG4185	NC2beta	1,61
CG4212	Rab14	2,085
CG4220	elB	1,863
CG4236	Caf1	1,676
CG42571	CG42571	1,548
CG4268	Pitslre	1,34
CG4271	CG4271	1,599
CG4281	CG4281	1,542
CG4288	CG4288	1,464
CG4294	CG4294	1,377
CG11624	Ubi-p63E	1,296
CG11659	CG11659	1,237
CG4363	CG4363	4,517
CG4376	Actn	1,714
CG4409	CG4409	1,686
CG4414	Ugt58Fa	1,438
CG4438	CG4438	1,623
CG4439	S-Lap8	1,739
CG4444	px	1,727
CG11753	CG11753	1,55
CG4574	Plc21C	1,459
CG4593	CG4593	2,023
CG4596	CG4596	1,736
CG4600	yip2	1,95
CG4602	Srp54	2,057
CG4608	bnl	1,539
CG4620	unk	1,418
CG11756	CG11756	1,204
CG4707	CG4707	2,711
CG4709	CG4709	1,61
CG4790	fs(1)M3	1,44
CG4852	Sras	1,477
CG4904	Pros35	1,494
CG4920	ea	1,584
CG4982	CG4982	1,758
CG5003	CG5003	1,314
CG5011	CG5011	1,52
CG5084	CG5084	1,398
CG5092	Tor	1,528
CG5110	CG5110	1,369

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG5171	CG5171	1,395
CG5177	CG5177	2,285
CG5178	Act88F	1,457
CG5215	Zn72D	1,827
CG11762	CG11762	1,643
CG11771	CG11771	1,789
CG5252	Ranbp9	1,403
CG5288	Galk	1,452
CG5330	Nap1	1,271
CG5382	CG5382	1,488
CG5390	CG5390	1,755
CG11779	CG11779	1,486
CG5446	CG5446	2,005
CG11785	bai	1,498
CG5499	His2Av	1,682
CG5625	Vps35	1,926
CG5718	CG5718	1,809
CG5723	Ten-m	2,002
CG5727	CG5727	1,232
CG11786	CG11786	1,633
CG5779	proPO-A1	1,389
CG5787	CG5787	2,321
CG5791	CG5791	2,574
CG5793	CG5793	1,722
CG5805	CG5805	1,519
CG5809	CaBP1	1,767
CG5813	chif	2,328
CG5830	CG5830	2,3
CG5840	CG5840	1,223
CG5844	CG5844	1,297
CG5862	CG5862	1,743
CG5890	CG5890	1,448
CG5897	CG5897	1,537
CG5954	l(3)mbt	2,454
CG6000	CG6000	1,468
CG11801	Elo68beta	1,348
CG6022	Cchl	1,488
CG6034	CG6034	1,79
CG6116	Uvrag	1,951
CG11837	CG11837	1,459
CG6142	CG6142	1,813
CG6154	CG6154	1,563
CG6185	lr68a	1,676
CG6187	RluA-2	2,512
CG6192	Reps	1,618
CG6198	CHORD	1,901
CG11840	Spp	1,384

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG6215	Ckl1alpha-i1	1,348
CG6219	cav	1,161
CG6276	CG6276	1,496
CG11844	vig2	1,6
CG11847	Clbn	1,448
CG6323	Tsp97E	1,544
CG6412	CG6412	0,96
CG6444	Dpy-30L1	1,867
CG6455	CG6455	1,338
CG6464	salm	1,653
CG6480	CG6480	2,148
CG6543	CG6543	1,393
CG6544	fau	1,458
CG11853	to	1,653
CG6737	Vha16-5 DNApol-epsilon	1,667
CG6768		1,837
CG11859	CG11859	1,559
CG6829	Ark	1,446
CG6843	CG6843	1,706
CG6856	dysb	1,851
CG6883	trh	1,516
CG11874	CG11874	1,823
CG6912	CG6912	1,357
CG6923	CG6923	1,277
CG6954	CG6954	1,499
CG6982	CG6982	1,404
CG6989	Octbeta2 R	1,608
CG7014	RpS5b	1,534
CG7029	CG7029	1,677
CG7031	CG7031	1,777
CG7039	CG7039	1,413
CG7049	CG7049	1,465
CG7053	CG7053	1,848
CG7062	Rab19	1,613
CG7081	Pex2	2,126
CG7126	CG7126	1,418
CG7137	CG7137	1,633
CG7170	Jon66Cii	1,715
CG7186	SAK	1,732
CG7199	Hr78	1,538
CG7228	pes	1,675
CG7236	CG7236	1,866
CG7245	eyes	1,615
CG7246	CG7246	1,435
CG7269	Hel25E	1,264
CG7277	CG7277	1,753

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG11885	CG11885	1,4
CG7311	CG7311	1,733
CG11887	Elp2	1,33
CG10339	CG10339	1,482
CG7354	mRpS26	1,317
CG7355	Eig71Eb	1,452
CG7381	CG7381	1,709
CG7408	CG7408	1,435
CG7479	Aats-leu	1,351
CG7497	CG7497	1,551
CG11901	Ef1gamm a	1,474
CG11907	Ent1	1,415
CG7581	Bub3	1,572
CG7587	CG7587	1,534
CG7595	ck	1,831
CG7604	Eig71Ee	1,723
CG7605	Rab26	1,555
CG7619	Pros54	1,573
CG11910	alrm	1,422
CG7626	Spt5	1,553
CG7632	CG7632	1,782
CG7641	Nca	1,742
CG7650	CG7650	1,879
CG7704	Taf5	2,736
CG7727	Appl	1,873
CG7756	Hsc70-2	2,772
CG7781	CG7781	1,616
CG7816	CG7816	1,507
CG7839	CG7839	1,895
CG7845	CG7845	1,513
CG7850	puc	2,126
CG7876	Muc18B	1,525
CG7882	CG7882	1,676
CG7887	Takr99D	1,591
CG11922	fd96Cb	1,555
CG7935	msk	1,582
CG7953	CG7953	1,844
CG7956	CG7956	1,424
CG11929	CG11929	1,685
CG7974	CG7974	1,667
CG7977	RpL23A	1,733
CG8002	rictor	1,47
CG8013	Su(z)12	1,813
CG8023	eIF4E-3	1,703
CG8026	CG8026	1,207
CG8043	CG8043	1,504
CG8049	Btk29A	1,641

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG8053	eIF-1A	1,952
CG8058	Hydr1	1,268
CG8155	CG8155	1,839
CG8173	CG8173	1,477
CG8235	CG8235	1,534
CG8306	CG8306	1,587
CG10345	CG10345	1,515
CG8395	Rrp42	1,561
CG8398	CG8398	1,673
CG12042	CG12042	1,604
CG8455	CG8455	1,037
CG8476	CG8476	1,321
CG8519	CG8519	1,672
CG8526	CG8526	1,641
CG8550	CG8550	1,445
CG12057	CG12057	1,801
CG12085	pUf68	1,642
CG8605	CG8605	1,56
CG8610	Cdc27	1,877
CG8611	CG8611	1,88
CG8613	CG8613	2,087
CG8628	CG8628	1,52
CG8630	CG8630	1,789
CG8638	Cpr65Eb	1,47
CG8651	trx	1,541
CG8681	clumsy	1,468
CG8735	CG8735	1,784
CG8813	CG8813	1,528
CG8831	Nup54	1,644
CG8844	Pdsw	1,649
CG8863	Droj2	1,782
CG12086	cue	1,382
CG8937	Hsc70-1	1,669
CG8994	exu	1,471
CG9024	Acp26Ab	1,55
CG9032	sun	1,548
CG9035	Tapdelta	1,705
CG9040	CG9040	1,341
CG9054	Ddx1	1,778
CG9070	Cpr47Eg	1,474
CG9071	NaCP60E	1,996
CG9094	CG9094	1,992
CG9117	CG9117	3,91
CG9119	CG9119	1,177
CG9122	Trh	2,022
CG9128	Sac1	1,456
CG10361	CG10361	1,396

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG9164	CG9164	2,203
CG9175	CG9175	8,326
CG9242	bur	1,665
CG9294	CG9294	1,224
CG9295	Cpr76Bc	1,485
CG9333	Oseg5	1,83
CG9339	sky	2,35
CG9346	CG9346	1,822
CG9350	CG9350	1,392
CG9359	betaTub8 5D	1,44
CG9362	GstZ1	1,796
CG9366	RhoL	2,156
CG9376	CG9376	1,703
CG9391	CG9391	1,426
CG12171	CG12171	2,017
CG9454	Spn42Db	1,448
CG9487	CG34398	1,489
CG9503	CG9503	1,661
CG9505	CG9505	1,147
CG9506	slam	1,749
CG9512	CG9512	2,149
CG9514	CG9514	1,591
CG9522	CG9522	1,827
CG9550	CG9550	1,666
CG9553	chic	1,648
CG9580	Sdic1	2,735
CG9587	bbg	1,54
CG9624	CG9624	1,511
CG9636	CG9636	1,385
CG9638	Ada2b	1,457
CG9643	CG9643	1,399
CG9650	CG9650	1,508
CG9665	Cpr73D	1,614
CG9673	CG9673	1,362
CG9733	CG9733	1,326
CG9738	Mkk4	1,465
CG9746	ird1	1,26
CG9748	bel	1,457
CG9834	endoB	1,608
CG9887	VGlut	1,357
CG9916	Cyp1	1,943
CG9940	CG9940	1,548
CG9970	CG9970	1,484
CR30249	tRNA:CR3 0249	2,47
CR30367	Lcp1Psi snRNA:U6	4,317
CR31379	:96Aa	1,472

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG11622	Rlip	1,85
CG12667	CG12667	2,007
CG12946	Whamy	1,904
CG12972	ebd2	1,805
CG1744	chp	2,273
CG17443	CG41520	1,528
CG17531	GstE7	2,821
CG1782	Uba1	1,815
CG18405	Sema-1a	1,713
CG2970	CG2970	1,572
CG32271	CG32271	1,945
CG32299	CG32299	2,077
CG33125	CG33125	2,097
CG3359	mfas	1,873
CG4182	yellow-c	1,541
CG4233	Got2	5,392
CG4749	CG4749	1,962
CG5834	Hsp70Bbb	2,365
CG6284	Sirt6	1,954
CG6639	CG6639	2,099
CG7250	Toll-6	1,861
CG9025	Fem-1	2,21
CG9836	CG9836	2,483

Tab. A6: Gene, die im Fettkörper von Weibchen, die foxo überexprimieren, in mindestens 2 von 3 biologischen Replikaten mehr als 1,5fach abreguliert waren.

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG10035	CG10035	0,546	CG11742	Or85d	0,164	CG14153	CG14153	0,641
CG10068	CG10068	0,892	CG11814	CG42863	1,256	CG14258	CG14258	0,655
CG10107	velo	0,74	CG11888	Rpn2	0,662	CG14502	CG14502	0,151
CG10147	CG10147	1,106	CG11896	m-cup	0,404	CG14634	CG14634	0,131
CG10207	NaPi-T	0,51	CG11908	rha	0,674	CG14701	CG14701	0,624
CG10212	SMC2	0,527	CG11924	Cf2	0,706	CG14715	CG14715	0,594
CG10247	Cyp6a21	0,442	CG11977	CG11977	0,332	CG14763	CG14763	0,723
CG10307	CG10307	0,78	CG12073	5-HT7	0,75	CG14792	sta	0,482
CG10346	Grip71	0,17	CG12106	CG12106	0,341	CG14794	Nmdar2	0,656
CG10365	CG10365	0,733	CG12129	CG12129	0,592	CG14841	CG14841	0,385
CG10376	CG10376	0,389	CG12133	CG12133	0,64	CG14905	CG14905	0,292
CG10420	CG10420	0,175	CG12424	ckn	0,154	CG14957	CG14957	0,141
CG10529	Lcp65Ae	0,113	CG1244	MEP-1	0,175	CG14995	CG14995	0,157
CG10579	Eip63E	0,717	CG12508	CG43861	0,279	CG15069	Rgk2	0,145
CG10698	GRHR11	0,183	CG12519	CG12519	0,467	CG15088	List	0,119
CG10706	SK	0,25	CG12564	CG42343	0,138	CG1520	WASp	0,603
CG10751	robl	0,663	CG1264	lab	0,545	CG15214	CG34391	0,134
CG10759	Or7a	0,672	CG12656	CG12656	0,106	CG1523	CG1523	0,429
CG10799	CG10799	0,692	CG12740	RpL28	0,651	CG1529	CG1529	0,173
CG10858	CG10858	0,286	CG12782	CG12782	0,692	CG15309	CG15309	0,667
CG10868	orb	0,351	CG12783	CG12783	0,735	CG15479	CG15479	0,226
CG10897	tou	0,142	CG12794	lcs	0,772	CG15483	CG15483	0,455
CG10901	osk	0,629	CG12809	nerfin-2	0,222	CG15570	CG15570	0,642
CG10909	CG10909	0,607	CG12909	CG12909	0,65	CG15765	CG15765	0,528
CG10951	niki	0,163	CG12923	CG12923	0,179	CG1644	Cyp6t1	0,553
CG1108	alpha-Est6	0,292	CG12993	p-cup	0,13	CG1651	Ank	0,576
CG1112	alpha-Est7	0,587	CG13091	CG13091	0,313	CG16894	CG16894	0,228
CG11142	obst-E	0,284	CG13170	CG13170	0,062	CG1702	GstT3	0,782
CG11175	Rcd6	0,468	CG1362	cdc2rk	0,341	CG1710	Hcf	0,153
CG11191	CG11191	0,433	CG13717	axo	0,223	CG17150	CG17150	0,216
CG11203	CG43901	0,09	CG13732	qjt	0,177	CG17200	Ugt86Dg	0,123
CG11236	CG11236	0,07	CG13788	Gr28b	0,309	CG17208	mun	0,09
CG11321	CG11321	0,564	CG13830	CG13830	0,042	CG17224	CG17224	0,598
CG11378	CG11378	0,244	CG13858	CG34377	0,674	CG17245	plexB	0,7
CG11459	CG11459	0,142	CG13861	CG34377	0,68	CG17248	n-syb	0,246
CG11508	Pbp49	0,208	CG13924	CG13924	0,359	CG17264	CG17264	0,154
CG1154	Osi12	0,398	CG13980	CG42534	0,152	CG17270	CG17270	0,686
CG11563	CG11563	0,533	CG14000	CG14000	0,026	CG17342	Lk6	0,502
CG11601	CG11601	0,127	CG14014	CG14014	0,163	CG17565	CG17565	0,507
CG11654	Ahcy13	0,439	CG1402	CG1402	0,164	CG17594	scro	0,751
CG11671	CG11671	0,525	CG14023	Ncoa6	0,494	CG17601	CG17601	0,344
CG11686	CG11686	0,874	CG14032	Cyp4ac1	0,211	CG17623	CG42686	0,718
CG11710	CG11710	0,599	CG14039	qtc	0,225	CG17636	CG17636	0,431
CG11720	Sgs3	0,158	CG14096	CG14096	0,168	CG17666	CG17666	0,878

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG17732	CG17732	0,519
CG1774	CG1774	0,565
CG17754	CG17754	0,412
CG17919	CG17919	0,799
CG17970	Cyp4ac2	0,641
CG18063	CG18063	0,13
CG1814	CG1814	0,596
CG18178	CG18178	0,302
CG1825	Map60	0,358
CG18271	slx1	0,311
CG1851	Ady43A	0,223
CG18538	CG18538	0,661
CG18648	cp309	0,324
CG1934	ImpE2	0,728
CG1968	CG1968	0,515
CG2059	CG2059	0,618
CG2206	l(1)G0193	0,714
CG2233	CG2233	0,221
CG2256	CG2256	0,705
CG2259	Gclc	0,584
CG2358	twr	0,206
CG2534	cno	0,28
CG2621	sgg	0,48
CG2818	CG2818	0,708
CG2852	CG2852	0,105
CG2905	Nipped-A	0,55
CG2931	CG2931	0,653
CG2945	cin	0,668
CG2961	lpod	0,151
CG2973	Cpr23B	0,175
CG30038	MCPH1	0,535
CG30071	CG30071	0,156
CG3011	CG3011	0,602
CG30322	Sema-2b	0,695
CG30353	CG30353	0,125
CG30438	CG30438	0,37
CG30473	Obp51a	0,133
CG3069	Taf10b	0,19
CG31013	CG31013	0,394
CG3107	CG3107	0,089
CG3126	C3G	1,389
CG31370	CG31370	0,679
CG31436	CG31436	0,458
CG31484	CG31484	0,487
CG31526	CG31526	0,203
CG31605	Bsg	0,284
CG31609	CG31609	0,143

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
	His3:CG3161	
CG31613	3	0,27
CG31620	Gr39b	0,071
CG31626	CG31626	0,17
CG3164	CG3164	0,588
CG31653	CG34126	0,382
CG31715	CG31715	0,539
CG31730	CG31730	0,747
CG31821	CG31821	0,218
CG31848	CG31848	0,132
CG31886	CG31886	0,765
CG31958	CG31958	0,171
CG31988	CG31988	0,131
CG32000	CG32000	0,624
CG32044	CG42268	0,108
CG32083	CG32083	0,266
CG32196	CG32196	0,71
CG32234	axo	0,249
CG32250	CG32250	0,592
CG32253	CG11583	0,554
CG32353	CG43078	0,564
CG32372	ltl	0,59
CG32402	Or65b	0,258
CG32408	CG32408	0,584
CG32410	CG33523	0,559
CG32428	CG32428	0,162
CG32511	CR32511	0,637
CG32532	CG32532	0,53
CG32568	CG32568	0,076
CG32638	CG32638	0,656
CG3265	Eb1	0,257
CG32655	CG32655	0,225
CG3267	CG3267	0,037
CG32709	CG32709	0,595
CG32715	CG32715	0,305
CG32726	CG32726	0,514
CG3273	sced	0,457
CG32743	nonC	0,556
CG32751	CG32751	0,519
CG32956	Chrac-14	0,627
CG33003	CG33003	0,37
CG33070	Sxl	0,445
CG33099	CG33099	0,69
CG33114	Gyc32E	0,727
CG3314	RpL7A	0,583
CG33141	sns	0,059
CG33142	ste24c	0,123

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG33144	CG33144	0,272
CG33151	Gr59e	0,648
CG33169	CG33169	0,657
CG33172	CG33172	0,28
CG33204	Doa	0,236
CG33223	CG33223	0,151
CG3333	Nop60B	0,444
CG33478	Or46a	0,209
CG3349	CG3349	0,493
CG3395	RpS9	0,589
CG3474	Cpr35B	0,55
CG3483	CG3483	0,553
CG3506	vas	0,751
CG3525	eas	0,558
CG3560	CG3560	0,659
CG3655	CG3655	0,745
CG3661	RpL23	0,638
CG3704	CG3704	0,182
CG3772	cry	0,236
CG3812	CG3812	0,314
CG3856	Oamb	0,667
CG3876	CG3876	0,766
CG3909	CG3909	0,642
CG3918	CG3918	0,511
CG3948	zetaCOP	0,663
CG3957	wmd	0,146
CG3973	pigs	0,725
CG3992	srp	0,563
CG40002	CG40002	0,574
CG40159	CG40159	0,667
CG4061	CG4061	0,111
CG4094	l(1)G0255	0,639
CG4103	l(2)35Bc	0,319
CG4110	ppk16	0,514
CG4120	Cyp12c1	0,657
CG4125	rst	0,715
CG4133	CG4133	0,436
CG4140	l(2)35Be	0,321
CG4198	CG4198	0,307
CG4210	CG4210	0,317
CG4221	CG4221	0,19
CG4231	Or22b	0,507
	alpha-	
CG4260	Adaptin	0,526
CG4306	CG4306	0,19
CG4342	mun	0,163
CG4408	CG4408	0,733

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG4426	ast	0,588	CG6140	CG6140	0,283	CG7989	wcd	1,367
CG4466	Hsp27	0,551	CG6145	CG6145	0,486	CG8062	out	0,735
CG4511	CG4511	0,532	CG6148	Past1	0,709	CG8068	Su(var)2-10	0,674
CG4538	CG4538	0,365	CG6184	CG6184	0,541	CG8127	Eip75B	0,418
CG4699	wah	0,304	CG6202	Surf4	0,693	CG8189	ATPsyn-b	0,548
CG4713	l(2)gd1	0,453	CG6332	CG6332	0,122	CG8254	exex	0,131
CG4738	Nup160	0,314	CG6340	CG6340	0,393	CG8256	Gpo-1	0,833
CG4741	CG4741	1,102	CG6375	pit	0,577	CG8295	Mlf	0,51
CG4780	membrin	0,325	CG6379	CG6379	0,637	CG8327	SpdS	0,754
CG4836	CG4836	0,157	CG6443	CG6443	0,777	CG8328	HLHmdelta	0,094
CG4858	CG4858	0,698	CG6463	CG6463	0,196	CG8345	Cyp6w1	0,473
CG4930	EndoGl	0,781	CG6472	CG6472	0,545	CG8376	ap	0,762
CG5041	Tfb4	0,569	CG6475	CG6475	0,44	CG8399	CG8399	0,367
CG5048	CG5048	0,149	CG6490	CG6490	0,364	CG8440	Lis-1	0,527
CG5072	Cdk4	0,771	CG6515	Takr86C	0,612	CG8465	l(1)G0222	0,762
CG5077	CG42668	0,371	CG6545	lbe	0,147	CG8531	CG8531	0,515
CG5106	scpr-C	0,322	CG6562	synj	0,267	CG8668	CG8668	0,501
CG5125	ninaC	0,413	CG6582	Aac11	0,751	CG8760	dysc	0,752
CG5167	CG5167	0,419	CG6615	scaf6	0,409	CG8874	Fps85D	0,594
CG5172	CG5172	0,142	CG6620	ial	0,207	CG8998	Roc2	0,104
CG5185	Tom	0,676	CG6667	dl	0,289	CG9081	Cyp4s3	0,732
CG5220	CG5220	0,389	CG6718	iPLA2-VIA	0,75	CG9091	RpL37a	0,648
CG5262	CG5262	0,291	CG6775	rg	0,713	CG9124	eIF-3p40	0,686
CG5327	CG5327	0,454	CG6792	CG6792	0,134	CG9132	CG9132	0,619
CG5334	CG5334	0,39	CG6813	CG6813	0,465	CG9162	CR9162	1,029
CG5406	sif	0,264	CG6877	Aut1	0,504	CG9168	CG9168	0,595
CG5435	CG5435	0,099	CG6891	CG6891	0,187	CG9186	CG9186	0,199
CG5444	Taf4	0,182	CG6910	CG6910	0,817	CG9263	CG9263	0,707
CG5445	CG5445	0,709	CG6978	CG6978	0,175	CG9297	CG9297	0,678
CG5461	bun	0,648	CG7007	VhaPPA1-1	0,669	CG9325	hts	0,578
CG5472	Pal2	0,391	CG7044	CG7044	0,783	CG9342	Mtp	0,451
CG5476	TwdlN	0,124	CG7065	CG7065	0,261	CG9345	Adgf-C	0,953
CG5554	CG5554	0,563	CG7092	Dhc16F	0,607	CG9364	Treh	0,596
CG5566	CG34353	0,09	CG7105	Proct	0,475	CG9372	CG9372	0,586
CG5568	CG5568	0,479	CG7385	lr76b	0,708	CG9436	CG9436	0,63
CG5596	Mlc1	0,429	CG7397	CG43102	0,83	CG9523	l(2)k11101	0,629
CG5780	CG5780	0,309	CG7422	Snmp2	0,537	CG9536	CG9536	0,325
CG5804	CG5804	0,582	CG7439	AGO2	0,421	CG9740	CG9740	0,384
CG5812	TwdlT	0,596	CG7471	Rpd3	0,188	CG9801	CG9801	0,655
CG5821	qkr58E-2	0,573	CG7494	mRpL1	0,686	CG9819	CanA-14F	0,632
CG5880	CG5880	0,715	CG7637	CG7637	0,17	CG9889	yellow-d	0,262
CG6004	Muc68D	0,509	CG7675	CG7675	0,082	CG9951	CG9951	0,486
CG6038	crim	0,282	CG7697	CstF-64	0,217	CG9986	CG9986	0,536
CG6074	CG6074	0,863	CG7712	CG7712	0,311	CG9992	CG9992	0,573
CG6104	m2	0,166	CG7835	mnb	0,707	CR31621	Cyp6t2Psi	0,647
CG6119	Vmat	0,145	CG7872	CG7872	0,613	CR32011	CR32011	0,342
CG6127	Ser	0,215	CG7985	CG7985	0,077	CR32489	CR32489	0,586

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CR33294	CR33294	0,786
CG10667	Orc1	0,324
CG10746	fok	0,232
CG10749	CG10749	0,141
CG11018	CG11018	0,274
CG11235	CR11235	0,434
CG1252	Ccp84Ab	0,211
CG12530	Cdc42	0,24
CG12700	skpD	0,267
CG13552	CG43795	0,313
CG13650	CG13650	0,492
CG1379	RunxA	0,615
CG14314	CG14314	0,34
CG14548	HLHmbeta	0,266
CG14943	Pde1c	0,293
CG15234	CG15234	0,433
CG15457	Obp19c	0,053
CG15543	CG15543	0,281
CG15742	CG15742	0,368
CG16983	skpA	0,225
CG16984	CG16984	0,283
CG17148	Est-P	0,315
CG17593	CG17593	0,189
CG1796	Tango4	0,091
CG17977	CG17977	0,076
CG18258	CG18258	0,099
CG2204	G-oalpha47A	0,501
CG2684	lds	0,173
CG2713	ttm50	0,519
CG2890	PPP4R2r	0,571
CG30081	lr51b	0,113
CG31012	cindr	0,219
CG31389	CG31389	0,188
CG31738	CG42389	0,153
CG32168	scaf6	0,147
CG32171	Lmpt	0,306
CG32179	Krn	0,205
CG32355	CG43078	0,251
CG32439	Rab26	0,202
CG32507	CG32507	0,08
CG32527	bbx	0,184
CG32554	CG32554	0,189
CG3288	CG3288	0,258
CG32975	nAcRalpha-34E	0,367
CG33480	CG33480	0,442
CG3691	Pof	0,229

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG3760	CG3760	0,159
CG3805	CG34126	0,289
CG40178	CG40178	0,588
CG40445	CG40445	0,125
CG4046	RpS16	0,235
CG4070	Tis11	0,261
CG4153	elF-2beta	0,167
CG4420	rngo	0,133
CG4435	FucTB	0,184
CG4631	CG4631	0,428
CG4933	CG4933	0,326
CG5033	CG5033	0,59
CG5093	Doc3	0,13
CG5270	CG5270	0,333
CG5436	Hsp68	0,317
CG5500	CG5500	0,357
CG5740	CG42390	0,28
CG5811	NepYr	0,209
CG5993	os	0,226
CG6554	Art1	0,171
CG6634	mid	0,294
CG6735	cp309	0,313
CG6914	CG6914	0,19
CG7001	PK17E	0,554
CG7046	CG7046	0,169
CG7340	grsm	0,339
CG7694	CG7694	0,11
CG7791	CG7791	0,309
CG9030	CG9030	0,444
CG9033	Tsp47F	0,147
CG9075	elF-4a	0,24
CG9386	CG9386	0,357
CG9416	CG9416	0,2
CG9907	para	0,239
CG9965	Shab	0,207
	snRNA:U4:39	
CR31625	B	0,43
CR32660	CR32660	0,365
CR32730	CR32730	0,624
CR32886	Uhg1	0,184

Tab. A7: Gene, die im Fettkörper von Männchen, die foxo überexprimieren, in mindestens 2 von 3 biologischen Replikaten mehr als 1,5fach hochreguliert waren.

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG10105	Sin1	1,73	CG14328	CG14328	1,934	CG2650	CG2650	1,861
CG10158	CG10158	1,417	CG14341	CG14341	1,911	CG2720	Hop	1,695
CG10811	eIF4G	2,63	CG14351	haf	1,512	CG2819	Pph13	1,41
CG10823	SIFR	1,746	CG14387	d-cup	2,317	CG30016	CG30016	2,755
CG10834	CG10834	1,657	CG14411	CG14411	1,343	CG30019	CG18003	1,478
CG10933	CG10933	1,623	CG14469	dpr12	1,383	CG30083	CG30083	1,124
CG11024	cl	1,348	CG1455	CanA1	2,059	CG30196	CG30196	1,333
CG11061	GM130	1,384	CG14562	CG14562	2,009	CG30280	CG30280	1,316
CG11070	CG11070	1,376	CG14662	CG14662	1,887	CG30401	CG30401	2,151
CG11242	CG11242	1,682	CG14792	sta	1,61	CG30432	CG30432	1,196
CG11251	CG11251	1,305	CG14842	CG34388	6	CG31093	CG31093	1,389
CG11271	CG17672	1,495	CG14945	CG14945	1,38	CG31132	BRWD3	1,495
CG1132	fd64A	1,828	CG14965	CG14965	7,537	CG31226	CG31226	1,639
CG1134	Mul1	1,583	CG15102	Jheh2	1,35	CG31256	Brf	2,477
CG11760	CG11760	4,231	CG15233	CG15233	1,458	CG31257	CG31257	1,284
CG11798	chn	2,224	CG1532	CG1532	1,764	CG3126	C3G	5,236
CG11814	CG42863	2,475	CG15354	CG33543	1,54	CG31612	CG31612	1,723
CG12013	PHGPx Prosbeta2	1,965	CG15480	CG15480	1,503	CG31794	Pax	1,627
CG12161	R2	1,512	CG15544	CG15544	1,851	CG3200	Reg-2 Elo68alph a	1,46 1,667
CG12201	CG12201	1,459	CG15551	Ctr1C	2,241	CG32072		
CG12268	CG12268	2,451	CG1618	comt	1,286	CG32282	Drsl4	2,856
CG1227	CG1227	1,612	CG1629	yellow-h	1,349	CG32284	CG32284	1,691
CG12311	tw	3,55	CG16827	alphaPS4	6,109	CG3234	tim	2,064
CG12529	Zw	1,62	CG1683	Ant2	5,679	CG32703	Erk7	1,985
CG12546	CG12546 CHES-1- like	15,587 1,614	CG16848	CG16848	1,599	CG3285	CG3285	1,173
CG12690	ema	1,782	CG16852	CG16852	1,601	CG32953	CG14929	1,576
CG12753	CG12753	3,544	CG16884	CG16884	1,42	CG3297	mnd	1,573
CG12796	CG12796	3,544	CG16886	CG16886	1,279	CG33286	CG33286	1,73
CG12853	CG12853	1,289	CG16899	FoxP	2,399	CG3386	CG3386	1,912
CG13004	CG13004	1,805	CG16947	CG16947	2,532	CG34439	CG34439	1,413
CG13319	CG13319	3,34	CG17486	CG17486	1,392	CG3446	CG3446	1,401
CG13374	pcl	2,881	CG17959	CG17959	1,5	CG3527	CG3527	1,381
CG13567	CG13567	1,482	CG18132	CG18132	1,716	CG3668	fd59A	1,655
CG13602	CR43998	2,202	CG18186	Oxp	3,525	CG3707	wapl	1,389
CG13687	Ptth	1,555	CG18446	CG18446	3,965	CG3753	Marcal1	1,494
CG13701	skl	1,597	CG18555	CG44002	2,956	CG3883	Saf6	1,631
CG13788	Gr28b	1,718	CG18558	CG18558	1,598	CG4173	Sep 2	2,101
CG13888	Gr61a	1,5	CG18659	CG18659	1,435	CG4214	Syx5	1,441
CG13948	Gr21a	8,983	CG18779	Lcp65Ag3	2,05	CG4233	Got2	1,619
CG13982	CG13982	1,876	CG18801	Ku80	1,767	CG4287	CG4287	1,611
CG14023	Ncoa6	1,256	CG1895	Cyp28c1	1,579	CG4313	CG4313	1,542
CG14275	CG14275	2,147	CG1927	CG1927	1,664	CG4329	CG4329	1,804
CG14312	CG14312	2,435	CG2109	mRpl44	1,625	CG4393	CG4393	1,576
			CG2212	sws	1,452	CG4475	ldgf2	1,716

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG4720	Pk92B	1,74
CG4751	CG4751	1,757
CG4785	CG4785	2,011
CG4899	Pdh	1,893
CG4940	CG34402	2,272
CG5029	SamDC	1,577
CG5125	ninaC	0,808
CG5345	Eip55E	1,27
CG5399	CG5399	1,249
CG5547	Pect	1,468
CG6412	CG6412	1,559
CG6578	phm	1,721
CG6844	nAcRalpha -96Ab	1,355
CG7146	CG7146	1,548
CG7161	Oseg1	2,445
CG7435	Arf84F	2,118
CG7533	chrb	1,451
CG7697	CstF-64	5,671
CG7829	CG7829	1,334
CG7897	gp210	3,754
CG7910	CG7910	1,935
CG7953	CG7953	1,586
CG7960	Bro	1,638
CG7989	wcd	4,241
CG8210	Vha14-1	1,378
CG8358	CG8358	1,335
CG8360	CG8360	1,524
CG8998	Roc2	0,889
CG9064	Ucp4C	1,435
CG9104	CG9104	1,351
CG9175	CG9175	5,133
CG9280	Glt	2,099
CG9287	CG9287	2,736
CG9503	CG9503	1,683
CG9514	CG9514	1,687
CG9571	fd19B	1,681
CG9580	Sdic1	7,042
CG9638	Ada2b	1,469
CG9652	DopR	1,636
CG9669	CG9669	1,56
CG9738	Mkk4	1,349
CG9839	CG9839	1,992
CR30087	CG30087	1,7
CR32078	CG42575	1,494
CR33294	CR33294	2,35
CG1330	Ccp84Ae	10,012
CG13630	CG13630	4,12

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG17028	CG17028	2,001
CG1850	CG1850	1,674
CG18609	CG18609	5,427
CG2125	ci	1,988
CG2194	su(r)	2,831
CG32431	CG32431	1,635
CG32951	CG9960	1,822
CG4845	psidin	2,522
CG8704	dpn	2,072
CG9259	CG9259	1,697
CG9878	Tim10	2,123

Tab. A8: Gene, die im Fettkörper von Männchen, die foxo überexprimieren, in mindestens 2 von 3 biologischen Replikaten mehr als 1,5fach abreguliert waren.

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG10346	Grip71	0,552	CG14186	CG14186	0,742	CG18619	CG18619	0,599
CG10513	CG10513	0,379	CG14290	Mpc1	0,649	CG18636	CG18636	0,509
CG10749	CG10749	0,265	CG10375	CG10375	0,868	CG1871	e(r)	0,495
CG10858	CG10858	0,285	CG14634	CG14634	0,11	CG1874	Not1	0,568
CG11018	CG11018	0,268	CG10794	DptB	0,478	CG18810	CG18810	0,576
CG11203	CG43901	0,337	CG14818	CG14818	0,689	CG18823	CG18823	0,594
CG11459	CG11459	0,212	CG14826	CG14826	0,588	CG1910	CG1910	0,625
CG12622	Gr10b	0,513	CG14911	CG42747	0,664	CG2095	sec8	0,688
CG12656	CG12656	0,244	CG14937	CG14937	0,63	CG2204	G-alpha47A	0,504
CG13698	CG13698	0,388	CG14957	CG14957	0,479	CG10422	bam	0,795
CG14531	CheB98a	0,485	CG14995	CG14995	0,329	CG2253	Upf2	0,629
CG14696	CG14696	0,554	CG15060	CG15060	0,593	CG2263	CG2263	0,631
CG15088	List	0,199	CG10385	msl-1	0,805	CG2534	cno	0,363
CG17208	mun	0,256	CG15106	Jheh3	0,662	CG2621	sgg	0,593
CG2233	CG2233	0,347	CG1529	CG1529	0,448	CG2684	lds	0,223
CG2985	Yp1	0,452	CG15457	Obp19c	0,373	CG2961	lpod	0,47
CG3107	CG3107	0,196	CG15479	CG15479	0,407	CG2973	Cpr23B	0,17
CG31314	Neu3	0,436	CG15919	CG15919	0,744	CG2979	Yp2	0,476
CG31389	CG31389	0,455	CG1689	lz	0,789	CG1112	alpha-Est7	0,404
CG31626	CG31626	0,238	CG16894	CG16894	0,609	CG30038	MCPH1	0,694
CG31988	CG31988	0,445	CG16916	Rpt3	0,559	CG30071	CG30071	0,147
CG5041	Tfb4	0,559	CG17200	Ugt86Dg	0,128	CG3011	CG3011	0,701
CG5077	CG42668	0,509	CG10897	tou	0,457	CG30353	CG30353	0,201
CG5172	CG5172	0,289	CG17264	CG17264	0,479	CG30438	CG30438	0,634
CG6119	Vmat	0,241	CG17376	CG17376	0,593	CG30473	Obp51a	0,127
CG9311	mop	0,604	CG17534	GstE9	0,711	CG11170	CG11170	0,717
CG12133	CG12133	0,601	CG17564	CG17564	0,607	CG31156	CG31156	0,703
CG12424	ckn	0,417	CG17569	gry	0,798	CG31158	Efa6	0,579
CG12508	CG43861	0,846	CG17601	CG17601	0,595	CG31200	CG31200	0,584
CG1252	Ccp84Ab	0,271	CG17603	Taf1	0,696	CG10315	eIF2B-delta	0,127
CG12564	CG42343	0,589	CG17610	grk	0,636	CG31369	CG43462	0,746
CG10594	spo	0,582	CG17629	kl-3	0,697	CG11245	Pkcdelta	0,72
CG1074	CG1074	0,589	CG17734	CG17734	0,625	CG3153	Npc2b	0,643
CG12905	Obp46a	0,78	CG17921	HmgZ	0,599	CG31605	Bsg	0,522
CG12923	CG12923	0,194	CG1794	Mmp2	0,821	CG31620	Gr39b	0,155
CG12993	p-cup	0,209	CG17944	CG17944	0,624	CG11321	CG11321	0,804
CG13518	Obp58b	0,693	CG17977	CG17977	0,211	CG31834	CG31834	0,666
CG13552	CG43795	0,899	CG18063	CG18063	0,082	CG31938	Rrp40	0,689
CG10746	fok	0,262	CG18160	CG18160	0,377	CG31958	CG31958	0,12
CG13732	qjt	0,319	CG18258	CG18258	0,174	CG11378	CG11378	0,513
CG13980	CG42534	0,147	CG18271	slx1	0,339	CG32044	CG42268	0,225
CG14014	CG14014	0,281	CG18480	CG18480	0,707	CG32083	CG32083	0,251
CG14032	Cyp4ac1	0,473	CG1851	Ady43A	0,603	CG32171	Lmpt	0,63
CG14070	CG14070	0,787	CG18617	Vha100-2	0,501	CG32355	CG43078	0,691

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG32368	CG32368	0,694
CG32582	CG32582	0,745
CG32655	CG32655	0,349
CG3267	CG3267	0,095
CG32726	CG32726	0,65
CG32755	CG32755	0,676
CG3288	CG3288	0,488
CG32920	Prx5	0,406
CG32975	nAcRalpha-34E	0,637
CG33003	CG33003	0,565
CG33062	CG33062	0,424
CG33070	Sxl	0,621
CG10212	SMC2	0,449
CG33141	sns	0,343
CG33144	CG33144	0,326
CG33158	CG33158	0,692
CG33192	MtnD	0,789
CG33204	Doa	0,494
CG3691	Pof	0,597
CG3805	CG34126	0,661
CG4118	nxf2	0,54
CG4153	eIF-2beta	0,205
CG4306	CG4306	0,515
CG4377	CG4377	0,263
CG4631	CG4631	0,503
CG4755	RhoGAP92B	0,312
CG4836	CG4836	0,307
CG4909	POSH	0,847
CG1154	Osi12	0,591
CG11567	Cpr	0,722
CG11601	CG11601	0,236
CG5262	CG5262	0,575
CG5436	Hsp68	0,742
CG5476	TwdIN	0,205
CG5494	Cpr92F	0,359
CG5500	CG5500	0,589
CG5505	scny	0,7
CG5717	yellow-g	0,296
CG5740	CG42390	0,741
CG5965	woc	0,627
CG6038	crim	0,716
CG6049	barc	0,742
CG6055	CG6055	0,623
CG11654	Ahcy13	0,677
CG6179	CG6179	0,716
CG6545	lbe	0,299

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG6620	ial	0,242
CG6634	mid	0,456
CG6642	a10	0,604
CG6667	dl	0,44
CG6685	CG6685	0,739
CG6709	CG6709	0,721
CG6792	CG6792	0,154
CG6812	CG6812	0,862
CG6891	CG6891	0,386
CG6914	CG6914	0,118
CG6978	CG6978	0,322
CG7014	RpS5b	0,816
CG7046	CG7046	0,376
CG7047	Vdup1	0,591
CG7071	CG7071	0,692
CG7466	CG7466	0,721
CG7478	Act79B	0,257
CG7675	CG7675	0,264
CG7694	CG7694	0,264
CG7791	CG7791	0,44
CG7943	CG7943	0,265
CG8155	CG8155	0,953
CG8328	HLHmdelta	0,275
CG8399	CG8399	0,504
CG8678	CG8678	0,375
CG9033	Tsp47F	0,552
CG9044	CG9044	0,792
CG9168	CG9168	0,689
CG9186	CG9186	0,274
CG12106	CG12106	0,45
CG9386	CG9386	0,522
CG9399	CG9399	0,71
CG9458	CG9458	0,738
CG9536	CG9536	0,578
CG9691	CG9691	0,769
CG9772	Skp2	0,699
CG9952	ppa	0,547
CR31485	tRNA:CR31485:Psi	0,64
CR32907	snoRNA:Me28S-G764	0,4
CR33363	5SrRNA-Psi:CR33363	0,67
CR33371	35SrRNA-Psi:CR33371	0,717
CG32242	1NT1	0,555
CG32437	CG32437	0,646

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG33250	AlkB	0,311
CG4630	CG4630	0,549
CG6054	Su(fu)	0,578

Tab. A9: Gene, die im Fettkörper von Weibchen, die einer DR ausgesetzt waren, in mindestens 2 von 3 biologischen Replikaten mehr als 1,5fach hochreguliert waren.

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG10059	MAGE	1,533	CG10827	CG10827	1,533	CG12056	CG12056	1,654
CG10060	Galphai	1,580	CG10853	CG10853	1,696	CG12073	5-HT7	1,768
CG10068	CG10068	2,108	CG10917	fj	2,505	CG12090	CG12090	1,428
CG10077	CG10077	1,461	CG10988	l(1)dd4	1,694	CG12113	IntS4	1,871
CG10079	Egfr	2,294	CG10992	CtsB1	1,709	CG12128	CG12128	2,269
CG10090	Tim17a1	1,642	CG11007	CG11007	1,649	CG12158	CG12158	1,998
CG10128	tra2	2,493	CG11043	CG11043	2,021	CG12227	skpF	2,209
CG10137	CG10137	1,636	CG11051	Nplp2	1,735	CG12240	CG42568	1,596
CG10147	CG10147	3,932	CG11059	Cals	1,753	CG12251	AQP	1,682
CG10206	nop5	3,108	CG1106	Gel	3,187	CG12267	CG12267	1,462
CG10207	NaPi-T	2,290	CG11086	Gadd45	3,539	CG12290	CG12290	1,801
CG10241	Cyp6a17	1,579	CG11098	Tango1	2,049	CG12345	VAcHT	2,129
CG10242	Cyp6a23	3,249	CG11099	CG11099	4,714	CG12350	lambdaTry	1,681
CG10251	prt	7,313	CG11122	CG11122	4,136	CG12355	CG12355	1,834
CG10263	Hakai	2,126	CG11124	sPLA2	1,779	CG1244	MEP-1	1,585
CG10274	CG10274	2,601	CG11128	slif	1,845	CG12667	CG12667	1,853
CG10289	CG10289	1,688	CG11178	CG11178	5,001	CG12691	CG12691	2,200
CG10295	Pak	2,179	CG11219	PIP82	3,031	CG12744	CG12744	3,614
CG10317	CG10317	1,699	CG11242	TBCB	1,770	CG12746	CG12746	1,891
CG10376	CG10376	1,605	CG11291	CG11291	1,948	CG12753	ema	1,645
CG10384	CG10384	3,385	CG11320	CG11320	1,886	CG12754	Or42b	1,782
CG10421	Cad96Cb	2,286	CG1134	Mul1	1,840	CG12782	CG12782	3,559
CG1049	Cct1	1,592		nAcRbeta-		CG12837	Tsp42Er	1,678
CG10542	Bre1	1,849	CG11348	64B	1,561	CG12854	CG42254	2,666
CG10545	Gbeta13F	1,871	CG11362	CG11362	3,595	CG12897	CG42732	1,881
CG10572	Cdk8	1,666	CG11415	Tsp2A	2,652	CG12905	Obp46a	2,832
CG10575	Ppat-Dpck	1,837	CG11437	CG11437	4,044	CG12954	mRpL41	1,479
CG10604	bsh	1,515	CG11504	CG11504	1,878	CG12975	CG12975	1,751
CG10619	tup	2,198	CG11563	CG11563	1,717	CG13041	CG13041	1,798
CG10632	sowah	2,375	CG11658	CG11658	1,553	CG13070	CG13070	1,495
CG10686	tral	1,930	CG11693	CG11693	1,712	CG13090	CG13090	1,954
CG10689	l(2)37Cb	1,540	CG11715	Cyp4g15	1,579	CG13285	CG13285	1,463
CG10701	Moe	1,841	CG11723	CG11723	1,516	CG13316	Mnt	1,568
CG10747	CG10747	1,691	CG11768	CG11768	1,755	CG13335	CG42807	5,591
CG10755	Cyp4ae1	2,004	CG11852	CG11852	1,719	CG13389	RpS13	1,488
CG10799	CG10799	1,495	CG11876	CG11876	1,992	CG1358	CG1358	1,586
CG10806	Nha1	1,547	CG11924	Cf2	2,056	CG13582	Ir60d	1,360
CG10811	eIF4G	2,671	CG11983	CG11983	2,195	CG13611	CG13611	2,009
CG10814	CG10814	2,001	CG11992	Rel	1,839	CG13624	CG13624	1,805

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG13650	CG13650	4,092	CG14821	tow	2,674	CG16944	sesB	2,220
CG13698	CG13698	2,641	CG1483	Map205	1,734	CG16978	CG16978	1,848
CG13775	CG13775	1,896	CG14907	CG14907	3,131	CG16982	Roc1a	1,520
CG13785	CG13785	2,332	CG14911	CG42747	2,229	CG17045	yellow-e3	2,448
CG1381	RpLPO-like	1,608	CG14999	RfC4	1,549	CG17061	mthl10	2,159
CG13827	CG13827	1,424	CG15009	ImpL2	2,070	CG1716	Set2	2,713
CG13858	CG34377	1,809	CG15010	ago	3,523	CG17163	CG17163	1,438
CG13887	CG13887	1,566	CG15040	CG15040	3,225	CG17202	CG17202	1,675
CG13908	Glut1	3,568	CG15060	CG15060	10,389	CG17218	crok	1,938
CG13916	SA-2	2,457	CG15067	CG15067	3,403	CG17245	plexB	2,009
CG13942	Shroom	3,796	CG15068	CG15068	2,241	CG17270	CG17270	1,916
CG13955	CG13955	1,666	CG15125	CG15125	1,841	CG17279	CG17279	4,838
CG13957	CG13957	1,394	CG15138	beat-IIIc	2,023	CG17280	levy	1,417
CG13993	CG13993	1,757	CG15173	Ttc19	1,747	CG17329	CG17329	2,777
CG14059	llp8	1,632	CG15210	CG15210	3,896	CG1742	Mgstl	1,918
CG14096	CG14096	1,536	CG15233	CG15233	7,661	CG17489	RpL5	1,497
CG14174	CG14174	1,875	CG15317	CG15317	2,725	CG17498	mad2	1,676
CG14177	CG14177	2,036	CG15352	rdgA	2,560	CG17525	GstE4	1,767
CG14193	HP1D3csd	2,148	CG15415	Spindly	2,435	CG17564	CG17564	1,423
CG14199	ksh	1,736	CG1550	CG1550	2,198	CG17610	grk	1,376
CG14211	MKP-4	2,262	CG15536	CG15536	1,440	CG17652	CG17652	1,813
CG14243	TwdlD	1,691	CG15676	CG15676	2,536	CG17662	CG17662	1,454
CG14266	ng2	1,933	CG15785	CG42749	8,370	CG17721	CG17721	2,290
CG14275	CG14275	1,712	CG15817	CG15817	14,836	CG17734	CG17734	1,788
CG14307	fru	1,769	CG15818	CG15818	1,933	CG17770	CG17770	25,241
CG14328	CG14328	2,227	CG15924	Nox	1,979	CG17824	CG43896	2,193
CG14340	CG14340	1,581	CG15929	lin-52	1,512	CG17922	CG17922	1,374
CG14341	CG14341	2,224	CG1667	CG1667	2,244	CG17928	CG17928	7,115
CG14438	CG14438	1,782	CG16726	CG33696	2,046	CG18132	CG18132	3,548
CG14469	dpr12	1,572		ItgalphaPS		CG18259	CG18259	2,667
CG14487	lr54a	1,892	CG16827	4	4,511	CG1827	CG1827	2,175
CG14549	Sld5	2,654	CG16840	Art8	4,030	CG18367	CG18367	1,506
CG14615	CG14615	1,784	CG16848	CG16848	2,483	CG18412	ph-p	1,464
CG14638	TwdlU	1,584	CG1685	pen	1,387	CG18420	CG18420	1,481
CG14692	CG14692	2,103	CG16852	CG16852	1,631	CG18493	CG18493	2,343
CG14712	CG14712	1,453	CG16884	CG16884	1,388	CG18543	mtrm	3,752
CG14716	Ho	2,007	CG1689	lz	1,762	CG1857	nec	2,155
CG14724	CoVa	1,701	CG16901	sqd	2,013	CG18598	CG18598	1,750
CG14728	sad	1,675	CG16902	Hr4	2,543	CG18619	CG18619	1,698
CG1474	Es2	1,912	CG16903	CG16903	2,302	CG18814	CG18814	2,513
CG14756	CG14756	1,736	CG16918	CG34436	1,889	CG1922	onecut	1,930

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG2071	Ser6	1,850
CG2083	CG43444	1,526
CG2109	mRpl44	1,950
CG2209	CG2209	1,490
CG2253	Upf2	2,537
CG2259	Gclc	1,758
CG2469	CG2469	4,673
CG2478	bru	1,706
CG2533	CG2533	1,526
CG2534	cno	4,046
CG2790	CG2790	2,296
CG2852	CG2852	1,936
CG2981	TpnC41C	12,979
CG30007	CG30007	1,387
CG30008	CG30008	1,686
CG3001	Hex-A	2,513
CG30036	CG30036	2,286
CG30192	CG30192	1,394
CG3034	MED22	1,578
CG30380	CG30380	1,415
CG3045	CG3045	1,504
CG30457	CG30457	1,530
CG30468	Ir52c	3,658
CG30493	CG30493	1,780
CG30500	CG30500	1,941
CG3059	NTPase	1,695
CG3068	aur	1,774
CG3078	CG3078	1,492
CG3081	CG3081	1,259
CG31119	HdacX	2,675
CG31121	CG31121	1,570
CG31151	wge	1,798
CG31158	Efa6	1,684
CG31183	CG31183	2,417
CG31201	GluRIIE	2,906
CG31249	CG31249	2,139
CG31355	CG31355	1,280
CG31459	CG31459	2,073
CG3149	CG3149	2,039
CG3151	Rbp9	2,173
CG31519	Or82a	2,401

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG31537	cno	1,363
CG31545	CG31545	2,534
CG31556	CG31556	2,607
CG31557	Obp83ef	2,366
CG31690	CG31690	2,838
CG31715	CG31715	2,088
CG31811	CenG1A	1,935
CG31813	CG31813	3,619
CG31840	CG31840	1,441
CG31851	CG31851	2,272
CG31855	CG31855	1,477
CG31864	Qtzl	1,825
CG3200	Reg-2	1,517
CG3201	Mlc-c	2,089
CG32031	Argk	5,974
CG32042	PGRP-LA	7,198
CG32050	CG43897	1,828
CG32171	Lmpt	2,351
CG32184	Nedd4	1,995
CG32196	CG32196	1,786
CG32278	CG32278	2,783
CG32368	CG32368	2,959
CG32380	SMSr	2,835
CG32417	Myt1	1,478
CG32676	CG32676	3,092
CG32751	CG32751	2,428
CG32755	CG32755	1,537
CG32791	CG32791	3,904
CG32798	CG32798	3,238
CG32852	Csk	1,905
CG3297	mnd	1,514
CG33005	CG33786	2,787
CG33070	Sxl	2,558
CG33088	gdl	2,025
CG33093	CG33093	2,958
CG33094	Synd	1,947
CG33107	CG33107	1,565
CG33125	CG33125	3,703
CG33135	KCNQ	1,792
CG33149	Mlp60A	1,978
CG33156	CG33156	1,414

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG33169	CG33169	1,419
CG33189	CG33189	3,055
CG3319	Cdk7	1,576
CG33193	sav	3,008
CG33198	pen-2	3,596
CG33207	pxb	1,476
CG3322	LanB2	2,591
CG33256	Lmpt	1,944
CG33283	CR33283	3,224
CG33351	CheB42b	1,385
CG33484	zormin	1,659
CG33485	dpr9	1,857
CG3353	CG3353	1,826
CG3395	RpS9	2,271
CG3410	lectin-24A	1,695
CG3448	CG3448	3,337
CG3454	Hdc	1,760
CG3483	CG3483	1,804
CG3488	Hydr2	6,408
CG3506	vas	2,944
CG3511	CG3511	5,033
CG3513	CG3513	2,389
CG3552	CG3552	1,586
CG3569	Or59b	4,472
CG3594	Eap	7,382
CG3608	CG3608	2,526
CG3619	DI	1,810
CG3633	mRpS29	2,538
CG3649	CG3649	1,750
CG3723	Dhc93AB	1,731
CG3763	Fbp2	1,649
CG3769	CG3769	1,863
CG3772	cry	3,019
CG3775	CG3775	1,555
CG3810	Edem1	1,635
CG3847	CG3847	1,977
CG3896	Nox	1,831
CG3918	CG3918	1,906
CG3921	CG3921	2,293
CG3992	srp	1,824
CG4000	CG4000	1,661

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG40091	CG40091	1,429	CG4903	MESR4	1,899	CG6143	Pep	2,143
CG40116	CG40116	2,611	CG4945	CG4945	1,686	CG6164	Npc2f	1,568
CG4015	Fcp3C	1,697	CG4975	CG4975	1,580	CG6197	CG6197	1,387
CG4027	Act5C	2,006	CG5011	CG5011	1,998	CG6204	CG6204	1,885
CG40298	CG40298	5,643	CG5023	CG5023	1,502	CG6214	MRP	1,397
CG4049	CG4049	1,401	CG5045	CG5045	1,521	CG6217	knk	2,335
CG4091	CG4091	1,895	CG5069	croc	1,512	CG6254	CG6254	1,521
CG4118	nxf2	1,981	CG5103	CG5103	1,865	CG6269	unc-4	1,849
CG4163	Cyp303a1	1,925	CG5164	GstE1	3,009	CG6276	CG6276	1,964
CG4196	CG42542	1,781	CG5177	CG5177	3,918	CG6311	Edc3	1,620
CG4203	CG4203	2,198	CG5184	mRpS11	1,433	CG6341	Ef1beta	1,602
CG4206	Mcm3	1,734	CG5197	CG34457	1,559	CG6354	Rb97D	1,693
CG4270	CG4270	1,658	CG5201	Dad	1,556	CG6417	Oatp33Eb	1,545
CG4276	aru	1,884	CG5247	Irbp	2,093	CG6418	CG6418	7,662
CG4282	CG4282	1,424	CG5252	Ranbp9	1,517	CG6428	CG6428	1,542
CG4288	CG4288	1,809	CG5304	dmGlut	2,798	CG6449	NijA	2,168
CG4313	CG4313	5,578	CG5323	CG5323	1,591	CG6450	Iva	1,462
CG4318	CG4318	1,750	CG5366	Cand1	1,463		RhoGAP54	
CG4326	mRpS17	1,714	CG5394	Aats-glupro	1,522	CG6477	D	2,216
CG4376	Actn	4,210	CG5493	CG5493	2,688	CG6492	Ucp4A	2,825
CG4438	CG4438	1,631	CG5506	CG5506	2,329	CG6506	CG6506	7,962
CG4449	CG4449	2,047	CG5520	Gp93	2,280	CG6541	Mst33A	1,694
CG4459	CG4459	1,873	CG5547	Pect	1,371	CG6563	Art3	2,813
CG4475	ldgf2	1,651	CG5594	kcc	1,840	CG6568	CG6568	3,503
CG4481	GluRIB	1,479	CG5596	Mlc1	3,165	CG6575	glec	4,653
CG4486	Cyp9b2	3,430	CG5612	CG5612	3,172	CG6579	atilla	1,998
CG4497	CG4497	1,995	CG5630	CG5630	11,960	CG6665	CG6665	1,638
CG4535	FKBP59	2,076	CG5642	CG5642	1,755	CG6742	CenB1A	1,653
CG4556	CG42383	2,071	CG5646	CG5646	1,912	CG6762	CG6762	1,547
CG4562	CG4562	1,650	CG5654	yps	2,326	CG6814	asun	5,931
CG4617	CG4617	1,983	CG5670	Atpalpha	4,326	CG6838	ArfGAP3	1,578
CG4695	CG34114	1,741	CG5740	CG42390	2,099	CG6876	Prp31	1,757
CG4697	CSN1a	1,966	CG5874	Nelf-A	2,215	CG6948	Clc	2,483
CG4713	I(2)gd1	1,691	CG5896	grass	2,308	CG6976	Myo28B1	1,951
CG4741	CG4741	2,332	CG5934	CG5934	2,760	CG7002	Hml	2,222
CG4813	CG4813	1,880	CG5941	CG5941	1,768	CG7010	I(1)G0334	1,479
CG4820	CG4820	10,834	CG6013	CG6013	1,602	CG7035	Cbp80	1,929
CG4859	Mmp1	1,835	CG6033	drk	1,927	CG7062	Rab19	1,828
CG4898	Tm1	1,809	CG6064	Crtc	2,343	CG7109	mts	5,277
CG4899	Pdh	4,835	CG6072	sra	1,616	CG7180	CG7180	3,251
CG4900	Irp-1A	1,683	CG6115	CG6115	2,766	CG7188	Bl-1	3,210

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG7200	CG7200	1,726
CG7228	pes	3,284
CG7236	CG7236	3,455
CG7283	RpL10Ab	2,537
CG7285	star1	2,713
CG7381	CG7381	1,685
CG7422	Snmp2	2,121
CG7436	Nmt	1,741
CG7445	fln	2,310
CG7555	Nedd4	1,642
CG7557	CG7557	1,548
CG7586	Mcr	1,524
CG7595	ck	2,236
CG7628	CG42575	3,027
CG7638	CG7638	1,897
CG7653	CG7653	1,524
CG7695	CG7695	1,750
CG7704	Taf5	3,108
CG7714	CG7714	1,549
CG7737	CG7737	1,690
CG7778	CG7778	1,479
CG7787	CG7787	2,772
CG7788	Ice	1,706
CG7808	RpS8	1,659
CG7829	CG7829	1,691
CG7849	CG7849	1,822
CG7860	CG7860	1,562
CG7919	fan	1,989
CG7940	Arp5	1,887
CG7956	CG7956	1,502
CG8006	CG8006	1,571
CG8108	CG8108	2,099
CG8112	CG8112	1,851
CG8128	CG8128	1,978
CG8135	CG8135	1,501
CG8155	CG8155	3,113
CG8175	Mtk	3,845
CG8186	Vha36-1	4,090
CG8189	ATPsyn-b	2,313
CG8199	CG8199	2,154
CG8210	Vha14-1	1,957

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG8213	CG8213	1,688
CG8224	babo	1,817
CG8229	CG8229	1,565
CG8243	CG8243	1,493
CG8271	Sln	1,859
CG8306	CG8306	1,929
CG8320	CG8320	1,928
CG8434	lbk	2,163
CG8476	CG8476	1,946
CG8526	CG8526	1,691
	beta4GalN	
CG8536	AcTA	1,613
CG8553	SelD	1,819
CG8562	CG8562	1,630
CG8599	Su(var)3-7	1,649
CG8605	CG8605	1,652
CG8609	MED4	1,508
CG8671	CG8671	1,736
CG8697	Lcp2	2,923
CG8730	drosha	1,485
CG8746	CG8746	1,631
CG8805	wun2	2,079
CG8816	Ak6	1,452
CG8817	lilli	2,515
CG8881	skpB	1,905
CG8982	Acp26Aa	1,832
CG9032	sun	1,523
CG9060	Zpr1	1,516
CG9102	bab2	2,082
CG9122	Trh	2,745
CG9123	CG9123	1,691
CG9263	CG9263	1,505
CG9339	sky	3,817
CG9412	rin	1,535
CG9452	CG9452	2,170
CG9473	MED6	1,672
CG9496	Tsp29Fb	2,017
CG9501	ppk14	2,312
CG9503	CG9503	2,625
CG9514	CG9514	3,076
CG9609	CG9609	1,423

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG9653	brk	1,723
CG9686	CG9686	1,315
CG9688	mRpS18C	2,865
CG9689	CG9689	1,537
CG9716	Cyp313b1	1,566
CG9730	mRpL21	1,612
CG9741	Dhod	2,064
CG9753	AdoR	5,042
CG9761	Nep2	3,639
CG9766	CG9766	2,015
CG9822	CG9822	2,671
CG9839	CG9839	2,594
CG9986	CG9986	1,533
CG9996	CG9996	4,154
CR31271	iab-4	2,608
	snRNA:U6:	
CR31379	96Aa	2,659
	His-	
	Psi:CR3161	
CR31614	4	2,271
	snoRNA:M	
	e18S-	
CR31877	A1576	2,781
CR32028	Unr	2,025
CR32489	CR32489	2,612
CR32873	Uhg2	4,129
	snoRNA:M	
	e28S-	
CR32887	G3081a	9,698
	snoRNA:U2	
CR32894	9:54Ec	2,772
	snoRNA:U2	
CR32895	9:54Ed	2,756
	snoRNA:M	
	e28S-	
CR32905	A1322	4,171
	snoRNA:U4	
CR32910	9:66Db	5,837
	snRNA:U5:	
CR32999	23D	2,386
CR33294	CR33294	4,585

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CR33326	mir-34	2,906
CG1075	CR1075	1,796
CG4495	CG4495	1,892

Tab. A10: Gene, die im Fettkörper von Weibchen, die einer DR ausgesetzt waren, in mindestens 2 von 3 biologischen Replikaten mehr als 1,5fach abreguliert waren.

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG10034	tj	0,308	CG11144	mGluRA	0,522	CG12373	mRpL18	0,568
CG10080	mahj	0,353	CG11146	CG43921	0,613	CG12375	CG12375	0,583
CG10094	Cyp313a2	0,720	CG11151	CG11151	0,336	CG12379	CG12379	0,416
CG10155	Spred	0,520	CG11156	mus101	0,674	CG12436	CG43373	0,384
CG10158	CG10158	0,451	CG11159	CG11159	0,613	CG12441	CG34109	0,505
CG10159	BEAF-32	0,581	CG11173	usnp	0,582	CG12442	wuc	0,559
CG10192	eIF4G2	0,441	CG11175	Rcd6	0,321	CG12659	CG12659	0,648
CG10240	Cyp6a22	0,636	CG11191	CG11191	0,302	CG12720	Ten-a	0,591
CG10245	Cyp6a20	0,421	CG11259	MICAL-like	0,600	CG12750	ncm	0,664
CG10249	CG10249	0,162	CG11309	CG11309	0,466	CG12763	Dpt	0,431
CG10320	CG10320	0,527	CG11321	CG11321	0,205	CG12787	hoe1	0,480
CG10361	CG10361	0,181	CG11377	CG11377	0,662	CG12908	Ndg	0,252
CG10365	CG10365	0,648	CG11404	CG11404	0,575	CG12964	CG12964	0,636
CG10383	CG10383	0,567	CG11450	net	0,541	CG13210	CG42336	0,707
CG10520	tub	0,615	CG11458	CG11458	0,651	CG13214	Cpr47Ef	0,533
CG10541	Tektin-C	0,545	CG1147	NPFR1	0,742	CG13229	CG13229	0,379
CG10578	DnaJ-1	0,758	CG11471	Aats-ile	0,694	CG13260	CG42389	0,572
CG10579	Eip63E	0,428	CG11482	Mlh1	0,562	CG13391	Aats-ala	0,630
CG10586	Sems	0,669	CG11486	CG11486	0,670	CG13398	CG13398	0,497
CG10594	spo	0,584	CG11491	br	0,585	CG13415	Cby	0,688
CG10595	d	0,609	CG11501	Diedel	0,701	CG13426	CG13426	0,647
CG10622	Sucb	0,263	CG11502	svp	0,595	CG13467	DCX-EMAP	0,551
CG1063	ltp-r83A	0,698	CG11505	CG11505	0,160	CG13494	CG13494	0,626
CG10662	sick	0,621	CG1154	Osi12	0,646	CG13506	CG13506	0,635
CG10669	CG10669	0,641	CG11594	CG11594	0,387	CG13580	Crtp	0,537
CG10673	CG10673	0,555	CG1161	CG1161	0,602	CG13587	CG13587	0,580
CG10734	CG10734	0,574	CG11637	NijB	0,977	CG13591	Ssl	0,592
CG1082	alpha-Est4	0,620	CG11659	CG11659	0,485	CG13699	CG13699	0,646
CG10834	CG10834	0,629	CG11692	CG11692	0,652	CG13779	CG13779	0,732
CG10843	Cyp4p3	0,496	CG11844	vig2	0,583	CG13795	CG13795	0,430
CG10844	Rya-r44F	0,501	CG11910	alrm	0,129	CG13796	CG13796	0,656
CG10864	CG10864	0,401	CG11963	skap	0,610	CG13826	cnc	0,454
CG10916	CG10916	0,625	CG11985	CG11985	0,559	CG13876	CG13876	0,583
CG10936	CG10936	0,672	CG12017	CG12017	0,668	CG14028	cype	0,621
CG10948	CG10948	0,414	CG12024	CG12024	0,455	CG14033	CR14033	0,607
CG10972	ppk12	0,424	CG12057	CG12057	0,571	CG14035	Msp-300	0,597
CG10977	CG33523	0,599	CG12066	Pka-C2	0,409	CG14060	Exn	0,584
CG11019	CG31688	0,563	CG12071	CG12071	0,702		Sec61gam	
CG1103	CG1103	0,404	CG12086	cue	0,526		ma	0,568
CG1107	aux	0,593	CG12091	CG12091	0,260	CG14228	Mer	0,200
CG11091	CG11091	0,448	CG12119	CG12119	0,577	CG14237	CG14237	0,478
CG11133	BoYb	0,367	CG12132	c11.1	0,640	CG14291	CG14291	0,627
CG11141	CG11141	0,547	CG12171	CG12171	0,416	CG14294	CG14294	0,267
CG11142	obst-E	0,301	CG12249	mira	0,683	CG14443	CG14443	0,894
						CG14490	CG14490	0,660

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG14584	Ir20a	0,616	CG15730	Mks1	0,416	CG17746	CG17746	0,608
CG14647	CG14647	0,656	CG15803	CG15803	0,634	CG17782	CG17782	0,616
CG14672	Spec2	0,473	CG15811	Rop	0,755	CG17816	CG17816	0,466
CG14696	CG14696	0,252	CG15874	Pgam5-2	0,504	CG17820	fit	0,182
CG14748	CG42326	0,558	CG1638	CG1638	0,635	CG17829	CG17829	0,496
CG14778	CG14778	0,790	CG1646	CG1646	0,618	CG17903	Cyt-c-p	0,455
CG14815	Pex5	0,543	CG1662	CG1662	0,727	CG17906	CG17906	0,624
CG14824	form3	0,510	CG1665	CG1665	0,588	CG17916	Or92a	0,559
CG14900	Cad89D	0,520	CG16704	CG16704	0,563	CG17931	CG17931	0,494
CG14909	VhaM9.7-d	0,479	CG16747	Oda	0,554	CG18095	CG18095	0,575
CG14963	CG14963	0,650	CG1675	Ntmt	0,561	CG18110	CG18110	1,207
CG14969	CG14969	0,660	CG16758	CG16758	0,302	CG18111	Obp99a	0,598
CG14977	CG14977	0,717	CG16772	CG16772	1,670	CG18128	CG18128	0,042
CG15049	CG43843	0,352	CG16820	CG16820	0,458	CG18144	Hand	0,662
CG15080	CG15080	0,680	CG16836	CG16836	0,275	CG1824	CG1824	0,609
CG15095	l(2)08717	0,375	CG16888	CG16888	0,694	CG18335	CG18335	0,445
CG15096	CG15096	0,511	CG1693	tty	0,726	CG1835	CG1835	0,414
CG15097	CG15097	0,506	CG16936	GstE12	0,543	CG18369	S-Lap5	0,294
CG15102	Jheh2	0,405	CG16941	CG16941	0,627	CG18467	CG18467	0,606
CG15104	Topors	0,520	CG16965	CG16965	0,432	CG18492	Tak1	0,671
CG15107	CG15107	0,540	CG16970	CG43778	0,553	CG18519	CG18519	0,409
CG1511	Eph	0,435	CG16986	CG16986	0,545	CG18584	koi	0,469
CG1512	Cul-2	0,197	CG16987	daw	0,326	CG18599	CG18599	0,524
CG15134	tweek	0,609	CG17004	D2R	0,533	CG18735	CG18735	0,594
CG15141	CG15141	0,510	CG17030	CG17030	0,685	CG1877	lin19	0,681
CG15151	rdo	0,600	CG17034	CG42321	0,288	CG18779	Lcp65Ag3 Gycalpa9	0,778
CG15166	CG15166	0,228	CG17049	CG43691	0,541	CG1912	9B	0,602
CG15172	CG15172	0,541	CG1709	Vha100-1	0,658	CG1934	ImpE2	0,582
CG1519	Prosalpa7	0,613	CG17167	CG17167	0,799	CG1946	CG1946	0,440
CG15212	CG15212	0,551	CG17221	CG17221	0,706	CG1966	Acf1	0,543
CG15261	UK114	0,585	CG17224	CG17224	0,701	CG2045	Ser7	0,600
CG15278	CG15278	0,129	CG17249	CG17249	0,560	CG2053	CG2053	0,397
CG15313	Cht6	0,509	CG17257	GABPI	0,609	CG2069	Oseg4	0,457
CG1532	CG1532	0,355	CG17336	Lcch3	0,463	CG2104	CG2104	0,688
CG15354	CG33543	0,590	CG17342	Lk6	0,545	CG2145	CG2145	0,535
CG15358	CG15358	0,452	CG17347	l(2)37Ce	0,649	CG2229	Jon99Fii	0,350
CG15369	CG15369	0,632	CG17470	CG17470	0,612	CG2248	Rac1	0,356
CG15377	Or22c	0,421	CG1750	CG1750	0,607	CG2310	CG2310	0,462
CG15396	Gr23a	0,537	CG17520	CkIIalpha	0,680	CG2321	CG2321	0,633
CG15398	CG15398	0,690	CG17540	Spf45	0,455	CG2411	ptc	0,497
CG15443	CG15443	0,497	CG17544	CG17544	0,336	CG2446	Amun	0,465
CG15534	CG15534	0,614	CG1756	CG43155	0,364	CG2448	FucT6	0,558
CG15555	CG15555	0,225	CG17603	Taf1	0,698	CG2503	atms	0,693
CG15616	Acp53C14b	0,519	CG17666	CG17666	0,712	CG2508	Cdc23	0,349
CG15663	Rgk3	0,541	CG17678	cta	0,735	CG2512	alphaTub8 4D	0,396
CG15693	RpS20	0,689	CG17687	CG17687	0,578	CG2522	Gtp-bp	0,666
CG1571	CG1571	0,622	CG17698	CG17698	0,576			

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG2675	Csat	0,528	CG31991	mdy	0,471	CG3436	CG3436	0,591
CG2746	RpL19	0,424	CG31997	CG31997	0,712	CG3446	CG3446	0,380
CG2830	Hsp60B	0,425	CG32068	CG32068	0,565	CG3457	CG3457	0,510
CG2863	Nle	0,526	CG32104	CG32104	0,706	CG3469	betaggt-l	0,301
CG2928	Reg-5	0,642	CG32140	nuf	0,666	CG3523	CG3523	0,328
CG2973	Cpr23B	0,555	CG32151	CG32151	0,475	CG3527	CG3527	0,352
CG2979	Yp2	0,547	CG32156	Mbs	0,345	CG3599	Btd	0,568
CG30010	CG30010	0,470	CG32176	CG32176	0,647	CG3616	Cyp9c1	0,694
CG30011	gem	0,631	CG3218	fs(1)K10	0,530	CG3626	CG3626	0,306
CG30019	CG18003	0,217	CG32230	CG32230	0,618	CG3661	RpL23	0,061
CG30083	CG30083	0,272	CG32234	axo	0,584	CG3675	Art2	0,581
CG30121	CR30121	0,424	CG32240	CG32240	0,506	CG3700	CG3700	0,308
CG30159	CG30159	0,550	CG32250	CG32250	0,642	CG3707	wapl	0,213
CG30188	CG34371	0,645	CG32276	CG32276	0,571	CG3715	Shc	0,551
CG3032	CG3032	0,550	CG32277	CG32277	0,525	CG3746	CG3746	0,849
CG30355	CG30355	0,592	CG32280	CG32280	0,594	CG3753	Marcal1	0,317
CG30364	hubl	0,501	CG32318	CG32318	0,580	CG3829	CG3829	0,602
CG30388	Magi	0,837	CG32336	CG32336	0,572	CG3979	Indy	0,612
CG30401	CG30401	6,688	CG32405	Cpr65Av	0,567	CG4008	und	0,211
CG30412	CG30412	0,667	CG32408	CG32408	0,692	CG4016	Spt-I	0,359
CG3048	Traf4	0,398	CG32444	CG32444	0,187	CG40178	CG40178	0,767
CG3064	futsch	0,354	CG32469	Glut4EF	0,598	CG40218	Yeti	0,614
CG31028	CG31028	0,704	CG32505	Pp4-19C	0,526	CG40264	CG40264	0,623
CG31063	CG42813	0,543	CG32533	CG32533	0,524	CG40269	CG40269	0,583
CG31064	CG31064	0,697	CG32632	Tango13	0,535	CG4051	egl	0,654
CG31116	CIC-a	0,514	CG32696	CG42262	0,712	CG4069	CG4069	0,673
CG3114	ewg	0,684	CG32699	CG32699	0,564	CG4095	CG4095	0,580
CG31160	CG34376	0,572	CG32921	CG33934	0,632	CG4180	l(2)35Bg	0,447
CG31171	CG31171	0,681	CG32954	Adhr	0,347	CG4185	NC2beta	0,446
CG31196	3epsilon	0,882	CG32956	Chrac-14	0,601	CG4190	Hsp67Bc	0,490
CG31226	CG31226	0,301	CG33003	CG33003	0,568	CG4258	dbe	0,425
CG31281	Tpl94D	0,519	CG33007	Ack-like	0,336	CG4260	AP-2alpha	0,529
CG31313	CG31313	0,362	CG3301	CG3301	0,336	CG4262	elav	0,600
CG31381	CG31381	0,401	CG33054	CG33054	0,359	CG4268	Pitslre	0,624
CG31418	CG31418	0,738	CG33056	CG33056	0,621	CG4293	CG4293	0,543
CG31483	Pif2	0,636	CG33090	CG33090	0,170	CG4311	Hmgs	0,513
CG31548	CG31548	0,647	CG33115	nimB4	0,602	CG4312	MtnB	0,653
CG31607	CG43394 His2A:CG3	0,305	CG33120	CG33120	0,428	CG4322	moody	0,365
CG31618	1618	0,339	CG33154	CG33964	0,635	CG4337	mtSSB	0,549
CG31628	ade3	0,476	CG33180	Ranbp16	0,242	CG4370	Irk2	0,603
CG31673	CG31673	0,471	CG33192	MtnD	0,461	CG4381	GstD3	0,579
CG3168	CG3168	0,685	CG33293	CG33293	0,437	CG4394	Traf-like	0,574
CG31692	fbp	0,505	CG33332	CG33332	0,481	CG4409	CG4409	0,350
CG31737	CG42266	0,649	CG33339	CG33339	0,373	CG4413	trem	0,658
CG31886	CG31886	0,605	CG33493	CG33493	0,425	CG4414	Ugt58Fa	0,616
CG31937	CG31937	0,581	CG3350	bigmax	0,390	CG4415	CG4415	0,428
			CG3419	CG3419	0,560	CG4457	Srp19	0,443

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians	Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG4567	ico	0,413	CG5910	CG5910	0,576	CG6878	CG6878	0,736
CG4600	yip2	0,597	CG6000	CG6000	0,633	CG6910	CG6910	0,207
CG4602	Srp54	0,653	CG6017	Hip14	0,661	CG6912	CG6912	0,464
CG4707	CG4707	0,188	CG6020	CG6020	0,544	CG6951	CG6951	0,675
CG4717	kni	0,401	CG6028	CG6028	0,533	CG7049	CG7049	0,483
CG4749	CG4749	0,351	CG6045	CG6045	0,406	CG7053	CG7053	0,435
CG4753	CG4753	0,397	CG6070	gb	0,564	CG7055	dalao	0,429
CG4759	RpL27	0,778	CG6074	CG6074	1,304	CG7068	Tep3	0,640
CG4760	bol	0,605	CG6094	CG6094	0,209	CG7074	mio	0,671
CG4788	CG4788	0,645	CG6116	Uvrag	0,587	CG7081	Pex2	0,493
CG4803	Takl2	0,478	CG6120	Tsp96F	0,232	CG7107	up	0,457
CG4838	beat-lc	0,600	CG6142	CG6142	0,558	CG7192	CG7192	0,574
CG5003	CG5003	0,487	CG6167	PICK1	0,324	CG7211	CG7211	0,417
CG5006	Or33c	0,219	CG6174	Arp1	0,315	CG7234	GluRIIB	0,527
CG5024	CG5024	0,556	CG6182	CG6182	0,640	CG7245	eyes	0,497
CG5030	CG34139	0,522	CG6184	CG6184	0,648	CG7266	Eip71CD	0,478
CG5072	Cdk4	0,592	CG6187	RluA-2	0,406	CG7269	Hel25E	0,315
CG5105	Plap	0,674	CG6198	CHORD	0,208	CG7324	CG7324	0,392
CG5126	CG5126	0,667	CG6220	CG6220	0,211	CG7330	CG7330	0,620
CG5167	CG5167	0,611	CG6225	CG6225	0,306	CG7362	CG7362	0,527
CG5169	GckIII	0,556	CG6235	tws	0,190	CG7393	p38b	0,165
CG5246	CG5246	0,728	CG6283	CG6283	0,407	CG7441	CG7441	0,163
CG5258	NHP2	0,476	CG6284	Sirt6	0,421	CG7452	Syx17	0,450
CG5292	CG5292	0,534	CG6291	ApepP	0,571	CG7478	Act79B	0,579
CG5295	bmm	0,545	CG6361	Hayan	0,582	CG7497	CG7497	0,672
CG5315	CG5315	0,685	CG6395	Csp	0,391	CG7516	l(2)34Fd	0,186
CG5353	Aats-thr	0,586	CG6416	Zasp66	0,566	CG7530	CG7530	0,426
CG5357	CG43795	1,008	CG6429	CG6429	0,671	CG7533	chrB	0,642
CG5390	CG5390	0,638	CG6451	blue	0,617	CG7558	Arp3	0,540
CG5408	trbl	0,536	CG6464	salm	0,695	CG7573	CG7573	0,562
CG5413	CREG	0,592	CG6484	CG6484	0,349	CG7582	CG7582	0,692
CG5461	bun	0,618	CG6485	CG6485	0,516	CG7614	Mat1	0,609
CG5474	SsRbeta	0,676	CG6519	Cp15	0,371	CG7615	fig	0,541
CG5501	Myo95E	0,500	CG6550	CG6550	0,583	CG7623	sll	0,540
CG5567	CG5567	0,636	CG6598	Fdh	0,565	CG7641	Nca	0,576
CG5577	CG5577	0,404	CG6600	CG42269	0,519	CG7655	CG7655	0,809
CG5590	CG5590	0,456	CG6684	RpS25	0,727	CG7749	kug	0,640
CG5682	Edem2	0,423	CG6692	Cp1	0,644	CG7764	mrn	0,604
CG5704	CG5704	0,588	CG6706	GABA-B-R2	0,552	CG7769	pic	0,652
CG5707	CG5707	0,424	CG6727	gom	0,525	CG7781	CG7781	0,647
CG5787	CG5787	0,441	CG6788	CG6788	0,331	CG7786	CG7786	0,772
CG5793	CG5793	0,383	CG6789	Rpn13R	0,449	CG7791	CG7791	0,628
CG5813	chif	0,515	CG6806	Lsp2	0,627	CG7839	CG7839	0,632
CG5819	CG5819	0,634	CG6808	CG6808	0,331	CG7907	CG7907	0,643
CG5830	CG5830	0,472	CG6835	GS	0,379	CG7918	CG7918	0,455
CG5837	Hem	0,584	CG6854	CTPsyn	0,602	CG7928	CG7928	0,332
CG5853	CG5853	0,560	CG6866	loqs	0,531	CG7975	Grx-1	0,642

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG7999	MED24	0,602
CG8002	rictor	0,269
CG8014	Rme-8	0,641
CG8043	CG8043	0,458
CG8044	HP4	0,618
CG8049	Btk29A	0,702
CG8055	shrb	0,437
CG8068	Su(var)2-10	0,658
CG8072	CG8072	0,514
CG8092	row	0,636
CG8141	CG8141	0,478
CG8169	Pms2	0,416
CG8195	CG8195	0,376
CG8197	CG8197	0,733
CG8198	l(1)G0136	0,395
CG8205	fus	0,686
CG8208	MBD-like	0,545
CG8235	CG8235	0,242
CG8249	CG8249	0,657
CG8252	CG8252	0,346
CG8287	Rab8	0,666
CG8295	Mlf	0,535
CG8327	SpdS	0,581
CG8335	CG8335	0,241
CG8339	sfl	0,494
CG8345	Cyp6w1	0,187
CG8369	CG8369	0,715
CG8394	VGAT	0,549
CG8396	Ssb-c31a	0,531
CG8399	CG8399	0,544
CG8417	CG8417	0,600
CG8420	CG8420	0,618
CG8424	Jhedup	0,225
CG8431	Aats-cys	0,562
CG8454	Vps16A	0,379
CG8455	CG8455	0,454
CG8462	Obp56e	0,290
CG8543	CG8543	0,552
CG8552	CG8552	0,541
CG8610	Cdc27	0,495
CG8611	CG8611	0,449
CG8613	CG8613	0,442
CG8626	Acp53C14a	0,422
CG8630	CG8630	0,544
CG8667	dimm	0,372
CG8674	l(2)k14505	0,468
CG8676	Hr39	0,463

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG8679	CG8679	0,620
CG8717	slv	0,441
CG8727	cyc	0,393
CG8728	CG8728	0,719
CG8765	CG8765	0,597
CG8781	tsu	0,550
CG8782	Oat	0,568
CG8785	CG8785	0,394
CG8809	Camta	0,793
CG8836	Cpr49Ad	0,776
CG8863	Droj2	0,639
CG8914	CkIibeta2	0,698
CG8930	rk	0,638
CG8997	CG8997	0,585
CG9023	Drip	0,647
CG9044	CG9044	0,633
CG9048	Vm26Aa	0,545
CG9090	CG9090	0,482
CG9120	LysX	0,240
CG9139	Rabex-5	0,539
CG9163	mmd	0,467
CG9188	sip2	0,602
CG9213	CG9213	0,639
CG9240	CG9240	0,386
CG9270	CG9270	0,596
CG9307	Cht5	0,633
CG9316	CG9316	0,672
CG9333	Oseg5	0,413
CG9356	CG9356	0,405
CG9361	Task7	0,611
CG9377	CG9377	0,574
CG9391	CG9391	0,652
CG9394	CG9394	0,553
CG9395	CG9395	0,648
CG9426	CG9426	0,277
CG9434	Fst	0,590
CG9436	CG9436	0,584
CG9441	Pu	0,591
CG9453	Spn42Da	0,658
CG9456	Spn42Dd	0,429
CG9471	CG9471	0,337
CG9508	CG42370	0,571
CG9511	CG42370	0,559
CG9512	CG9512	0,312
CG9539	Sec61alpha	0,643
CG9547	CG9547	0,405
CG9606	Rrp45	0,559

Gen-ID	Symbol	Ratio of Medians
CG9617	Sgt1	0,230
CG9630	CG9630	0,405
CG9634	CG9634	0,556
CG9636	CG9636	0,500
CG9665	Cpr73D	0,309
CG9673	CG9673	0,652
CG9695	Dab	0,678
CG9709	Acox57D-d	0,597
CG9722	CG9722	0,403
CG9738	Mkk4	0,510
CG9765	tacc	0,569
CG9781	obst-G	0,339
CG9809	Spargel	0,599
CG9819	CanA-14F	0,570
CG9834	endoB	0,607
CG9887	VGlut	0,635
CG9916	Cyp1	0,354
CG9935	CG9935	0,526
CG9953	CG9953	0,573
CG9961	CG9961	0,297
CG9992	CG9992	0,651
CG9995	htt	0,618
CR15821	CR15821	0,373
CG18374	Gyk	0,371
CG30062	CG30062	0,460
CG4198	CG4198	0,388
CG6567	CG6567	0,611
CG7251	CG7251	0,517