

**Biochemische und molekulargenetische
Charakterisierung der LEW.1AR1-*iddm* Ratte
- ein neues Tiermodell
des insulinpflichtigen Typ 1 Diabetes mellitus**

Vom Fachbereich **Chemie** der Universität Hannover
zur Erlangung des Grades
Doktorin der Naturwissenschaften
Dr. rer. nat.

genehmigte Dissertation

von

Dipl. oec. troph.

Heike Weiss

geboren am 14. Mai 1975 in Hanau

Referent: PD Dr. M. Tiedge

Koreferent: Prof. Dr. W. Müller

Tag der Promotion: 3. August 2004

Meiner Familie in Dank gewidmet

Wissenschaftliche Betreuung: PD Dr. Markus Tiedge, Dr. Dirk Wedekind

Die Dissertation wurde im Rahmen des Graduiertenkollegs 705 „Charakterisierung pathophysiologischer Versuchstiermodelle“ angefertigt und von der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert.

Zusammenfassung

Tiermodelle spielen eine wichtige Rolle bei der Erforschung der Ätiologie und Pathogenese des Typ 1 Diabetes mellitus (T1DM). Sie erlauben eine detaillierte Untersuchung der Pathomechanismen der Beta-Zellerstörung, die aus ethischen Gründen (Pankreasbiopsien!) sowie aus Gründen des Zeitverlaufes nicht an diabetischen Patienten durchgeführt werden können. Die am häufigsten für die Untersuchungen des T1DM eingesetzten Nagetiermodelle sind die BB Ratte und die NOD Maus, die jedoch beide Immundefekte aufweisen, die beim Typ 1 Diabetiker nicht nachgewiesen werden konnten. Im Genom von Mensch, Maus und Ratte finden sich Diabetessuszeptibilitätsregionen, die mit der Manifestation des T1DM assoziiert sind.

Der LEW.1AR1-*iddm* Stamm entstand durch eine Spontanmutation im intra MHC rekombinanten, congenen Rattenstamm LEW.1AR1. Die LEW.1AR1-*iddm* Tiere erkranken, ausgelöst durch die Mutation, an einem spontanen T1DM. Der Diabetes manifestiert sich um den 60. Lebensstag zu Beginn der Adoleszenz. Je nach Verpaarung der Tiere (diabetische und/oder nicht diabetische Elterntiere) erkranken 30 % oder 60 % der Nachkommen. Es gibt keine Geschlechtsunterschiede in der Diabetesinzidenz. Die stoffwechselphysiologischen Untersuchungen zeigen einen fulminanten Anstieg der Blutglucosekonzentration, die die typischen Symptome wie Polyurie, Polydipsie, Glucosurie, Ketonurie und Gewichtsverlust auslöst. Ohne Insulinsubstitution verläuft die Diabeteserkrankung der Tiere innerhalb einer Woche letal.

Histologische Untersuchungen bestätigen den apoptotischen Zelltod der Beta-Zellen. So finden sich in den Pankreata der erkrankten Tiere nur noch Beta-Zellfreie Inseln. Zu diesem Zeitpunkt ist keine Insulinproduktion mehr messbar. Auch die Insulingenexpression ist kaum noch nachweisbar. Die Genexpression des Enzyms iNOS als Markergen für die beta-zellzerstörenden Zytokinauswirkungen ist stark erhöht.

Die genetische Analyse zeigt 3 Suszeptibilitätsloci, die in der Diabetesmanifestation der LEW.1AR1-*iddm* Ratte eine Rolle spielen. Zwei der Loci kartieren auf Chromosom (RNO) 1 der Ratte, ein weiterer auf RNO20 im Bereich des MHC. Es zeigen sich für alle drei Suszeptibilitätsregionen der Ratte in den homologen Regionen des Menschen ebenfalls diabetesprädisponierende Gene (*IDDM* Gene).

Die den T1DM auslösende Autoimmunität kann durch T-Zellen diabetischer LEW.1AR1-*iddm* Tiere auf nicht diabetische Tiere desselben Stammes übertragen werden. Die Übertragung von T-Zellen diabetischer LEW.1AR1-*iddm* Tiere auf den diabetesresistenten LEW.1AR1 Hintergrundstamm löst jedoch keine Diabeteserkrankung in diesen Tieren aus. Diese Diabetesresistenz, wahrscheinlich mediiert durch eine regulatorische T-Zellsubpopulation, kann durch adoptiven Transfer vom LEW.1AR1 Stamm auf prädiabetische LEW.1AR1-*iddm* Tiere transferiert werden.

Die Stimulation des LEW.1AR1 Hintergrundstammes mit Poly I:C und die daraus resultierende Diabeteserkrankung der Tiere zeigt, dass auch in diesem, nicht spontan an Diabetes erkrankenden Rattenstamm T-Zellen mit autoaggressivem Potential vorhanden sind.

Mit der LEW.1AR1-*iddm* Ratte steht somit ein neues Tiermodell des T1DM zur Verfügung, das wesentliche Charakteristika der menschlichen Erkrankung besitzt. Die vorliegende Arbeit liefert Basisdaten der Pathophysiologie, der Genetik und Immunologie, die notwendig sind, um dieses Tiermodell der experimentellen Diabetologie verfügbar zu machen.

Schlüsselwörter: Diabetes mellitus, Tiermodelle, LEW.1AR1-*iddm*

Abstract

Animal models of Type 1 diabetes mellitus (T1DM) are playing a crucial role in the study of diabetes. Experimental animal models facilitate the study of the pathogenesis and complications of diabetes, because they permit the evaluation of treatment protocols that are not immediately feasible or ethical in human patients. At present the most commonly used diabetic rodent models are the BB rat and the NOD mouse. Both models show significant differences to the human T1DM regarding immunological defects that haven't been detected in humans. Humans, mice and rats show genomic susceptibility regions which are associated with the manifestation of the T1DM.

The LEW.1AR1-*iddm* rat is a new animal model of T1DM which arose through a spontaneous mutation within the inbred rat strain LEW.1AR1. The animals get diabetic around day 60 of live at the beginning of adolescence. According to breeding conditions (one or both parents diabetic) 30 % or 60 % from the offspring will get diabetes. No sex differences were found in the diabetic animals. After diabetes onset all animals show the characteristic symptoms (hyperglycemia, polyuria, polydipsia, glucosuria, ketonuria and weight loss) of T1DM. Without insulin substitution the diabetes has a lethal outcome within one week.

Histological examinations confirmed the apoptotic cell death of the beta-cells. Islets of diabetic LEW.1AR1-*iddm* animals showed beta-cell free end-stage islets only. At this stage, no insulin secretion or insulin gene expression was measurable. The gene expression of the iNOS enzyme as a marker for cytokine induced beta-cell destruction was increased.

Linkage analysis using microsatellite markers revealed three susceptibility loci, two located on chromosome 1 (RNO1) and one on chromosome 20 (RNO20), which were significantly linked to T1DM. The three diabetes susceptibility loci of the LEW.1AR1-*iddm* rat show homologies to diabetes-associated genes of the human genome (*IDDM* genes).

The diabetic syndrome could be transferred by ConA activated T-cells of diabetic LEW.1AR1-*iddm* rats to non diabetic animals. The LEW.1AR1 background strain remained healthy after adoptive transfer of diabetogenic T-cells. The LEW.1AR1 animals seem to contain regulatory T-cells which protect the animals from diabetes. These protective T-cells could be transferred into the diabetes prone LEW.1AR1-*iddm* animals, resulting in a decreased diabetes incidence in the recipients. Nevertheless, Poly I:C stimulation showed an autoaggressive capability in the immune system of the LEW.1AR1 background strain by inducing diabetes in this strain.

The LEW.1AR1-*iddm* rat is a new animal model of T1DM that closely resembles to the human T1DM. This work presents the basic facts concerning pathophysiology, genetic and immunology of this new animal model to make it available for the experimental diabetes research.

Key words: diabetes mellitus, animal models, LEW.1AR1-*iddm*

Teilergebnisse der vorliegenden Dissertation sind bereits veröffentlicht:

Lenzen S., Tiedge M., Elsner M., Lortz S., Weiss H., Jörns A., Klöppel G., Wedekind D., Prokop C.M., Hedrich H.J. (2001). The LEW.1AR1/Ztm-*iddm* rat: a new model of spontaneous insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetologia* 44: 9, 1189-1196

Weiss H., Tiedge M., Lenzen S., Hedrich H.J., Wedekind D. (2002). Die LEW.1AR1-*iddm* Ratte – Stoffwechselfysiologische und genetische Untersuchungen. *Diabetes und Stoffwechsel* 11: Suppl 1, 28

Weiss H., Tiedge M., Lenzen S., Hedrich H.J., Wedekind, D. (2002). The LEW.1AR1-*iddm* rat – pathophysiological aspects and genetic susceptibility of a new animal model of Type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia* 45: [Suppl 2]: A116

Weiss H., Mallon P., Tiedge M., Lenzen S., Hedrich H.J., Wedekind D. (2003). Suszeptibilitätsloci für den Autoimmundiabetes der LEW.1AR1-*iddm* Ratte kartieren auf Chromosom 1 und 20. *Diabetes und Stoffwechsel* 12: Suppl 1, 19

Weiss H., Mallon P., Tiedge M., Lenzen S., Hedrich H.J., Wedekind D. (2003). Type 1 diabetes mellitus of the LEW.1AR1-*iddm* rat is linked to susceptibility loci on RNO1 and RNO20. *Diabetologia* 46: [Suppl 2]: A106

Wedekind D., Weiss H., Jörns A., Lenzen S., Tiedge M., Hedrich H.J., (2003). Importance of the cellular immune status for development of diabetes in the LEW.1AR1-*iddm* rat. *Diabetologia* 46: [Suppl 2]: A181

Weiss H., Tiedge M., Jörns A., Lenzen S., Hedrich H.J., Wedekind D. (2004). Immunologische und genetische Charakterisierung der LEW.1AR1-*iddm* Ratte. *Diabetes und Stoffwechsel* 13: Suppl 1, 12

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	I
Abkürzungsverzeichnis	
1 Einleitung	1
1.1 Definition und Klassifikation des Diabetes mellitus.....	1
1.2 Diabetes mellitus Typ 1 (T1DM).....	2
1.3 Tiermodelle des Diabetes mellitus Typ 1.....	6
<i>1.3.1 Die NOD Maus</i>	<i>7</i>
<i>1.3.2 Die BB Ratte</i>	<i>9</i>
<i>1.3.3 Die KDP Ratte</i>	<i>11</i>
1.4 Die Genetik des Diabetes mellitus Typ 1	12
<i>1.4.1 Die IDDM Gene des Menschen und ihre Lokalisation</i>	<i>12</i>
<i>1.4.2 Die Idd Gene der Maus und ihre Lokalisation</i>	<i>15</i>
<i>1.4.3 Die Iddm Gene der Ratte und ihre Lokalisation</i>	<i>17</i>
1.5 Die Immunologie des T1DM.....	21
1.6 Fragestellung	24
2 Materialien und Methoden.....	25
2.1 Materialien	25
2.2 Tiere und Tierhaltung.....	27
2.2.1 LEW.1AR1/Ztm (LEW-RT1 ^{r2}).....	27
2.2.2 LEW.1AR1/Ztm-iddm (LEW-RT1 ^{r2iddm})	27
2.2.3 BN/Ztm.....	28
2.2.4 LEW.1WR1/Ztm (LEW-RT1 ^{r4}).....	28
2.2.5 LEW.1AR1/Ztm-Whn ^{rmu} (LEW-RT1 ^{r2Whn^{rmu}})	28
2.3 Untersuchungen der Stoffwechseleränderungen bei prädiabetischen und diabetischen LEW.1AR1-iddm Ratten.....	29
2.3.1 Bestimmung der Blutglucose	29
2.3.2 Bestimmung des Körpergewichts.....	29
2.3.3 Bestimmung der Harnmenge.....	29
2.3.4 Bestimmung der Trinkmenge und der Futteraufnahme	29

2.3.5	Bestimmung der Harnglucose und der Harnketonkörper.....	30
2.4	Genetische Untersuchungen einer (BN x LEW.1AR1- <i>iddm</i>) x LEW.1AR1- <i>iddm</i> Rückkreuzungspopulation (N2)	30
2.4.1	Generierung einer (BN x LEW.1AR1- <i>iddm</i>) x LEW.1AR1- <i>iddm</i> Rückkreuzungspopulation (N2)	30
2.4.2	DNA Isolierung	30
2.5	Polymerase Kettenreaktion (PCR)	32
2.5.1	Auswahl von Mikrosatellitenmarkern	33
2.5.2	Erstellung von genassoziierten Mikrosatellitenmarkern	36
2.5.3	Untersuchung der Mikrosatellitenmarker auf Polymorphismen	37
2.5.4	Physikalische Kartierung der eingesetzten Mikrosatellitenmarker	37
2.6	Immunologische Untersuchungen der LEW.1AR1- <i>iddm</i> Ratte.....	38
2.6.1	Diabetesinduktion durch adoptiven Transfer ConA stimulierter Immunzellen	38
2.6.2	Diabetesinduktion durch Injektion von Poly I:C.....	39
2.7	Dokumentation der β -Zellzerstörung mittels <i>Real Time</i> PCR (RT-PCR).....	39
2.7.1	RNA Isolierung	39
2.7.2	Gelelektrophorese zur Auftrennung der RNA	40
2.7.3	<i>Real Time</i> PCR (RT-PCR)	42
2.7.3.1	Reverse Transkription	42
2.7.3.2	<i>Real Time</i> PCR Amplifikation	42
2.8	Statistische Auswertung	44
2.8.1	Statistische Auswertung der genetischen Untersuchungen.....	44
2.8.2	Weitere statistische Auswertungen	45
3	Resultate	46
3.1	Verpaarungsmodus, Geschlechterverteilung und Zeitpunkt der Diabetesmanifestation der LEW.1AR1- <i>iddm</i> Ratte	46
3.2	Zelluläre Infiltrationen der Pankreasinseln und apoptotische β -Zellzerstörung der LEW.1AR1- <i>iddm</i> Ratte	48
3.3	Stoffwechselphysiologie der LEW.1AR1- <i>iddm</i> Ratte vor und nach Diabetesmanifestation	52
3.3.1	Zeitlicher Verlauf der Blutglucosekonzentration (Hyperglykämie)	52

3.3.2	Zeitlicher Verlauf der Gewichtsveränderungen	54
3.3.3	Zeitlicher Verlauf der Harnmengen (Polyurie)	56
3.3.4	Zeitlicher Verlauf der Trinkmengen (Polydipsie)	57
3.3.5	Zeitlicher Verlauf der Harnglucosekonzentration (Glucosurie)	59
3.3.6	Zeitlicher Verlauf der Harnketonkörper (Ketonurie)	60
3.4	Genetische Untersuchungen der LEW.1AR1- <i>iddm</i> Ratte	62
3.4.1	Generierung einer Rückkreuzungspopulation mit Tieren des BN Stammes	63
3.4.2	Genomweite Kopplungsanalyse mittels Mikrosatellitenmarker	64
3.4.2.1	Zwei Diabetessuszeptibilitätsregionen kartieren auf Chromosom 1	65
3.4.2.2	Eine Diabetessuszeptibilitätsregion kartiert auf Chromosom 20	66
3.4.3	Vergleich der Suszeptibilitätsregionen der LEW.1AR1- <i>iddm</i> Ratte mit homologen Regionen von Mensch und Maus	69
3.4.4	Physikalische Kartierung der eingesetzten Mikrosatelliten mittels Internetdatenbanken	74
3.5	Immunologische Untersuchungen der LEW.1AR1- <i>iddm</i> Ratte	76
3.5.1	Diabetesinduktion durch adoptiven Transfer von ConA stimulierten Lymphozyten	76
3.5.1.1	Effekte ConA stimulierter Lymphozyten auf die Induzierbarkeit des Diabetes mellitus Typ 1 und das Manifestationsalter von LEW.1AR1- <i>iddm</i> und LEW.1AR1 Ratten	76
3.5.1.2	Effekte ConA stimulierter Lymphozyten auf die Induzierbarkeit des Diabetes mellitus Typ 1 und das Manifestationsalter in immundefizienten, athymischen LEW.1AR1- <i>Whn^{mu}</i> Ratten	78
3.5.2	Diabetesentwicklung durch i.p. Applikation von Poly I:C (Polyinositol- Polycytidylsäure) – Effekte auf die Induzierbarkeit des Diabetes mellitus Typ 1 und das Manifestationsalter verschiedener Rattenstämme	78
3.5.2.1	Diabetesinduktion durch Poly I:C beim LEW.1AR1 Stamm	78
3.5.2.2	Diabetesinduktion durch Poly I:C beim LEW.1WR1 Stamm	79
3.6	Analyse der Genexpression von Insulin und iNOS vor und nach Diabetesmanifestation mittels <i>Real Time</i> PCR	79
3.6.1	Veränderung der Genexpression von Insulin während der Diabetesmanifestation ..	80
3.6.2	Veränderung der iNOS Expression während der Diabetesmanifestation	81
4	Diskussion	83

4.1	Vergleich der stoffwechselfysiologischen Parameter des Typ 1 Diabetes mellitus	83
4.2	Die genetische Analyse zeigt neue Diabetessuszeptibilitätsregionen im Genom der LEW.1AR1- <i>iddm</i> Ratte	86
4.2.1	Die <i>Iddm1</i> Region als Suszeptibilitätsregion für den T1DM der LEW.1AR1- <i>iddm</i> Ratte	87
4.2.2	Die <i>Iddm8</i> Region als Suszeptibilitätsregion für den T1DM der LEW.1AR1- <i>iddm</i> Ratte	89
4.2.3	Die <i>Iddm9</i> Region als Suszeptibilitätsregion für den T1DM der LEW.1AR1- <i>iddm</i> Ratte	90
4.3	Immunologische Aspekte der Diabetespathogenese	90
4.3.1	Der adoptive Transfer ConA stimulierter Lymphozyten und dessen Bedeutung bei der Untersuchung des T1DM der LEW.1AR1- <i>iddm</i> Ratte	91
4.3.2	Die Bedeutung der Immunstimulation durch Poly I:C für die Pathogenese des T1DM bei der LEW.1AR1- <i>iddm</i> Ratte und dem LEW.1AR1 Hintergrundstamm	92
4.4	Die Veränderung der Insulin- und iNOS-Genexpression im Verlauf der Diabetesmanifestation bei der LEW.1AR1- <i>iddm</i> Ratte	93
4.4.1	Die Bedeutung der Veränderung der Insulingenexpression bei der Manifestation des T1DM der LEW.1AR1- <i>iddm</i> Ratte	94
4.4.2	Die Bedeutung der Veränderung der iNOS Genexpression bei der Manifestation des T1DM der LEW.1AR1- <i>iddm</i> Ratte	95
4.5	Perspektiven für das LEW.1AR1- <i>iddm</i> Rattenmodell	96
5	Zusammenfassung	98
6	Literaturverzeichnis	100

Anhang

Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
(v/v)	Volumenanteile bezogen auf das Gesamtvolumen
(w/v)	Gewichtsanteile bezogen auf Gesamtvolumen
°C	Grad Celsius
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer
♀	weiblich
♂	männlich
Abb.	Abbildung
ADA	American Diabetes Association
<i>Aire</i>	<i>Autoimmune Regulator Gen</i>
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i>
APC	<i>Antigen Presenting Cells</i>
APS	Autoimmunes polyendokrines Syndrom
AS	Aminosäure
ATP	3' Adenosintriphosphat
AVN	Rattenstamm AVN
BAC	<i>Bacterial Artificial Chromosome</i>
<i>Bak-1</i>	Bcl2 Antagonist Killer-1 Gen
BALB/C	Mausstamm BALB/C
BB	Rattenstamm BioBreeding
BB-DP	Rattenstamm BioBreeding <i>Diabetes Prone</i>
BB-DR	Rattenstamm BioBreeding <i>Diabetes Resistant</i>
BLAST	<i>Basic Local Alignment Search Tool</i>
BN	Rattenstamm Brown Norway
bp	Basenpaar
BSA	bovines Serumalbumin
BZ	Blutglucose

Abkürzungsverzeichnis

bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
<i>Casp7</i>	Caspase7 Gen
CD	<i>Cluster of Differentiation</i>
cDNA	<i>copy</i> -DNA
cM	centi Morgan
cm	Zentimeter
CO ₂	Kohlendioxid
ConA	ConcanavalinA
CpG	Cytosin-Phosphat-Guanin
cRNA	<i>copy</i> -RNA
<i>CTLA4</i>	<i>Cytotoxic T-Lymphocyte Associated 4</i> Gen
CTP	3' Cytosintriphosphat
CTS	Mausstamm Cataract Shionogi
CuZnSOD	kupfer-zinkhaltige Superoxiddismutase
d.h.	das heißt
DNA	<i>Desoxyribonucleic acid</i>
dNTP	2'Desoxynukleotidtriphosphat
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ELISA	<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>
<i>ESR</i>	Östrogenrezeptor Gen
F	Filialgeneration
F1	erste Filialgeneration
FCS	fetales Kälberserum
g	Gramm
GTC	Guanidiniumthiocyanat
GTP	3' Guanintriphosphat
h	Stunden
H/E	Haematoxylin/Eosin

Abkürzungsverzeichnis

H2	H2-Komplex; MHC der Maus
dd-H ₂ O	doppelt destilliertes Wasser
HLA	<i>Human Leukocyte Antigen</i>
HSA	Chromosom (<i>Homo sapiens</i>)
i.p.	intraperitoneal
i.v.	intravenös
I0	Nachkommen eines diabetischen LEW.1AR1- <i>iddm</i> Männchens mit einem gesunden LEW.1AR1- <i>iddm</i> Weibchen
I1	beide Eltern waren diabetische LEW.1AR1- <i>iddm</i> Tiere
IAA	<i>Islet Autoantibody</i>
ICA	<i>Islet Cell Antibody</i>
ICSA	<i>Islet Cell Surface Antibodies</i>
<i>Idd</i>	Diabetessuszeptibilitätsregion der Maus
<i>Iddm</i>	Diabetessuszeptibilitätsregion der Ratte
<i>IDDM</i>	Diabetessuszeptibilitätsregion des Menschen
IDDM	insulinpflichtiger Diabetes mellitus
IFN γ	Interferon-gamma
<i>Ifngr</i>	Interferon γ Rezeptor Gen
IL-1 β	Interleukin 1 beta
iNOS	induzierbare Stickstoffoxid Synthetase
<i>Ins1</i>	Insulin1 Gen
IVC	<i>individual ventilated cage</i>
ICR:Jcl	Mausauszuchtstamm Jcl des Institute of Cancer Research
Kap.	Kapitel
KDP	Rattenstamm Komeda <i>Diabetes Prone</i>
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
KK	Ketonkörper
ko	<i>knockout</i>

Abkürzungsverzeichnis

kPA	kilo Pascal
l	Liter
LETL	Rattenstamm Long-Evans Tokushima Lean
LOD	<i>Logarithm of the odds</i>
<i>Lyp</i>	Lymphopenie induzierendes Gen (Ratte)
mA	Milliampere
MAdCAM-1	<i>mucosal vascular addressin cell adhesion molecule 1</i>
MALT	Mucosa-assoziiertes lymphatisches System
Mb	Megabasen
mbar	Millibar
MHC	<i>Master Histocompatibility Complex</i>
min	Minute
ml	Milliliter
ml/d	Milliliter pro Tag
mM	Millimol
mmol/l	Millimol pro liter
MMU	Chromosom (<i>Mus musculus</i>)
MnSOD	manganenthaltende Superoxiddismutase
MOPS	3-Morpholinpropansulfonsäure
mRNA	<i>messenger-RNA</i>
MW	Mittelwert
n	Anzahl
N2	Rückkreuzungsgeneration 2
Na	Natrium
NCBI	<i>National Center of Biotechnology Institute</i>
NFκB	nukleärer Transkriptionsfaktor kappa B
ng	Nanogramm
NIDDM	nicht insulinpflichtiger Diabetes mellitus
<i>Nkx2-2</i>	Homeobox Gen <i>Nkx2-2</i>

Abkürzungsverzeichnis

<i>Nkx2-3</i>	Homeobox Gen <i>Nkx2-3</i>
NK-Zellen	natürliche Killerzellen
nm	Nanometer
NO	Stickstoffmonoxid
NOD	Mausstamm non-obese diabetic
NON	Mausstamm non-obese nondiabetic
O ₂ ⁻	Superoxidanion
OD	optische Dichte
OGTT	Oraler Glukose Toleranztest
PBS	phosphatgepufferte Salzlösung
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
<i>Pde7b</i>	Phosphodiesterase 7b Gen
Poly I:C	Polyinositol-Polycytidylsäure
ppb	<i>parts per billion</i>
RNA	<i>Ribonucleic acid</i>
RNO	Chromosom (<i>Rattus norvegicus</i>)
ROS	<i>reactive oxygen species</i>
RT	Raumtemperatur
RT6 ⁺	Ribosyl-Transferase, peripheres T-Zell Antigen
<i>RT1</i>	RT1-Komplex; MHC der Ratte
RT-PCR	<i>Real-time PCR</i>
S.	Seite
s.	siehe
SDS	Natriumdodecylsulfat
sec	Sekunde
SEM	<i>Standard error of the mean</i>
Shi	Halterkürzel der Shionogi Laboratorien
SNP	<i>single nucleotide polymorphism</i>
SPF	spezifiziert pathogen-frei

Abkürzungsverzeichnis

SSC	Natrium-Natriumcitrat
SSPE	Natrium-Natriumhydrogenphosphat-EDTA
STZ	Streptozotozin
T1DM	Typ 1 Diabetes mellitus
Tab.	Tabelle
TCR	<i>T-cell receptor</i>
<i>Tctex-1</i>	<i>T-complex testis expressed-1</i> Gen
Th	T-Helferzellen
TNF α (Tnfa)	Tumor Nekrose Faktor alpha
T _{reg}	regulatorische T-Zellen
TUNEL	<i>Terminal Desoxyribosyl Transferase mediated dUTP Nick End Labeling</i>
U	Unit
UTP	3'Uridintriphosphat
V	Volt
VNTR	<i>variable number of tandem repeats</i>
WHO	<i>World Health Organisation</i>
WP	Rattenstamm WP
z.B.	zum Beispiel
Ztm	Halterkürzel des Zentralen Tierlaboratoriums der Medizinischen Hochschule Hannover

1 Einleitung

1.1 Definition und Klassifikation des Diabetes mellitus

Der Diabetes mellitus ist in den westlichen Industrieländern die bedeutendste Stoffwechselerkrankung (Hauner *et al.* 1992), die grundsätzlich in den Typ 1 und Typ 2 Diabetes mellitus aufgeteilt werden kann. Der Typ 1 Diabetes mellitus (T1DM) ist charakterisiert durch eine Autoimmunzerstörung der β -Zellen des Pankreas, die zu einem absoluten Mangel an Insulin führt, während der Typ 2 Diabetes mellitus durch eine Insulinresistenz, isoliert oder in Zusammenhang mit einem Sekretionsdefekt der β -Zellen zu einem relativen Insulinmangel führt (Pickup & Williams 2003).

Bereits 1965 wurde von der Weltgesundheitsorganisation (WHO) eine Empfehlung zur Klassifikation und Diagnostik des Diabetes mellitus gegeben (WHO 1965). Diese wurde 1997 von der Amerikanischen Diabetes-Gesellschaft (ADA 1997) revidiert, und es wurden neue Kriterien zur Klassifikation definiert, die 2000 von der WHO und der Deutschen Diabetes Gesellschaft (Kerner 2001) bestätigt und als Leitlinien übernommen wurden. In Tabelle Tab. 1.1 ist diese neue Klassifikation dargestellt (ADA 1997; Alberti & Zimmet 1998).

1. Typ 1 Diabetes durch absoluten Insulinmangel oder durch β -Zellzerstörung

A. Immunologisch vermittelt

B. Idiopathisch

2. Typ 2 Diabetes kann sich von vorwiegender Insulinresistenz mit relativem Insulinmangel bis zu einem vorwiegend sekretorischen Defekt mit Insulinresistenz erstrecken

3. Andere spezifische Diabetes Typen, z.B. genetische Defekte von β -Zellfunktion oder Insulinwirkung; Erkrankung des exokrinen Pankreas, Endokrinopathien, Medikamenten- oder Chemikalien-induziert, Infektionen, usw.

4. Gestationsdiabetes

Tab. 1.1 Nosologische Klassifikation des Diabetes mellitus nach den ADA Kriterien von 1997 (ADA 1997)

Der Typ 1 Diabetes mellitus macht nach aktuellen Erhebungen 10-15 % (Zimmet *et al.* 2001) aller Diabetesfälle aus, weltweit sind 10-20 Millionen Patienten betroffen. Die Inzidenz des T1DM beträgt in den westlichen Industrieländern ca. 3-5 %. Da 40 % der Patienten vor dem zwanzigsten Lebensjahr erkranken (Lally & Bone 2003), ist der T1DM eine schwere chronische Erkrankung des Kindes- und Jugendalters, der eine lebenslange Insulinsubstitution und strikte Lebensführung erfordert (Joner & Sovik 1989; WHO 1990; Karvonen *et al.* 2000).

1.2 Diabetes mellitus Typ 1 (T1DM)

Der T1DM ist durch die progrediente Zerstörung der insulinproduzierenden β -Zellen in den Langerhansschen Inseln des Pankreas gekennzeichnet. Der Insulinmangel führt zu den klassischen Symptomen Hyperglykämie, Gewichtsverlust, Polydipsie, Polyurie und Ketoazidose (Kerner 2001).

Der T1DM wird durch eine Autoimmunreaktion ausgelöst, welche die insulinproduzierenden β -Zellen des Pankreas zerstört. Der T1DM tritt beim Menschen vom Kindesalter bis zum jungen Erwachsenenalter auf (Bach 1994; Eisenbarth 1996; Benoist & Mathis 1997). T1DM Erkrankungen werden nicht in den ersten sechs Lebensmonaten beobachtet (Hürter & Lange 1997), danach steigt die Inzidenz jedoch kontinuierlich an und erreicht ein kurzes Zwischenplateau im Alter von ca. fünf bis sieben Jahren. Der Inzidenzgipfel des T1DM liegt zu Beginn der Adoleszenz, bei den Mädchen zwischen 12 und 13 Jahren, bei den Jungen ein bis zwei Jahre später (Hürter & Lange 1997).

Da es sich beim T1DM um eine multifaktorielle Erkrankung handelt, wird nicht nur Umweltfaktoren wie Chemikalien, Viren und Nahrungsbestandteilen (Akerblom & Knip 1998; Baldeon 2000; Jun & Yoon 2001) ein Einfluss auf die Diabetesentwicklung zugeschrieben. Ein genetischer Hintergrund wird heute allgemein als Faktor der Diabetesentstehung akzeptiert, wobei insbesondere der MHC-Locus von zentraler Bedeutung ist und auch diagnostische Relevanz besitzt (Nerup *et al.* 1974).

Die Autoimmunzerstörung im T1DM kann in verschiedene Phasen eingeteilt werden, an deren Ende ein kompletter Verlust der β -Zellen des Pankreas steht (Abb. 1.2). Nach einer unauffälligen Phase mit normaler Stoffwechselfunktion kommt es zu so genannten „Triggerereignissen“, welche den Autoimmunprozess einleiten. Diese Ereignisse sind vielfältiger Natur. Es können Ernährungs- und Umweltfaktoren, wie z.B. gluten- und kuhmilchhaltige Nahrungsbestandteile sowie Infektionen (Enteroviren, Coxsackieviren, Rötelviren) eine Rolle spielen (Akerblom & Knip 1998; Baldeon 2000; Jun & Yoon 2001). Diese Triggerereignisse führen zu einer Aktivierung von autoaggressiven Immunzellen, welche die β -Zellen des Pankreas gezielt attackieren. Dabei wird angenommen, dass Umweltfaktoren durch molekulare Mimikry als Superantigene mit β -Zellproteinen interagieren und so die Selektion von autoaggressiven Zellen positiv beeinflussen (Pickup & Williams 2003).

Mit Beginn des Autoimmunprozesses kommt es zu einem progredienten Verlust der β -Zellmasse. In diesem Stadium sind die Patienten mit der Ausnahme von Autoantikörpern gegen β -Zellbestandteile (ICA/IAA), die im Blut nachgewiesen werden können, klinisch unauffällig (Knip 2002; Pickup & Williams 2003). Nach einem Verlust von mehr als 50 % der β -Zellmasse wird eine gestörte Glucosetoleranz beobachtet, nach einer Zerstörung von mehr als 80 % dann auch erhöhte Nüchternblutglucosekonzentrationen (Knip 2002). Erst zu diesem Zeitpunkt werden die meisten Patienten klinisch diagnostiziert, da die ausgeprägte

Hyperglykämie zum typischen diabetischen Syndrom mit Polyurie, Polydipsie, Ketoazidose und allgemeiner körperlicher Schwäche führt. Sind durch die verbleibende β -Zellmasse zum Zeitpunkt der Diagnose noch C-Peptidspiegel im Blut nachweisbar, führt die progrediente Zerstörung der β -Zellen zum kompletten Verlust des körpereigenen Insulins und des C-Peptids. Aus diesem Verlauf heraus wird deutlich, dass zum Zeitpunkt der Diagnose eines T1DM der grösste Teil des Autoimmunprozesses bereits abgelaufen ist und die Chancen therapeutischer Interventionen auf die lebenslange Substitution von Insulin begrenzt sind. Dies erklärt, warum Tiermodelle des T1DM eine herausragende Bedeutung für die Charakterisierung der Autoimmunzerstörung haben. Diese Modelle haben wesentlich zum Verständnis der immunologischen Phänomene und der Toxizität von Zytokinen als humorale Immunmediatoren beigetragen.

Die Zerstörung der β -Zellen des Pankreas wird durch zelluläre Elemente des Immunsystems sowie durch proinflammatorische Zytokine vermittelt, die eine zur Apoptose der β -Zellen führende Signalkaskade, bestehend aus Caspasen und anderen proapoptotischen Enzymen, auslösen (Bach 1994; Mandrup-Poulsen 2001). Als Konsensmodell der β -Zellzerstörung hat sich das am Steno Diabetes Center (Gentofte, Dänemark) entwickelte „Kopenhagener“ Modell etabliert (Abb. 1.1), das das Zusammenspiel von zellulären und humoralen Immunmediatoren bei der β -Zellzerstörung beschreibt (Nerup *et al.* 1994). Die Autoimmunzerstörung der β -Zelle beginnt mit einer initialen Attacke der Immunzellen, die zu einer Freisetzung von β -Zellproteinen führt. Diese Proteinfreisetzung kann z.B. direkt durch Viren und Chemikalien, sowie indirekt durch Nahrungsbestandteile oder Zytokine initialisiert werden. In diesem Zusammenhang spielt die genetische Prädisposition der Patienten eine wichtige Rolle (Hürter & Lange 1997).

Die freigesetzten β -Zellproteine werden von Makrophagen, Monozyten oder dendritischen Zellen aufgenommen und als Antigen präsentiert (so genannte antigenpräsentierende Zellen, APC). Diese Immunzellen führen zu einer Aktivierung von β -zellspezifischen, autoaggressiven Zellen. An diesem Prozess sind proinflammatorische Zytokine und Chemokine wesentlich beteiligt. In der nächsten Phase kommt es durch die Verstärkung der Immunmechanismen zur progredienten Zerstörung der β -Zellen. Die Präsentation der β -Zellantigene führt zu einer Aktivierung spezifischer T-Helfer-Zellen (Th), die das Antigen über MHC-Klasse II Moleküle präsentieren. Auch die T-Helferzellen sezernieren Zytokine, die zum einen die Zytokinproduktion der anderen antigenpräsentierenden Zellen weiter anregen; zum anderen führt diese hohe Konzentration von Zytokinen zur Produktion von freien Radikalen wie Stickstoffmonoxid (NO), das durch das Enzym (induzierbare) Nitroxidsynthase (iNOS) synthetisiert wird, und Superoxidanionen (O_2^-) in den β -Zellen des Pankreas. Dieser *Circulus vitiosus* aus Antigenfreisetzung und Antigenpräsentation verstärkt sich selbst, wird jedoch durch die β -Zellmasse letztlich limitiert. Die freigesetzten Zytokine initiieren apoptotische und nekrotische Signalwege, die zur Zerstörung der β -Zellen führen.

Das Ergebnis dieses Prozesses sind Langerhanssche Inseln, die keine β -Zellen mehr enthalten und als so genannte „*End-Stage Islets*“ bezeichnet werden. (Nerup *et al.* 1994)

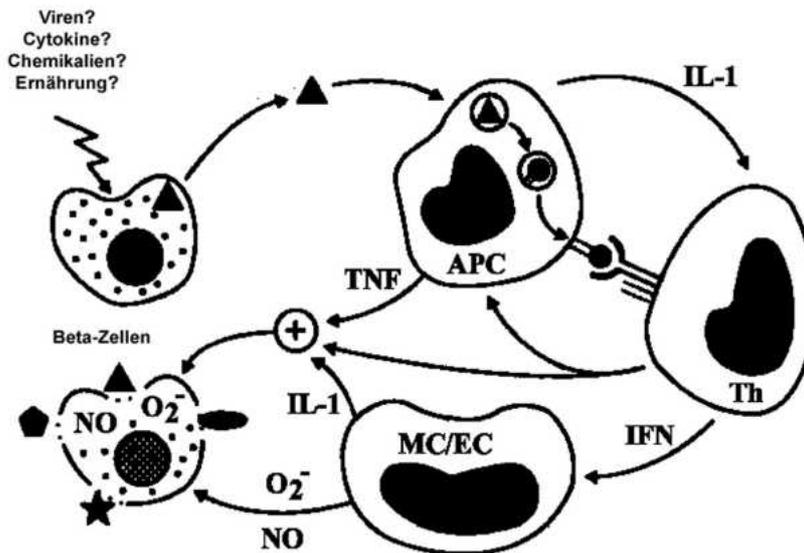


Abb. 1.1 Das Kopenhagenmodell nach Nerup *et al.* (1994) zeigt schematisch die Zerstörung der β -Zellen durch Autoimmunprozesse.

Eine genetische Prädisposition kombiniert mit exogenen Triggern wie Infektionen oder Nahrungsbestandteilen führt zu einer Schädigung der β -Zelle und zur Initiierung der β -Zellerstörung. Die dabei freigesetzten β -zellspezifischen Proteine werden durch Antigen-präsentierende Zellen (APCs) aufgenommen, prozessiert und präsentiert.

In einer zweiten Phase (Verstärkungsphase) werden durch die aktivierten APCs Zytokine (IL-1 β , TNF- α) sezerniert. Gleichzeitig werden die von APCs präsentierte Antigene durch spezifische T-Helferzellen (Th) erkannt. Die Aktivierung der T-Helferzellen stimuliert die Sekretion von Zytokinen, von denen insbesondere das IFN- γ die Expression von MHC II-Molekülen induziert. Zusätzlich wird die Sekretion von IL-1 β und TNF- α durch die APCs in einer IFN- γ -bedingten Feedback-Stimulierung verstärkt. Als Folge der hohen lokalen Konzentrationen der Zytokine IL-1 β , TNF- α und IFN- γ wird die Zerstörung von β -Zellen des Pankreas durch die Freisetzung von Sauerstoffradikalen und NO aus Makrophagen (MC), Endothelzellen (EC) und β -Zellen des Pankreas potenziert. Das Ergebnis dieser Vorgänge ist die Selbstverstärkung des eingeleiteten Autoimmunprozesses bis zur völligen Zerstörung der insulinproduzierenden Zellen.

Ein Grossteil der hier dargestellten Fakten basiert auf der Untersuchung von Tiermodellen, die induziert oder spontan einen T1DM entwickeln. Vor allem Untersuchungen über den Verlauf der prädiabetischen Phase, in der noch keinerlei klinische Symptome auftreten (Abb. 1.2), wurden an spontan-diabetischen Tiermodellen vorgenommen. Diese ermöglichen in einem hochstandardisierten Kollektiv die Durchführung von Versuchen, die aus ethischen Gründen am menschlichen Organismus nicht möglich wären. Ein weiterer Vorteil der Tiermodelle ist der definierte genetische Hintergrund, der vor allem bei den Nagetiermodellen durch lange Zeit der selektiven Inzucht entstand.

Im Weiteren sollen verschiedene Tiermodelle des T1DM kurz vorgestellt werden. Der Schwerpunkt wird auf den spontan-diabetischen Nagetiermodellen liegen.

Stadien der Diabetesentwicklung

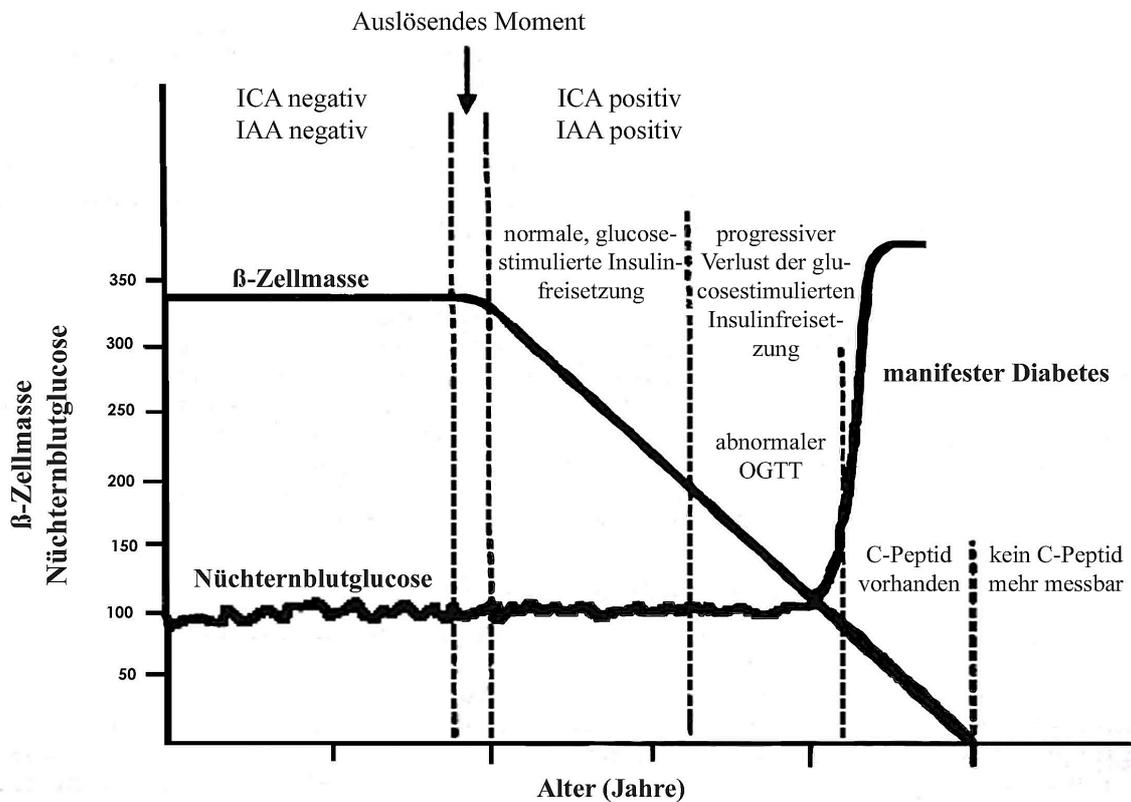


Abb. 1.2 Stadien der Diabetesentwicklung.

Hypothetische Darstellung des natürlichen Krankheitsverlaufs des Autoimmundiabetes. Menschen mit genetischer Suszeptibilität zeigen zu Beginn ihres Lebens keinerlei Auffälligkeiten. Ein auslösendes Moment (z.B. Virusinfektion) verursacht eine minimale Zerstörung der β -Zelle, es entsteht eine Autoimmunität. Dies spiegelt auch durch positive Resultate für Tests auf die Autoantikörper ICA und IAA wieder. Obwohl die β -Zellmasse abnimmt, ist die funktionelle Reserve mehr als ausreichend, um normale Blutglucosekonzentrationen zu erhalten. Weitere Schädigungen resultieren in einem Stadium, das einen abnormalen oralen Glucose Toleranztest (OGTT) zeigt. Geht die Zerstörung der β -Zellen weiter, werden die Nüchternblutglucosekonzentrationen erhöht sein, ohne jedoch weitere Symptome auszulösen. Streng genommen handelt es sich in diesem, nur sehr kurzzeitigen Stadium um einen nicht insulinpflichtigen Diabetes mellitus (NIDDM). Anschliessend manifestieren sich die klassischen Symptome des IDDM (T1DM) mit Hyperglykämie, Glucosurie und Ketonurie, die in einer ketoazidotischen Stoffwechsellaage enden, wenn keine Insulinbehandlung erfolgt. Bei der Manifestation dieser nun offensichtlichen Phase des Typ 1 Diabetes mellitus ist noch C-Peptid nachweisbar. Dies ist ein Indiz für noch vitale β -Zellen. Letztendlich werden alle β -Zellen zerstört, und keine C-Peptidspiegel mehr messbar sein (modifiziert nach Eisenbarth 1986).

1.3 Tiermodelle des Diabetes mellitus Typ 1

Eine mögliche Unterteilung der Tiermodelle des T1DM erfolgt durch die Einteilung in spontan-diabetische und induzierte Diabetesmodelle. Induzierte Diabetesmodelle entstehen durch die Gabe von diabetogenen Substanzen wie Streptozotocin (STZ) oder Alloxan, die die insulinproduzierenden β -Zellen zerstören und eine Hyperglykämie, verbunden mit anderen charakteristischen Diabetessymptomen, auslösen.

Spontan-diabetische Tiermodelle haben den Vorteil, dass sie der Situation im Menschen ähnlicher sind, da der Mensch auch nur spontan an T1DM erkrankt. Spontan-diabetische Tiermodelle gibt es in den verschiedensten Tierarten. So finden sich spontan-diabetische Hunde wie der Keeshond Hund (Kramer *et al.* 1980), verschiedene Meerschweinchenkolonien (Munger & Lang 1973), das New-Zealand White Kaninchen (Conaway *et al.* 1980) oder der Chinese Hamster (Meier & Yerganian 1959).

In der Forschung haben sich jedoch vor allem drei Nagetiermodelle durchgesetzt. Diese sind die NOD Maus (Tochino 1987), die BB Ratte (Nakhoda *et al.* 1977) und die KDP Ratte (Komeda *et al.* 1998), eine Sublinie der Long-Evans Tokushima Lean (LETL) Ratte. Vorteile der Nagetiere liegen in der sehr kurzen Generationenfolge und damit in der Möglichkeit, selektive Züchtungsprogramme durchzuführen, der kostengünstigen und Platz sparenden Haltungsmöglichkeit, sowie der Tatsache, dass die Zucht bei Maus und Ratte nicht jahreszeitlichen Abhängigkeiten unterliegt.

Erst am Anfang der Entwicklung als spontan-diabetisches Tiermodell stehen diverse transgene Mausmodelle, in denen β -zellspezifische T-Zellrezeptoren und Antigene den Autoimmunprozess experimentell induzieren (Christen & von Herrath 2002).

Ein neues Tiermodell des T1DM, die LEW.1AR1-*iddm* Ratte, wird in der vorliegenden Dissertation vorgestellt.

Durch die spontan-diabetischen Nagetiermodelle konnte die Bedeutung des genetischen Hintergrunds und die Immunologie der β -Zellzerstörung sehr detailliert aufgeklärt werden. Keines der oben erwähnten Tiermodelle entspricht jedoch exakt der Situation beim T1DM des Menschen. Dies gilt insbesondere für den Funktions- und Aktivitätszustand des zellulären Immunsystems, der in der NOD Maus und der BB Ratte aufgrund genetischer Defekte deutlich reduziert ist.

Im Folgenden werden die wichtigsten Tiermodelle des T1DM eingehender vorgestellt und besonders im Bezug auf den genetischen Hintergrund und den Zustand der Autoimmunität beschrieben. Gleichzeitig wird die humane Situation vergleichend dargestellt.

1.3.1 Die NOD Maus

Untersuchungen der NOD Maus als Tiermodell für den Typ 1 Diabetes mellitus haben zu vielen Erkenntnissen über die Genetik des T1DM geführt.

Die NOD Maus stammt ursprünglich aus dem CTS (Cataract Shionogi) Stamm der Shionogi Research Laboratorien in Japan, der in den siebziger Jahren des letzten Jahrhunderts aus dem Auszuchtstamm Jcl:ICR ingezüchtet wurde (Ikegami & Makino 2001). Es erfolgte hierbei eine gezielte Selektion auf die Manifestation eines Katarakts bei den Tieren. In der 6. Generation (F6) wurden dann Tiere selektiert, die eine hohe Nüchternblutglucose und kein Katarakt zeigten. Diese wurden dann gezielt auf den diabetischen Phänotyp hin gezüchtet. In der 13. Inzuchtgeneration (F13) dieses auf hohe Nüchternblutglucose hin selektierten Stammes (NON/Shi) wurden Tiere mit normalen Nüchternblutglucosekonzentrationen isoliert und weiter ingezüchtet. In der 20. Inzuchtgeneration wurde bei einem Tier ein spontaner Diabetes mellitus Typ 1 festgestellt. Die Nachkommen dieses diabetischen Tieres wurden als *non-obese diabetic* Mausstamm (NOD Maus) bezeichnet und weiter selektiv auf die Diabeteserkrankung hin ingezüchtet (Ikegami & Makino 2001).

NOD Mäuse entwickeln spontan ab der 4. Lebenswoche einen Diabetes mellitus, mit einer ansteigenden, kumulativen Inzidenz von 60 – 90 % bis zur 30. Lebenswoche. Es erkranken dabei 70 % der weiblichen Tiere, jedoch nur 30 % der männlichen Tiere, so dass eine genetisch bedingte Geschlechtspräferenz vorliegt (Makino *et al.* 1980). Bei 20 Wochen alten Tieren findet sich bei bis zu 100 % der Tiere beiderlei Geschlechts eine ausgeprägte Insulitis (Makino *et al.* 1985). Diese kann, muss jedoch nicht, später zu einem manifesten Diabetes führen (Fujita 1982). So entwickelt sich die Insulitis bei den meisten männlichen Tieren nicht zu einer β -Zellzerstörung und zum Diabetes (Kolb 1987; Tochino 1987). Hieraus entstand der Begriff der „benignen Insulitis“, bei der die Pankreasinseln zwar durch Monozyten, B- und T-Lymphozyten sowie NK-Zellen infiltriert sind, diese Immunzellen die β -Zellen des Pankreas jedoch nicht zerstören. Dabei sind die Immunzellen zumeist in der Peripherie der Insel lokalisiert (Peri-Insulitis). Mit der Progression der Insulitis kommt es insbesondere bei den weiblichen NOD Mäusen zu einer β -Zellzerstörung, von der kumulativ 80 % der Tiere betroffen sind.

Die lymphozytären Infiltrationen sind bei der NOD Maus nicht nur auf die Pankreasinsel beschränkt, sondern finden sich auch in der Schilddrüse, den Speichel- und Tränendrüsen, sowie in seltenen Fällen in der Niere, der Muskulatur und neuralen Geweben (Makino *et al.* 1980; Ikegami & Makino 2001).

NOD Mäuse zeigen angeborene Defekte des Immunsystems, die eine Verlagerung von potentiell autoreaktiven T-Lymphozyten in die Peripherie und somit auch in die Pankreasinsel fördern. Insbesondere eine Störung der antigenpräsentierenden Zellen wurde für eine funktionsgestörte Toleranzentwicklung verantwortlich gemacht. Darüber hinaus wurden auch

Funktionsdefekte der T-Lymphozyten gefunden, wobei apoptotische Signalwege in diesen Zellen eingeschränkt sind (Kishimoto & Sprent 2001).

Diabetische NOD Mäuse können zum Teil, wahrscheinlich bedingt durch die langsame Progredienz der β -Zellzerstörung, über einen Zeitraum von bis zu mehreren Monaten ohne Insulinsubstitution überleben. Die Tiere entwickeln während der Diabetesentstehung Autoantikörper gegen Inselzellen (ICA) und gegen Oberflächenantigene von Inselzellen (ICSA) (Pontesilli *et al.* 1987). T-Lymphozyten spielen eine zentrale Rolle bei der β -Zellzerstörung, da nicht diabetische Tiere nach adoptivem Transfer von Milzzellen diabetischer Tiere ebenfalls an einem Diabetes mellitus erkranken. Zudem kann durch Thymektomie in der Neonatalperiode der Ausbruch der Krankheit verhindert werden (Ogawa 1985).

1.3.2 Die BB Ratte

Alle existierenden BB Rattenkolonien haben ihren Ursprung in einer Wistar Auszucht Kolonie der BioBreeding Laboratorien in Ottawa/Kanada. Das erste diabetische Tier wurde 1974 entdeckt. Mit diesem Tier wurde die erste BB-Sublinie entwickelt, die spontan an T1DM erkrankt (Nakhoda *et al.* 1977). Die Diabetesfrequenz lag zu Anfang bei ca. 10 % und konnte bis heute durch gezielte Selektion auf über 90 % in einigen Kolonien erhöht werden (Ramanathan & Poussier 2001).

Die BB Ratten können in diabetessuszeptible (BB-DP) und diabetesresistente (BB-DR) Substämme unterteilt werden (Butler *et al.* 1990). Diese Tiere unterscheiden sich nicht nur in der Diabetessuszeptibilität, sondern auch in weiteren genetischen Merkmalen. Somit ist BB-DR nur bedingt als Kontrollstamm zu BB-DP geeignet. Die vielen Substämme entstanden durch die Inzucht der Tiere an unterschiedlichen Laboratorien, die zu genetisch verschiedenen, jedoch immer noch verwandten Tieren führte. In einer Studie mit 11 verschiedenen BB Rattenkolonien wurden über 20 verschiedene BB Rattenstämme beschrieben (Eisenbarth 1996). Diese Substämme liessen sich in vier Gruppen einteilen, wobei die Zuordnung über Proteinmarker erfolgte (Prins 2001). Hieraus resultiert die hohe genetische Variabilität des BB Rattenmodells, welche die Identifizierung von Diabetessuszeptibilitätsloci im Vergleich zu einem syngenem System erschwert.

Die Diabetesmanifestation der BB Ratte verläuft spontan zwischen dem 60. und 100. Lebensstag (Crisa *et al.* 1992). Die Hyperglykämie ist begleitet von Ketonurie, Hypoinsulinämie und Gewichtsverlust (Nakhoda *et al.* 1977). Die Insulinsekretion der Tiere ist bei Glucosebelastung bis etwa 10 Tage vor Diabetesmanifestation normal, dann fällt die Sekretionsantwort in demselben Masse ab, wie die β -Zellmasse abnimmt (Teruya *et al.* 1993). Im Gegensatz zur NOD Maus gibt es keine geschlechtsspezifischen Unterschiede in der Diabetesinzidenz der BB Ratte (Nakhoda *et al.* 1977). Zum Zeitpunkt der Diabetesmanifestation der BB Ratte sind mononukleäre Infiltrationen innerhalb der Langerhansschen Inseln sowie im periinsulären Bereich vorhanden (Nakhoda *et al.* 1977; Crisa *et al.* 1992). Die ersten Infiltrationen (Insulitis) lassen sich zwei bis drei Wochen vor Diabetesmanifestation bei den Tieren beobachten. Danach verläuft die Zerstörung progredient und in „chronisch“ diabetischen Tieren existieren nur noch β -zellfreie „End Stage“ Inseln, die kaum oder keine Immunzellen mehr enthalten. Im Gegensatz zu den β -Zellen bleiben die α - und δ -Zellen sowie die Zellen des Pankreaskopfes, die Pankreatisches Polypeptid synthetisieren, morphologisch intakt (Mordes *et al.* 2001). Die Immunzellsubpopulationen, die an den verschiedenen Stadien der Insulitis beteiligt sind, wurden eingehend untersucht (Crisa *et al.* 1992). Unter den ersten infiltrierenden Immunzellen befinden sich insbesondere Makrophagen (Hanenberg *et al.* 1989). Die β -Zellen werden dann von $CD4^+$ und $CD8^+$ T-Lymphozyten, NK Zellen und zum Schluss, in einem geringeren Ausmass, von B-Zellen infiltriert. Daraus resultiert schliesslich das Vollbild des T1DM (Mordes *et al.* 2001). Die

Tiere zeigen zusätzlich zu den Infiltrationen des Pankreas auch Infiltrationen in der Schilddrüse, die jedoch nicht zu einer Thyreoditis führen (Mooij *et al.* 1993; Reimers *et al.* 1996; Mori *et al.* 1998).

Trotz der verschiedenen Substämme exprimieren alle der spontan diabetischen BB Ratten den MHC RT1^u Haplotyp, entwickeln eine Insulitis mit selektiver β -Zellzerstörung und besitzen das Merkmal einer ausgeprägten, angeborenen Lymphopenie (Mordes *et al.* 2001). Ursächlich für das fast völlige Fehlen der RT6⁺ T Zellen im peripheren Blut ist das *Lyp* Gen, das als Mutation im *Ian5/Ian4l1* Locus (*Ian* = *Immune associated Nucleotide*) identifiziert wurde (Mojcik *et al.* 1988; Hosszufalusi *et al.* 1993; Hornum *et al.* 2002; MacMurray *et al.* 2002). Die Lymphopenie ist obligat für die Diabetesmanifestation der BB Ratte (Guttmann *et al.* 1983; Jackson *et al.* 1984; Klötting *et al.* 1995), und stellt einen wesentlichen Unterschied zum humanen T1DM dar (Klötting *et al.* 1997).

1.3.3 Die KDP Ratte

Im Jahr 1983 wurden im Tokushima Research Institute in Japan spontan-diabetische Ratten in einem Long-Evans Auszuchtstamm entdeckt, der ein Jahr zuvor von Charles River, Kanada erworben worden war (Kawano *et al.* 1991).

Diabetische Nachkommen von Tieren dieser Kolonie wurden ingezüchtet und als LETL Stamm bezeichnet. Es wurde hierbei eine Diabetesinzidenz von etwa 30 % erreicht (Kawano *et al.* 1991). Der gleichzeitig als Kontrollstamm angelegte LETO Stamm zeigte innerhalb von 20 Generationen keine Diabeteserkrankung (Kawano *et al.* 1991). Die Eignung des LETO Stammes als Kontrollstamm ist jedoch aufgrund der genetischen Heterogenität der beiden Stämme fraglich. Die Diabetesfrequenz der LETL Ratte wurde durch selektive Inzucht erhöht (Komeda *et al.* 1998). Der hieraus entstandene neue Stamm wurde als Komeda Diabetes-Prone (KDP) bezeichnet (Yokoi *et al.* 1997; Komeda *et al.* 1998). Da die Tiere nur am Tokushima Research Institute gezüchtet wurden, entstanden keine Substämme, wie sie für die BB Ratte charakteristisch sind.

Der Diabetes der KDP Ratte manifestiert sich spontan in einem Alter zwischen 100. und 120. Tagen. Die kumulative Häufigkeit für den T1DM liegt bei 70 % in einem Alter von 120 Tagen und steigt in einem Alter von 220 Tagen auf 82 % (Yokoi *et al.* 1997). Obwohl nicht alle KDP Ratten an einem T1DM erkranken, entwickeln alle Tiere eine moderate bis schwere Insulinitis. Diabetische Tiere zeigen eine ausgeprägte Hyperglykämie, Polyurie, Polyphagie, Hypoinsulinämie und Gewichtsverlust. Bezüglich der Inzidenz wurden keine Unterschiede zwischen den Geschlechtern gefunden (Kawano *et al.* 1991). Auch bei der KDP Ratte führen lymphozytäre Infiltrationen in den Inseln des Pankreas zur Zerstörung der β -Zellen und zur Diabetesmanifestation. Nach dem Diabetesbeginn und dem damit verbundenen Auftreten der Hyperglykämie sind keine Lymphozyten in den Inseln mehr feststellbar. Extrapankreatische lymphozytäre Infiltrationen zeigen sich in Speichel- und Tränendrüsen (Kawano *et al.* 1991).

1.4 Die Genetik des Diabetes mellitus Typ 1

Schon lange ist bekannt, dass die Suszeptibilität für die Erkrankung Diabetes mellitus Typ 1 erblich ist. Bei der Manifestation eines humanen T1DM beeinflusst die genetische Suszeptibilität die Entwicklung zu etwa einem Drittel. So liegt die Inzidenz bei eineiigen Zwillingen bei 36 % (Risch 1987; Olmos *et al.* 1988), fällt auf ca. 5 % bei Geschwistern (Degnbol & Green 1978), und liegt bei der kaukasischen Gesamtbevölkerung bei 0,4 % (Krolewski *et al.* 1987). Beim Menschen sind bis heute über 20 *IDDM* Gene identifiziert worden und auch bei den Maus- und Rattenmodellen für den T1DM gibt es eine genetische Komponente. So sind bis jetzt mehr als 25 *Idd* Gene bei der NOD Maus, zwei *Iddm* Gene bei der KDP Ratte und 10 *Iddm* Gene bei der BB Ratte gefunden worden. Der T1DM ist somit eine multifaktorielle Erkrankung, die polygen vererbt wird.

Nur wenige der menschlichen Suszeptibilitätsregionen sind homolog zu Regionen in den gängigen Nagetiermodellen. Jedoch spielt in den Tiermodellen wie auch beim Menschen der MHC die zentrale Rolle bei der Vermittlung der Suszeptibilität für den T1DM. Die Suszeptibilitätsregion *IDDM12* des Menschen mit dem assoziierten Gen *CTLA4* ist homolog zum Suszeptibilitätsbereich *Idd5* der Maus. Zwischen dem Menschen und den beiden Rattenmodellen fanden sich bis jetzt keine homologen Suszeptibilitätsregionen ausserhalb der MHC Region.

1.4.1 Die *IDDM* Gene des Menschen und ihre Lokalisation

Im Genom des Menschen gibt es über 20 *IDDM* Gene (Tab. 1.2), die alle mit der Krankheit assoziiert sind. Grösstenteils spielen sie bei der Manifestation aber nur eine untergeordnete Rolle (Pickup & Williams 2003). Die stärkste Assoziation zum T1DM des Menschen findet sich im Suszeptibilitätslocus *IDDM1*, der in die MHC-Region (Haupthistokompatibilitätskomplex) kartiert. Dieser Bereich befindet sich auf Chromosom (HSA) 6 in der Region p21.3. Die MHC Region, auch bezeichnet als HLA (Human Leukocyte Antigen) kodiert für eine Reihe von Zelloberflächenantigenen, die die Antigenpräsentation übernehmen. Der HLA des Menschen wird bei der Ratte als RT1 Komplex und bei der Maus als H2 bezeichnet. Der MHC umfasst eine Region von ca. 4000 kb, besitzt mindestens 220 Gene (Hurt *et al.* 2004) und wird in drei Klassen unterteilt, wobei die Klasse I Region von Maus und Ratte geteilt ist und den MHC einrahmt. Als Ursache für diese Teilung werden z.B. eine Translokation und/oder Duplikation eines Klasse I Segments in der Entwicklungsgeschichte der Nagetiere diskutiert (Klein & Figueroa 1986). Funktionell gesehen ist die MHC Klasse I für die endogene Peptidpräsentation gegenüber CD8⁺ T-Zellen verantwortlich. Die biologische Hauptfunktion der MHC Klasse II liegt in der Antigenpräsentation gegenüber CD4⁺ T-Zellen. Es werden jedoch auch hier weiterhin neue Gene entdeckt und beschrieben, die oftmals keine direkte Funktion bei der Antigenerkennung haben. Ein Grossteil dieser Gene ist in der MHC Klasse III lokalisiert.

Die Assoziation zwischen dem MHC und dem T1DM ist durch die vielen Haplotypen, die das Krankheitsrisiko beeinflussen, sehr komplex. Die grösste Assoziation findet sich beim Menschen in der MHC Klasse II Region mit den MHC Haplotypen HLA-DRB1*03.DQ2 und 04.DQ8 (Herr *et al.* 2000). Einen protektiven Einfluss im Bezug auf eine Manifestation des T1DM beim Menschen besitzt wahrscheinlich der HLA-DQ6 Haplotyp. Es wird diskutiert, ob dieser Haplotyp zu einer Deletion von autoreaktiven T-Zellen oder zu einem veränderten Aktivierungsgrad der T-Zellen führt, so dass eine Autoimmunreaktion verhindert wird (Thorsby & Ronningen 1992; Sanjeevi 2000).

Die strukturellen Unterschiede zwischen den permissiven und protektiven MHC Molekülen resultieren aus Unterschieden in der Antigenpeptidselektivität, der Bindungsaffinität und der Stabilität des HLA Moleküls auf der Zelloberfläche.

Da die Autoimmunprozesse, die zum T1DM führen, hochspezifisch für die β -Zellen sind, ist auch das Insulingen (*INS*) ein interessanter Kandidat für ein Diabetessuszeptibilitäts-gen, da Insulin und seine Vorläufer als Autoantigene fungieren können. Beeinflusst wird die Autoimmunität auch durch die Aktivität der β -Zellen, gemessen in der freigesetzten Menge an Insulin, da die Menge des dem Immunsystem präsentierten Antigens (in diesem Fall Insulin) eine wichtige Rolle spielt.

Der predisponierende Polymorphismus der *INS* Region des Menschen (*IDDM2*) ist ein Minisatellit mit einer variablen Anzahl von *Tandem Repeats* 596 bp oberhalb des Translationsstartes des Insulingens. Die Anzahl dieser *Tandem Repeats* nimmt Einfluss auf die Suszeptibilität zur Erkrankung. Eine geringe Wiederholungszahl zwischen 28 und 44 ist assoziiert mit einem erhöhten Risiko für die Manifestation eines T1DM, während eine grosse Wiederholungszahl zwischen 138 und 159 einen dominanten Schutz ausübt (Bennett *et al.* 1995; Bennett *et al.* 1996; Vafiadis *et al.* 1997; Stead *et al.* 2000). Der *IDDM2* Locus zeigt einen Einfluss von 10 % bei familiärer Häufung auf die Entwicklung eines T1DM zu haben (Davies *et al.* 1994). Wie genau der *INS* Polymorphismus das Erkrankungsrisiko beeinflusst, ist jedoch unklar.

Markername	Chromosomale Lokalisation	Assoziierter Marker/Gene
<i>IDDM1</i>	6p21	<i>HLA - DQB</i>
<i>IDDM2</i>	11p15	<i>INS - VNTR</i>
<i>IDDM3</i>	15q26	<i>D15S107</i>
<i>IDDM4</i>	11q13	<i>FGF3</i>
<i>IDDM5</i>	6q25	<i>ESR1</i>
<i>IDDM6</i>	18q21	<i>D18S64</i>
<i>IDDM7</i>	2q31	<i>D2S152</i>
<i>IDDM8</i>	6q27	<i>D6S264</i>
<i>IDDM9</i>	3q21 – q25	<i>D3S1576</i>
<i>IDDM10</i>	10p13 – q11	<i>D10S193</i>
<i>IDDM11</i>	14q24 – q31	<i>D14S67</i>
<i>IDDM12</i>	2q33	<i>CTLA4</i>
<i>IDDM13</i>	2q34	<i>D2S301</i>
<i>IDDM14</i>	nicht vergeben	
<i>IDDM15</i>	6q21	<i>D6S283</i>
<i>IDDM16</i>	nicht vergeben	
<i>IDDM17</i>	10q25	<i>CASP7</i> (Babu <i>et al.</i> 2003)
<i>IDDM18</i>	5q33 – 34	<i>IL12B</i>
-	14q12 – q21	<i>D14S70 – 76</i>
-	16q22 – q24	<i>D16S515 – 520</i>
-	19p13	<i>D19S247 – 226</i>
-	19q13	<i>D19S225</i>
-	1q	<i>DIS1644 – AGT</i>
-	Xp13 – p11	<i>DX1068</i>

Tab. 1.2 *IDDM* Gene des humanen Genoms und ihre Lokalisation.

Die *IDDM* Suszeptibilitätsgene sind nur teilweise mit Kandidatengenomen assoziiert. Zumeist sind es Mikrosatellitenmarker, die in den jeweiligen Suszeptibilitätsregionen kartieren (Davies *et al.* 1994; Concannon *et al.* 1998; Mein *et al.* 1998).

1.4.2 Die *Idd* Gene der Maus und ihre Lokalisation

Die NOD Maus zählt zu den genetisch am besten untersuchten Tiermodellen des Diabetes mellitus. Genetische Analysen der NOD Maus haben gezeigt, dass die Diabeteserkrankung mit vielen, rezessiven Loci inklusive des H2 Locus, der dem menschlichen MHC entspricht, assoziiert ist. Die NOD Maus besitzt den einzigartigen MHC Haplotyp H2^{g7} ($H2^{g7} = K^d, A\alpha^d, Ab^{g7}, E\alpha^d, Eb^{null}, D^b$) (Kikutani & Makino 1992). Die NOD Maus wird als eine *Eb^{null}*-Mutante bezeichnet. Das *H2Eb^{null}* Allel ist homolog zum humanen *HLA-DRB* Allel, welches als Kandidat für die Vermittlung einer Diabetessuszeptibilität beim Menschen gilt (s. Kap. 1.4.1). Aufgrund der Nullmutation in der MHC Klasse II zeigt die NOD Maus einige auffällige Immunphänotypen wie eine veränderte Antigenpräsentation, Fehler in der Regulation des T Lymphozytenrepertoires und eine Funktionsstörung der NK Zellpopulation (Serreze 1993). Ausserdem fehlt den Tieren das hämolytische Komplement C5 (Baxter & Cooke 1993).

Kopplungsanalysen mittels Mikrosatellitenmarker konnten bislang 28 Diabetes-suszeptibilitätsloci identifizieren, die in Tab. 1.3 zusammengefasst sind und als *Idd*-Loci bezeichnet werden. Die Suszeptibilitätsloci sind über das gesamte Genom der Maus verteilt, und bis jetzt nur selten mit einem funktionellen Gen assoziiert. Gene, die als Kandidatengene diskutiert werden, spielen zumeist eine entscheidende Rolle für die Funktion von Immunzellen oder bei der Initiierung und Ausführung des apoptotischen Zelltodes. Dies sind z.B. der MHC Locus (*Idd1*, *Idd16*), T-Lymphozytenmarker (*Idd2*), Zytokine (*Idd3*, *Idd13*), apoptoseassoziierte Strukturen (*Idd5*) und NK-Zellmarker (*Idd6*). Wie die Bezeichnung Kandidatengene aussagt, konnten die vermuteten Gene bislang nicht in einer pathogenetischen Kausalkette der Diabetesentstehung der NOD Maus zugeordnet werden. Einige Suszeptibilitätsloci wie *Idd 9.1* bis *9.3* oder *Idd 14* und *15* sind synten, d.h., sie sind auf einem Chromosom kartiert, ihre genaue Lokalisation ist jedoch unbekannt.

Idd Locus	Chromosom (MMU, cM)	Kandidatengene	Referenz
<i>Idd1</i>	17, 19.5cM	MHC Klasse I und II; <i>hsp70</i> ; <i>bat5</i> ; <i>tnfa</i> ; <i>tnfb</i> ; <i>tap1</i> ; <i>tap2</i>	(Prochazka 1986; Wicker <i>et al.</i> 1995)
<i>Idd2</i>	9, 22.0cM	<i>thyl</i>	(Prochazka 1986; McAleer <i>et al.</i> 1995; Wicker <i>et al.</i> 1995)
<i>Idd3</i>	3, 19.2cM	<i>il2</i> ; <i>fgf2</i> ; <i>il21</i>	(Prochazka <i>et al.</i> 1987; Podolin <i>et al.</i> 1997; Hill <i>et al.</i> 2000; Lyons <i>et al.</i> 2000)
<i>Idd4</i>	11, 46.0cM		(Todd <i>et al.</i> 1991)
<i>Idd5</i>	1, 40cM	<i>ctla4</i>	(Cornall <i>et al.</i> 1991)
<i>Idd5a(1)</i>	1, synten	<i>casp8</i> ; <i>flip</i> ; <i>cd28</i> ; <i>cd152</i> ; <i>icos</i>	(Hill <i>et al.</i> 2000; Lamhamedi-Cherradi <i>et al.</i> 2001)
<i>Idd5b(2)</i>	1, synten	<i>nramp1</i> ; <i>cxcr2</i>	(Hill <i>et al.</i> 2000; Lamhamedi-Cherradi <i>et al.</i> 2001)
<i>Idd6</i>	6, 73.0cM	NK-Komplex	(Ghosh <i>et al.</i> 1993; Brown <i>et al.</i> 1997)
<i>Idd7</i>	7, 4.0cM		(Ghosh <i>et al.</i> 1993)
<i>Idd8</i>	14, 3.5cM		(Ghosh <i>et al.</i> 1993)
<i>Idd9</i>	4, 82.0cM		(Eaves <i>et al.</i> 2002)
<i>Idd9.1</i>	4, synten	<i>jak1</i> ; <i>lck</i>	(Lyons <i>et al.</i> 2000)
<i>Idd9.2</i>	4, synten	<i>cd30</i>	(Lyons <i>et al.</i> 2000; Siegmund <i>et al.</i> 2000)
<i>Idd9.3</i>	4, synten	<i>cd137</i>	(Lyons <i>et al.</i> 2000)
<i>Idd10</i>	3, 48.5cM		(Todd <i>et al.</i> 1991)
<i>Idd11</i>	4, 64.6cM	evt. identisch mit <i>Idd9.1</i>	(Morahan <i>et al.</i> 1994; Brodnicki <i>et al.</i> 2000)
<i>Idd12</i>	14, 12.0cM		(Morahan <i>et al.</i> 1994)
<i>Idd13</i>	2, 71.0cM	<i>Il1a</i>	(Serreze <i>et al.</i> 1994; Serreze <i>et al.</i> 1998)
<i>Idd13a</i>	2, synten	β -2-Mikroglobulin	(Serreze <i>et al.</i> 1998)
<i>Idd13b</i>	2, synten		(Serreze <i>et al.</i> 1998)
<i>Idd14</i>	13, synten		(McAleer <i>et al.</i> 1995)
<i>Idd15</i>	5, synten	<i>xmv65</i>	(McAleer <i>et al.</i> 1995)
<i>Idd16</i>	17, 18.0cM	<i>tnfa</i> ; <i>hsp70</i> ; MHC Klasse I	(Ikegami <i>et al.</i> 1995)
<i>Idd17</i>	3, 39.0cM		(Podolin <i>et al.</i> 1997)
<i>Idd18</i>	3, 53.3cM		(Podolin <i>et al.</i> 1998)
<i>Idd19</i>	6, 60.5cM		(Melanitou <i>et al.</i> 1998)
<i>Idd20</i>	6, 37.5cM		(Melanitou <i>et al.</i> 1998)
<i>Idd21</i>	18, 32.0cM		(Hall <i>et al.</i> 2003)

Tab. 1.3 Diabetessuszeptibilitätsregionen der Maus (*Idd* Gene) und deren Lokalisation im Genom der NOD Maus.

1.4.3 Die *Iddm* Gene der Ratte und ihre Lokalisation

Bei der Diabeteserkrankung der BB Ratte handelt es sich im Gegensatz zur NOD Maus um einen oligogenen Vererbungsmodus. Bislang konnten 10 Suszeptibilitätsloci identifiziert werden, die in Tab. 1.5 aufgeführt sind. Die im Gegensatz zur NOD Maus geringere Anzahl an Suszeptibilitätsloci der BB Ratte kann von der geringeren Heterogenität des genetischen Hintergrundes herrühren. Gleichzeitig erschwert der extrem starke Einfluss des *Lyp* Locus die Analyse weiterer diabetesrelevanter Gene der BB Ratte.

Der *Lyp* Locus wurde auf Chromosom 4 (RNO4) der BB Ratte lokalisiert und zunächst als *Iddm1* benannt (Jacob *et al.* 1992). Nach der Entscheidung des RGNC (Rat Genome and Nomenclature Committee) soll nun der *Lyp* Locus als *Iddm2*, der MHC bzw. RT1 Locus in Übereinstimmung mit dem Menschen (*IDDM1*) und der Maus (*Idd1*) als *Iddm1* bezeichnet werden. Diese Änderung wird auch in dieser Arbeit übernommen (Hornum *et al.* 2004). Der *Lyp* Locus ist verantwortlich für den schwerwiegenden Verlust an peripheren T-Lymphozyten, der in homozygoten Tieren vorliegt (Elder & Maclaren 1983).

Das Gen, das diese Lymphopenie verursacht, wurde unlängst als eine *Frameshift* Deletion im *Ian5* (*Ian411*) Gen identifiziert. Es handelt sich hierbei um ein GTP-bindendes Protein, das die Differenzierung von RT6⁺ Immunzellen massgeblich beeinflusst. Die Mutation führt zu einem Abbruch des Proteinstranges während der Synthese, was in einem defekten Genprodukt und der Lymphopenie resultiert (Hornum *et al.* 2002; MacMurray *et al.* 2002). Nähere Untersuchungen ergaben nun, dass es sich bei dem Genprodukt um ein Membranprotein der äusseren Mitochondrienmembran handelt, das GTP-Bindungsaktivität besitzt. Die Abwesenheit von *Ian411* führt zu mitochondrialer Dysfunktion, einem erhöhten Spiegel an stressinduzierten Chaperonen und einer T-zellspezifischen, spontanen Apoptose (Pandarpurkar *et al.* 2003).

Wie bei der NOD Maus, dem T1DM des Menschen und vielen anderen Autoimmunerkrankungen ist der MHC mit der Diabetespathogenese der BB Ratte assoziiert. Hier scheint der RT1-B^u/D^u MHC Klasse II Haplotyp suszeptibilitätsvermittelnd für den Diabetes zu sein. Dieser MHC Suszeptibilitätslocus wurde zunächst *Iddm2* genannt und wird nun als *Iddm1* bezeichnet (Colle *et al.* 1981; Ellerman & Like 2000). Eine Auswahl an Rattenstämmen und ihrer MHC Haplotypen, die für diese Arbeit relevant sind, finden sich in Tab. 1.4.

Rattenstamm	RT1	RT1-A	RT1-B/D	RT1-C
LEW.1AR1	<i>r2</i>	<i>a</i>	<i>u</i>	<i>u</i>
LEW.1AR1- <i>iddm</i>	<i>r2</i>	<i>a</i>	<i>u</i>	<i>u</i>
LEW.1AR1- <i>Whn^{rmu}</i>	<i>r2</i>	<i>a</i>	<i>u</i>	<i>u</i>
LEW.1WR1	<i>r4</i>	<i>u</i>	<i>u</i>	<i>a</i>

Tab. 1.4 Verschiedene Rattenstämme, die in dieser Arbeit verwendet wurden, und ihre MHC Haplotypen

In Kreuzungsversuchen konnte festgestellt werden, dass die beiden Loci *Iddm1* und *Iddm2* nicht ausreichen, um in BB Ratten einen Diabetes mellitus auszulösen. Deshalb wurden in diesem Tiermodell weitere Suszeptibilitätsloci vermutet und durch genetische Analysen identifiziert (Tab. 1.5).

<i>Iddm</i> Locus	Chromosom (RNO)	Kandidatengene - region	Referenz
<i>Iddm2 (Lyp)</i>	4	<i>Ian411/Ian5</i> (identifizierte <i>Lyp</i> Mutation)	(Jacob <i>et al.</i> 1992; Hornum <i>et al.</i> 2002; MacMurray <i>et al.</i> 2002)
<i>Iddm1</i>	20	MHC Klasse II RT1B/D ^u	(Colle <i>et al.</i> 1981; Ellerman & Like 2000)
<i>Iddm3r (resistance)</i>	2	zwischen <i>D2Mit14</i> – <i>D2Mit15</i>	(Klaff <i>et al.</i> 1999)
<i>Iddm3</i>	18	<i>Olf</i>	(Klötting <i>et al.</i> 1995; Klötting <i>et al.</i> 1998b)
<i>Iddm4 (Iddm11)</i>	6	<i>D6Mit1</i>	(Klötting <i>et al.</i> 1998a; Klötting <i>et al.</i> 1998b)
<i>Iddm4</i>	4	<i>Npy</i>	(Martin <i>et al.</i> 1999a; Martin <i>et al.</i> 1999b; Hornum <i>et al.</i> 2004)
<i>Iddm5</i>	13, ca. 5cM		(Martin <i>et al.</i> 1999a)
<i>Iddm5r</i>	1	<i>Igf2</i>	(Klötting <i>et al.</i> 1998b)
<i>Iddm6</i>	3, ca. 85cM		(Martin <i>et al.</i> 1999a)
<i>Iddm/kdp1</i>	11	<i>Cblb</i> (identifizierte Mutation)	(Yokoi <i>et al.</i> 2002)

Tab. 1.5 Diabetessuszeptibilitätsregionen der BB und der KDP Ratte (*Iddm* Gene) und deren Lokalisation im Genom.

Die Nomenklatur der einzelnen Suszeptibilitätsregionen der Ratte ist jedoch relativ uneinheitlich und einige Bezeichnungen sind doppelt vergeben. Die Arbeitsgruppe um Klötting (Klötting *et al.* 1995; Klötting *et al.* 1998a) beschrieb den *Iddm3* Locus auf RNO18 in der Nähe des *Olf* Gens, das für das olfaktorische, neuronspezifische G-Protein kodiert. Bis heute ist das suszeptibilitätsvermittelnde Gen des *Iddm3* Locus nicht identifiziert worden. Ebenfalls als *Iddm3* Locus wurde ein Bereich auf RNO2 bezeichnet. Dieser resistenzvermittelnde Locus hat Einfluss auf den Metabolismus und die Körpergewichtsregulation der BB Ratte (Klaff *et al.* 1999).

Eine vergleichbare Diskrepanz der Nomenklatur existiert für den *Iddm4* Locus. Neben einem Suszeptibilitätslocus auf RNO6 (jetzt in der Datenbank RatMap als *Iddm11* geführt) (Klötting *et al.* 1998a; Klötting *et al.* 1998b) wurde ein Suszeptibilitätslocus auf RNO4 in der Nähe des *Lyp* Gens als *Iddm4* bezeichnet (Martin *et al.* 1999a; Martin *et al.* 1999b). Als möglicher Kandidat auf RNO4 wird das *Npy* Gen diskutiert. Dies konnte bis jetzt aber nicht verifiziert werden. Der *Iddm4* Locus auf RNO4 ist wahrscheinlich für die Krankheitsinitiierung notwendig, denn es wurde eine Abhängigkeit zwischen dem Locus und dem Grad der Insulinitis der Tiere festgestellt (Martin *et al.* 1999a; Martin *et al.* 1999b).

Ebenfalls von der Arbeitsgruppe Martin (Martin *et al.* 1999a) ist der *Iddm5* Locus beschrieben worden. Er kartiert auf RNO13 bei ca. 5cM. Dieser Locus ist assoziiert mit der Progression der Erkrankung, die auch von Umwelteinflüssen abhängig ist.

Ein resistenzvermittelnder Locus wurde als *Iddm5r* bezeichnet (Klötting *et al.* 1998b). Dieser kartiert auf RNO1 im Bereich der Gene *Igf2* und *Tnt*. Das eigentliche Gen, das Einfluss auf die Diabetessuszeptibilität hat, konnte bislang noch nicht identifiziert werden.

Der *Iddm6* Locus liegt auf RNO3 bei etwa 85cM (Martin *et al.* 1999a). Er beeinflusst wahrscheinlich die Manifestation der Insulinitis. Auch dem *Iddm6* Locus konnte bislang kein spezifisches Gen zugeordnet werden.

Bei der KDP Ratte wurden bis jetzt zwei rezessive Gene gefunden, die mit der Manifestation des T1DM assoziiert sind (Kawano *et al.* 1991). Nähere genetische Untersuchungen wurden von der Arbeitsgruppe um Yokoi (Yokoi *et al.* 1997) durchgeführt, die eine genomweite Analyse der KDP Ratte durchführten.

Eine Suszeptibilitätsregion fand sich, wie beim Menschen und den anderen T1DM Nagetiermodellen im Bereich des MHCs. Auch die KDP Ratte besitzt den MHC Klasse II RT1B^u/D^u Haplotyp (Kawano *et al.* 1991).

Ausserdem konnte auf RNO11 in der Nähe des *Mox2* Gens eine Suszeptibilitätsregion lokalisiert werden, die als *Iddm/kdp1* benannt wurde. Durch Feinkartierung der Region auf RNO11 und Sequenzierung eines Ratten YAC Contigs konnten zwei Gene, *Alcam* und *Cblb* kartiert werden. Beide Gene wurden zunächst als Kandidatengene diskutiert. *Alcam* fungiert als Kandidatengen ob seiner Funktion als CD6 Ligand und seiner möglichen Rolle im

Thymozyten-Thymusepithel Zelladhäsionsgeschehen und *Cblb*, als Mitglied einer Familie von Ubiquitin-Protein-Ligasen, aufgrund seines Einflusses auf die T-Zellaktivierung. Dieser Einfluss konnte schon bei der Untersuchung eines *Cblb*-defizienten Mausmodells gezeigt werden (Bachmaier *et al.* 2000; Chiang *et al.* 2000). Weitere Untersuchungen der KDP Ratte ergaben schliesslich eine Mutation im *Cblb* Gen (Yokoi *et al.* 1997; Yokoi *et al.* 2002). Die Sequenzanalyse der *Cblb* cDNA der KDP Ratte identifizierte eine C→T homozygote Nonsensmutation (Arginin führte zu einem Stop bei Codon 455, Arg455X), die zu einem Sequenzverlust von 484 Aminosäuren führt, welche eine prolinreiche Region, wie auch eine Leucin-Zipper Region enthält (Yokoi *et al.* 2002). Diese Mutation gilt als Auslöser des T1DM der KDP Ratte.

1.5 Die Immunologie des T1DM

Der Typ 1 Diabetes mellitus resultiert aus einer bis heute nur wenig verstandenen Interaktion zwischen genetischer Prädisposition, Umweltfaktoren und dem Immunsystem. Der Prozess der Autoimmunität, der zur Diabetesmanifestation führt, ist im Wesentlichen durch $CD4^+$ und $CD8^+$ T-Zellen vermittelt (Pickup & Williams 2003).

Um die Auslöser dieser Autoimmunität experimentell zu untersuchen, werden verschiedene Methoden angewandt. So konnte durch den Einsatz von Polyinositol-Polycytidylsäure (Poly I:C) die autoimmune β -Zellzerstörung in verschiedenen T1DM Tiermodellen charakterisiert werden. Dieses synthetische, doppelsträngige RNA Molekül imitiert eine virale Infektion und stimuliert dadurch das angeborene Immunsystem (Liu *et al.* 2001). Poly I:C ist ausserdem durch die Aktivierung von Toll-like Rezeptoren ein potenter Aktivator der Zytokine $IFN\alpha$ und $IFN\beta$ (Sobel *et al.* 1994; Tough *et al.* 1996). Der Effekt von Poly I:C auf die Entwicklung eines T1DM ist von vielen entscheidenden Faktoren abhängig. Dazu zählen z.B. die Tierart, der MHC Haplotyp, der Genotyp und das Behandlungsschema. So beschleunigten hohe Poly I:C Dosen (10 $\mu\text{g/g KG}$) die Entwicklung des T1DM bei BB Ratten (Sobel *et al.* 1992), während niedrige Dosen (5 $\mu\text{g/g KG}$) protektiv wirkten. Im NOD Mausmodell zeigte Poly I:C ebenfalls eine protektive Wirkung gegenüber einer Autoimmunzerstörung (Serreze *et al.* 1989). Dennoch zeigen BALB/C Mäuse bei einer Behandlung mit Poly I:C und Insulin eine Insulitis, die augenscheinlich durch eine spezifische Inselzellautoimmunität entsteht (Moriyama *et al.* 2002).

Im Fokus der Forschung steht vor allem das zelluläre Immunsystem. Seine Rolle kann durch den Einsatz von adoptiven Transferversuchen weiter untersucht werden. Hierfür werden ConcanavalinA (ConA) stimulierte T-Zellen oder auch T-Zellsubpopulationen transferiert. So wurden mit der diabetessuszeptiblen BB Ratte Experimente durchgeführt, die zum Verlust bzw. zur Inaktivierung von T-Zellpopulationen führten, ebenso wurden bestimmte T-Zellsubpopulationen von diabetesresistenten, histokompatiblen Spendertieren übertragen (Like *et al.* 1979; Naji *et al.* 1979; Naji *et al.* 1981; Like *et al.* 1982; Laupacis *et al.* 1983; Like *et al.* 1983; Rossini *et al.* 1983; Rossini *et al.* 1984a; Rossini *et al.* 1984b). Nicht nur die Übertragung von T-Zellen, sondern auch die Übertragung von Thymozyten als Prekursoren der T-Zellen und Knochenmark, als Prekursor der Thymozyten können den Diabetes transferieren. Diese Übertragbarkeit des T1DM durch Knochenmarkstransplantationen konnte ungewollt auch beim Menschen bestätigt werden, wo Knochenmarksspenden von Typ 1 Diabetikern die Erkrankung auch in den Empfängern auslöste (Lampeter *et al.* 1998). Für die Entstehung des T1DM ist es unerheblich, ob T-Zellen entfernt, inaktiviert oder substituiert werden, entscheidend ist das Gleichgewicht bzw. Ungleichgewicht zwischen autoaggressiven und regulatorischen T-Zellen (Hori *et al.* 2003). Die Elimination der autoaggressiven T-Zellen erfolgt in der Regel vor allem über die klonale Deletion im Thymus. Der Prozess, der zur Elimination autoaggressiver T-Zellen in der Peripherie führt, ist noch so gut wie unbekannt.

Es werden jedoch zwei Mechanismen diskutiert. Zum einen eine funktionelle Inaktivierung autoaggressiver T-Zellen (klonale T-Zell Anergie), zum anderen die aktive Suppression der autoaggressiven T-Zellen durch antagonistische, regulatorische T-Zellen (T_{reg}) (Fowell & Mason 1993).

In selektiven Transferversuchen wurde festgestellt, dass es sich bei den T_{reg} -Zellen um eine Subpopulation der $CD4^+$ T-Zellen handelt (Hori *et al.* 2003). Die $CD4^+$ T-Zellen kann man anhand der Expression des Exon C des Leukozyten Common Antigens CD45 in $CD45RC^{high}$ und $CD45RC^{low}$ $CD4^+$ T-Zellen unterscheiden. Das natürliche Verhältnis zwischen $CD45RC^{high}$ und $CD45RC^{low}$ $CD4^+$ T-Zellen liegt bei etwa 2:1. Wird nur jeweils eine Subpopulation in ein immundefizientes System übertragen, so lösen $CD45RC^{high}$ $CD4^+$ T-Zellen *Wasting* und schwerwiegende lymphozytäre Infiltrationen in den verschiedensten Organen aus. Eine ausschliessliche Übertragung von $CD45RC^{low}$ $CD4^+$ T-Zellen verursacht keine Schäden im Empfängerorganismus. Diese Zellen sind ausserdem in der Lage, die pathologischen Auswirkungen der $CD45RC^{high}$ $CD4^+$ T-Zellen zu regulieren (Powrie & Mason 1990). Bei einer weiteren Separation der $CD45RC^{low}$ $CD4^+$ T-Zellen in die $RT6^+$ und $RT6^-$ Unterfraktion war die protektive Aktivität nur noch in der $RT6^+$ Fraktion nachweisbar (Fowell & Mason 1993). Von verschiedenen Forschergruppen konnte gezeigt werden, dass Autoimmunerkrankungen durch eine Depletion der $CD45RC^{low}$ Zellen in den peripheren $CD4^+$ T-Zell Populationen induziert werden konnten. Die Rekonstitution der zuvor eliminierten Subpopulation hingegen verhinderte die Manifestation der Erkrankung (Sakaguchi *et al.* 1985; Sugihara *et al.* 1988; Powrie & Mason 1990; Smith *et al.* 1992). Natürlicherweise sind T_{reg} -Zellen in der $CD25^+CD4^+$ T-Zellsubpopulation angereichert. Der CD25 Oberflächenmarker beschreibt die IL-2 Rezeptor- α -Kette (CD25), die auf den T_{reg} -Zellen hochspezifisch exprimiert wird (Sakaguchi *et al.* 1995).

Die Rolle der T_{reg} -Zellen wurde auch in Tiermodellen für spontane Autoimmunerkrankungen demonstriert. In lymphopenischen BB Ratten konnte durch den Transfer von $CD4^+$ T-Zellen aus der diabetesresistenten BB-Sublinie eine Diabetesmanifestation verhindert werden (Mordes *et al.* 1987). Gleichzeitig kann eine Depletion von $RT6^+$ T-Zellen einen T1DM im diabetesresistenten BB/W Stammes auslösen (Greiner *et al.* 1987).

Auch bei den NOD Mäusen konnte die Entwicklung des T1DM beim Transfer von diabetogenen T-Zellen durch den Cotransfer von peripheren $CD4^+$ T-Zellen oder Thymocyten junger, prädiabetischer NOD Spendertiere verhindert werden.

Die $CD25^+CD4^+$ T-Zellen von Mensch und Maus zeigen keine funktionellen Unterschiede. Wenn man davon ausgeht, dass die Elimination der T_{reg} -Zellen bei Tieren eine Autoimmunerkrankung auslösen kann, so ist es denkbar, dass Veränderungen der T_{reg} -Zellpopulation ein Auslöser für Autoimmunerkrankungen beim Menschen sein können (Sakaguchi & Sakaguchi 1994; Sakaguchi 2000). Genetische Veränderungen oder Umwelteinflüsse können die Funktion und Entwicklung der T_{reg} -Zellen beeinflussen. Das

Vorkommen der daraus resultierenden T_{reg}-Abnormalität in Zusammenhang mit einer genetischen Prädisposition (z.B. MHC Hochrisikohaplotyp) könnte zur Manifestation einer Autoimmunerkrankung führen (Sakaguchi & Sakaguchi 1994; Sakaguchi *et al.* 1996; Sakaguchi 2000).

1.6 Fragestellung

Die LEW.1AR1-*iddm* Ratte entstand 1997 durch Spontanmutation in einer MHC-congenen LEW.1AR1 Kolonie mit intra MHC rekombinantem Haplotyp. Die Tiere entwickeln um den 60. Lebensstag das Vollbild eines Diabetes mellitus Typ 1.

Es war das Ziel der Promotionsarbeit,

den Verlauf der diabetischen Stoffwechsellage an Hand der metabolischen Parameter Hyperglykämie, Ketoazidose, Polyurie, Polydipsie, Glucosurie und Körpergewichtsveränderung zu dokumentieren,

die Mutation, die zum T1DM der LEW.1AR1-*iddm* Ratte führte, sowie weitere Diabetessuszeptibilitätsloci zu identifizieren,

die Autoimmunogenese durch adoptiven Transfer von Immunzellen, sowie durch die Applikation von Poly I:C zu charakterisieren,

und das Expressionsmuster von Insulin und iNOS durch RT-*Real Time*-PCR Analysen zu dokumentieren.

2 Materialien und Methoden

2.1 Materialien

Material	Bezugsquelle
β-Mercaptoethanol	Fluka, Buchs, Schweiz
10 x PCR Puffer	Genecraft, Munster
100 bp DNA <i>ladder</i>	Genecraft, Munster
Agarose für DNA/RNA Elektrophorese	Roth, Karlsruhe
Agarose, Standard-DNA-Qualität	Bio-Rad, München
Ammoniumchlorid	Merck, Darmstadt
BioTherm™ Polymerase	Genecraft, Munster
Borsäure	Merck, Darmstadt
Bromphenolblau	Sigma, München
Chloroform	Merck, Darmstadt
Concanavalin A (ConA)	Biochrom KG, Berlin
Diethylether (zur Narkose)	Baker, Griesheim
dNTP Lösung, 2,5 mM je dNTP	Biozym, Hess. Oldendorf
dNTP Mix (10 mM)	Genecraft, Munster
EDTA	Sigma, München
Ethanol	Baker, Deventer, Niederlande
Ethidiumbromid	Merck, Darmstadt
Fetales Kälberserum (FCS)	GIBCO BRL, Eggenheim
Formaldehyd	Merck, Darmstadt
Formamid	Merck, Darmstadt
Gelstar™	Biowhittaker, Rockland, USA
Glucometer Elite™	Bayer, Leverkusen
Glucometer Elite™ Sensor	Bayer, Leverkusen

Glutamin	Merck, Darmstadt
Glycerol	GIBCO BRL, Eggenheim
Guanidiniumthiocyanat (GTC)	Fluka, Buchs, Schweiz
Isoamylalkohol	Merck, Darmstadt
Isopropanol	Baker, Deventer, Niederlande
Käfige (Typ III)	Techniplast 1290, Varese, Italien
Kaliumchlorid	Merck, Darmstadt
Kaliumhydrogenphosphat	Merck, Darmstadt
Kanülen	Braun, Melsungen
Keto Diabur Test [®] 5000	Roche Diagnostics, Mannheim
Linplant [®] (Insulinpellet)	Linshin, Scarborough, Kanada
<i>Low-Profile</i> [™] 96-well Mikrotiterplatten	Abgene, Hamburg
Magnesiumchlorid	Merck, Darmstadt
MOPS (3-Morpholinpropansulfonsäure)	Fluka, Buchs, Schweiz
Multi [®] Rigid <i>Ultra Plates</i>	Roth, Karlsruhe
Natriumacetat	Merck, Darmstadt
Natriumchlorid	Merck, Darmstadt
Natriumcitrat	Riedel-de-Häen, Seelze
Natriumhydrogenphosphat	Merck, Darmstadt
Natrium-Laurylsarcosin	Sigma, München
Nucleospin [®] Tissue	Macherey & Nagel, Düren
Nusieve [™] 3:1 Agarose	Biozym, Hess. Oldendorf
Oligonukleotide	MWG Biotech, Ebersberg
Orange G	Sigma, München
Phenol	Merck, Darmstadt
Kunststofflaborartikel	Sarstedt, Nümbrecht

Polyinositol-Polycytidylsäure (Poly I:C)	Sigma-Aldrich, München
Power Script™ Reverse Transkriptase	BD Bioscience, Palo Alto, USA
<i>random</i> Hexamer Primer	Roche, Mannheim
RPMI-1640 Medium	GIBCO BRL, Eggenheim
Sybr Green I	Biozym, Hess. Oldendorf
SAWADAY® Taq Polymerase und PCR Kit	Peqlab Biotech, Erlangen
Spritzenvorfilter, steril, 0,2 µm	Schleicher & Schuell, Dassel
Streptomycin/Penicillin	GIBCO BRL, Eggenheim
pCR2.1-Topo Vektor	Invitrogen, Karlsruhe
Tris/HCl	Merck, Darmstadt

Sofern nicht anders angegeben, waren alle Laborchemikalien von p.A. Qualität

2.2 Tiere und Tierhaltung

Alle Tiere stammten aus Barrierehaltungen (Trockenbarriere) des Zentralen Tierlaboratoriums (Ztm) der Medizinischen Hochschule Hannover. Die Tiere wurden zu zweit in durchsichtigen Polycarbonat-Käfigen (Makrolon™ Typ IIR) auf staubfreiem Weichholzgranulat gehalten. Die Raumtemperatur betrug $22 \pm 2^\circ\text{C}$ bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von $55 \pm 5\%$. Der Hell- Dunkelzyklus betrug jeweils 12 Stunden. Die Tiere erhielten ein kommerzielles, pelletiertes Alleinfuttermittel (Altromin 1320) und Wasser ad libitum.

2.2.1 LEW.1AR1/Ztm (LEW-RTI^{r2})

Der congenen Inzuchtstamm LEW.1AR1 trägt einen rekombinanten MHC Haplotyp, der als RTI^{r2} (RTI-A^a / B/D^u / C^u) bezeichnet wird. Dieser rekombinante RT1 Haplotyp entstand durch die Kombination der Haplotypen RTI^a des Rattenstammes AVN und RTI^u des Rattenstammes WP (Stark 1977). Der LEW.1AR1 Stamm ist der coisogene, nicht diabetische Hintergrundstamm von LEW.1AR1-*iddm* und damit hervorragend als Kontrollstamm geeignet. Die Tiere des LEW.1AR1 Stammes werden seit über 13 Generationen am Zentralen Tierlaboratorium der Medizinischen Hochschule gezüchtet.

2.2.2 LEW.1AR1/Ztm-*iddm* (LEW-RTI^{r2}*iddm*)

Der Stamm LEW.1AR1/Ztm-*iddm* entstand 1997 durch eine Spontanmutation im MHC congenen Inzuchtstamm LEW.1AR1, die zu einer diabetischen Stoffwechsellage führte. Diese Mutation konnte vom Hintergrundstamm isoliert und als separater Inzuchtstamm LEW.1AR1/Ztm-*iddm* weitergeführt werden. Die Tiere erkrankten spontan in einem Alter von

ca. 60 Tagen und manifestieren die klassischen Symptome eines Typ 1 Diabetes mellitus (T1DM).

Die Ratten zeigen eine hohe Letalität innerhalb der ersten Erkrankungswoche, wenn kein Insulin substituiert wird. Die Substitution erfolgt durch subkutane Applikation von Insulinpellets (Linplant®) unter einer kurzzeitigen Inhalationsnarkose. Diese Insulinpellets setzen innerhalb von 24 Stunden 2 U Rinderinsulin frei. Die Freisetzungsrates ist laut Herstellerangaben über mehr als 40 Tage stabil. Nach Diabetesmanifestation wird den Ratten aufgrund ihres noch geringen Körpergewichts zunächst nur ein halbes Pellet implantiert. Die Blutglucosekonzentration verbleibt dann für ca. zwei bis drei Monate in einem Bereich < 10 mmol/l. Dies ermöglicht eine Reproduktion der Tiere. Nach einem stärkeren Anstieg der Blutglucosekonzentration oder nach einer Verschlechterung des Allgemeinbefindens aufgrund einer Ketoazidose, erhalten die Tiere ein weiteres Insulinpellet.

2.2.3 *BN/Ztm*

Der Inzuchtstamm BN (Brown Norway) besitzt den MHC Haplotyp RTI^n ($RTI-A^n$; B/D^n ; C^n). Die Tiere tragen die Farbgene für die Fellfarbe *non-agouti*. Sie stammen direkt von Wildratten ab und werden seit über 100 Generationen ingezüchtet. Aufgrund des relativ großen genetischen Unterschiedes zwischen den Stämmen LEW.1AR1-*iddm* und BN war dieser Stamm geeignet, um die Rückkreuzungspopulation für die genetische Analyse anzulegen.

2.2.4 *LEW.1WR1/Ztm (LEW-RTI^{r4})*

Der MHC congenen Inzuchtstamm LEW.1WR1 trägt den MHC Haplotyp RTI^{r4} ($RTI-A^u$; B/D^u ; C^a). Er unterscheidet sich vom LEW.1AR1-*iddm* Stamm in der RT1-A Region (*u* statt *a*) und der RT1-C Region (*a* statt *u*). Die für die Diabetessuszeptibilität verantwortliche $RT1B^u/D^u$ Region ist jedoch bei beiden Rattenstämmen identisch.

2.2.5 *LEW.1AR1/Ztm-Whn^{nm} (LEW-RTI^{r2}Whn^{nm})*

Dieser doppelt-congene Stamm wurde entwickelt, indem das mutierte *Whn* Gen (*Whn*; *winged-helix-nude-gen*) zunächst auf LEW/Ztm rückgekreuzt und dann auf LEW.1AR1 übertragen wurde. Die Mutation entstand im Rowett Rattenstamm durch einen Basenaustausch ($G \rightarrow T$), der zu einem Stopp-Codon im *Whn* Gen und somit zu einem Abbruch in der Gensynthese führt. Für diese Mutation homozygoten Nachkommen zeigen eine Thymusaplasie und sind haarlos (*nude*). Die für die Untersuchungen erzeugten LEW.1AR1-*Whn^{nm}* Tiere besitzen den gleichen MHC Haplotyp wie LEW.1AR1 und LEW.1AR1-*iddm*. Im Gegensatz zu den immunkompetenten Stämmen, die in dieser Arbeit untersucht wurden, wurden LEW.1AR1-*Whn^{nm}* Tiere unter SPF (spezifiziert pathogen-frei) Bedingungen in individuell belüfteten Typ III Käfigen (IVC-Käfig) gehalten.

2.3 Untersuchungen der Stoffwechseleränderungen bei prädiabetischen und diabetischen LEW.1AR1-*iddm* Ratten

Für die stoffwechselfysiologischen Untersuchungen wurden Tiere des Stammes LEW.1AR1-*iddm* im Stoffwechselkäfig untersucht. Der Untersuchungszeitraum wurde so gewählt, dass die Tiere zur Zeit der Diabetesmanifestation (56 ± 1 Tage) im Stoffwechselkäfig beobachtet wurden.

Diese Untersuchungen sind von der Bezirksregierung Hannover genehmigt worden (AZ 509.6-42502-03/740).

Es wurden Stoffwechselkäfige verwendet, die genaue Messungen der Nahrungs- und Wasseraufnahme sowie der Abgabe von Stoffwechselprodukten ermöglichten. Der Boden der Käfige war für Exkreme durchlässig. Kot und Harn wurden mittels eines speziellen Separators, der unterhalb des Käfigs angebracht war, getrennt.

2.3.1 Bestimmung der Blutglucose

Die Blutglucosekonzentration der Tiere wurde täglich bestimmt. Dazu wurde die Schwanzspitze der Tiere leicht eingeritzt, und eine kleine Menge Blut (5 μ l) entnommen. Die Messung erfolgte mit dem Messgerät Glucometer Elite[®] nach der Glucoseoxidase Methode. Der Messbereich des Gerätes liegt zwischen 1,1 und 33,3 mmol/l. Messwerte unterhalb von 1,1 mmol/l wurden mit „Lo“ und oberhalb von 33,3 mmol/l mit „Hi“ angezeigt.

2.3.2 Bestimmung des Körpergewichts

Das Körpergewicht der Tiere wurde täglich mit der Laborwaage Präzision 2254 der Firma Sartorius bestimmt. Diese Waage besitzt eine Messgenauigkeit von 1 g und eine maximale Messgröße von 1000 g.

2.3.3 Bestimmung der Harnmenge

Der 24-h Harn wurde in mit Paraffin beschichteten Gefäßen gesammelt und alle 24 Stunden ausgewogen. Ein Aliquot wurde für die photometrische Bestimmung des Harnglucosegehaltes bei -20°C aufbewahrt.

2.3.4 Bestimmung der Trinkmenge und der Futteraufnahme

Die Tiere erhielten Trinkwasser und Futter ad libitum. Wassergefäße und Futterbehälter wurden alle 24 Stunden ausgewogen und neu befüllt. Aus dem Vorratsgefäß ausgetretene Wassertropfen, die nicht von dem Tier getrunken wurden, wurden mittels einer Vorrichtung in einem mit Paraffin befüllten Becher aufgefangen und konnten so in der Bilanzierung der Trinkmenge abgezogen werden.

Das Futter wurde den Tieren in gemahlener Form angeboten, wobei durch eine Gittervorrichtung sichergestellt wurde, dass das Futter nur zur Nahrungsaufnahme aus dem Vorratsbehälter entnommen werden konnte.

2.3.5 Bestimmung der Harnglucose und der Harnketonkörper

Bei diabetischen Tieren wurde mittels Keto-Diabur Test[®] 5000 (Roche Diagnostics, Mannheim) der Glucose- und Ketonkörpergehalt im Harn bestimmt. Die Bestimmung erfolgte im 24-h Sammelharn, der mit einer Pipette auf die Reaktionsoberfläche der Meßstäbchen aufgebracht wurde. Das Prinzip der Glucosebestimmung im Harn beruhte auf der Glucoseoxidase-Peroxidase Methode. Die Bestimmung des Ketonkörpergehaltes im Harn erfolgte durch den Nachweis von Acetoacetat mittels Natriumnitroprussid. Die Ablesung der Teststäbchen erfolgte nach einer Minute für den Glucosegehalt bzw. zwei Minuten für den Ketonkörpergehalt im Harn.

2.4 Genetische Untersuchungen einer (BN x LEW.1AR1-iddm) x LEW.1AR1-iddm Rückkreuzungspopulation (N2)

Um das Genom der LEW.1AR1-iddm Ratte auf Diabetessuszeptibilitätsregionen hin zu untersuchen, wurde eine Rückkreuzungspopulation mit dem BN Stamm angelegt.

2.4.1 Generierung einer (BN x LEW.1AR1-iddm) x LEW.1AR1-iddm Rückkreuzungspopulation (N2)

Für die Mikrosatelliten gestützte Kopplungsanalyse standen 218 Tiere der Rückkreuzungspopulation (BN x LEW.1AR1-iddm) F1 x LEW.1AR1-iddm zur Verfügung. Die Blutglucosekonzentration der Tiere wurde über einen Zeitraum von 120 Tagen dreimal wöchentlich gemessen. Erkrankte Tiere wurden direkt nach Diagnose des T1DM in CO₂ Narkose durch zervikale Dislokation getötet. Normoglykämische Tiere wurden bis zum 120. Tag beobachtet und danach ebenfalls getötet. Gewebeproben von Ohrmuscheln, Schwanzspitze, Milz und Thymus wurden in Kryogefäßen asserviert, und bis zur weiteren Aufarbeitung bei – 80 °C aufbewahrt. Das Pankreas wurde für histologische Untersuchungen in 4% Paraformaldehyd fixiert.

2.4.2 DNA Isolierung

Die DNA-Isolierung aus den verschiedenen Geweben (Ohrmuschel, Schwanzspitze, Milz oder Thymus) erfolgte mit dem Nucleo Spin Tissue[®] Kit (Macherey-Nagel, Düren).

Für die DNA-Gewinnung wurden ca. 25 mg des Gewebes in einem 1,5 ml Reaktionsgefäß mit 180 µl Pre-Lysispuffer T1 versetzt und mit einer sterilen Schere zerkleinert. Nach Zugabe von 25 µl Proteinase K-Lösung wurde der Ansatz etwa 15 Sekunden gevortext und 2 bis 4 Stunden bei 56 °C schüttelnd in einem Thermomixer inkubiert. Nach der Zugabe von 200 µl Lysispuffer B3 wurden die Proben etwa 15 Sekunden gevortext und 10 Minuten bei 70 °C

inkubiert. Die ungelösten Gewebe- und Zellreste wurden durch fünfminütige Zentrifugation (12.000 rpm) abgetrennt und der Probenüberstand in ein neues 1,5 ml Reaktionsgefäß überführt. Nach Zugabe von Ethanol (96 %) und erneutem Vortexen, wurde die Lösung auf eine Silicium-Gelmembran-Säule, die sich in einem 1,5 ml Reaktionsgefäß befand, aufgetragen. Nach einminütiger Zentrifugation (12.000 rpm) erfolgten zwei Waschschrte der in der Säule enthaltenen DNA mit 500 µl Waschpuffer BW bzw. 600 µl Waschpuffer B5 und jeweils anschließender einminütiger Zentrifugation (12.000 rpm), um Verunreinigungen zu entfernen. Abschließend wurde die DNA mit 100 µl des auf 70 °C erwärmten Elutionspuffers BE und einminütiger Zentrifugation (12.000 rpm) eluiert. Die DNA-Proben wurden 1:10 mit dd-H₂O verdünnt. Der DNA-Gehalt wurde photometrisch in einer Quarzküvette bei 260 nm bestimmt und mittels der Formel $OD\ 260 \times 50 / 100 = ng\ DNA / \mu l$ berechnet. Anschließend erfolgte die Einstellung auf 100 ng/µl mit dd-H₂O. Die DNA-Proben wurden bis zu ihrer Verwendung bei 4°C gelagert.

Zur Qualitätskontrolle der isolierten DNA wurde ein 0,8 – 1,0 %iges (w/v) Agarosegel hergestellt und mit Ethidiumbromid (4 µl / 100 ml) versetzt. 10 µl der DNA wurden mit 3 µl Orange G Ladepuffer gemischt und etwa ein halbe Stunde bei 90 mA in 1 x TBE-Puffer aufgetrennt.

TBE Laufpuffer (pH 8,3):

89 mM	Tris/HCl
89 mM	Borsäure
2,5 mM	EDTA

Ladepuffer Orange G:

60 ml	Glycerin (99 %)
0,05 g	Orange G
40 ml	dd-H ₂ O

Lösen des Farbstoffes in 40 ml dd-H₂O, Zugabe von 60 ml Glycerin unter ständigem Rühren.

Ziel war es eine scharfe, hochmolekulare DNA-Bande zu erhalten, die auf eine intakte, genomische DNA schließen ließ (Abb. 2.1).

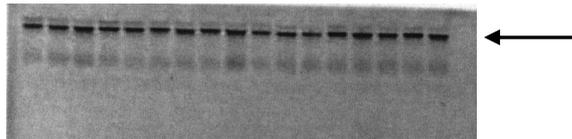


Abb. 2.1 Agarose Gelelektrophorese zur Untersuchung der DNA Integrität.

Genomische DNA Proben verschiedener Tiere wurden in einem 1 %igen Agarosegel für ca. 20 Minuten bei 90 mA aufgetrennt. Der Pfeil markiert die scharfe Lauffront der hochmolekularen, genomischen DNA.

2.5 Polymerase Kettenreaktion (PCR)

Der PCR Ansatz wurde pro Probe nach einem Basisprotokoll pipettiert (Tab. 2.1). Die verwendeten Verbrauchsmaterialien wurden vor Gebrauch autoklaviert (25 min, 121°C, 121 kPA).

	Volumen	Endkonzentration
DNA-Lösung (50 ng/μl)	2 μl	100 ng/μl
Mastermix:		
dd-H ₂ O	4,6 μl	
dNTP-Mix (2,5 mM/dNTP)	1,2 μl	pro dNTP 0,25 mM
10 x PCR-Puffer	1,0 μl	1 x PCR-Puffer
Tris-HCl (pH: 8,55; 200 mM)		20 mM
(NH ₄) ₂ SO ₄ (160 mM)		16 mM
MgCl ₂ (20 mM)		2 mM
6,7 μM Forward – Primer	0,25 μl	0,167 μM
6,7 μM Reverse – Primer	0,25 μl	0,167 μM
Taq - Polymerase	0,1 μl	0,05 U
Gesamt	10 μl	

Tab. 2.1 Basisprotokoll für die PCR Reaktion

Die PCR-Amplifikation begann mit einem Denaturierungsschritt von 4 min bei 94 °C. Es folgten 35 Zyklen mit je einem Denaturierungsschritt von 15 s bei 94 °C, eines *Annealings*schrittes bei 55 °C bzw. der vom Mikrosatellitenhersteller geforderten *Annealing*temperatur und eines Extensionsschrittes von 2 min bei 72 °C. Die PCR endete mit einem Extensionsschritt von 7 min bei 72 °C. Bis zur Probenentnahme hielt der Thermocycler die Proben auf 8 °C gekühlt.

Zur Auswertung der PCR wurden 3 %ige (w/v) NuSieve[®] -Agarosegele in 1 x TBE verwendet.

Die Agarose wurde nach Erhitzen in der Mikrowelle in 1x TBE gelöst, und dann bis auf etwa 50 °C abgekühlt. Zur Detektion der PCR-Produkte wurden 4 µl Gel Star pro 100 ml Gellösung zugesetzt. Die Gellösung wurde in den Gelträger der Elektrophoresekammer gegossen, die mit jeweils vier Kunststoffkämme versehen worden war. Die Geldicke betrug ca. 0,5 cm. Nach der Polymerisierung des Gels (ca. 15 bis 20 min) wurden die Kunststoffkämme entfernt. Das Gel wurde inklusive der Kammer in eine horizontal ausnivellierte, mit 1x TBE-Puffer gefüllte Elektrophoresekammer verbracht. Ein Standardgel mit 4 Kämmen besaß eine Kapazität für 100 Proben. Die PCR-Proben wurden mit 4 µl Orange G Ladepuffer versetzt, die Elektrophorese erfolgte bei 90 mA und einer Spannung von 90 Volt über die Dauer von ca. 2 h. Die Ergebnisse wurden auf einem UV-Tisch bei 312 nm ausgewertet und mittels Digitalfotographie dokumentiert (Abb. 2.2).

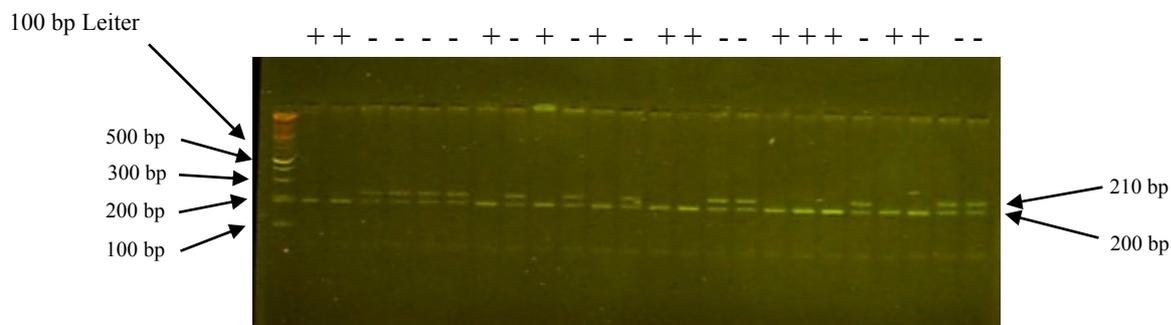


Abb. 2.2 Beispiel einer PCR-Auswertung mittels Agarose Gelelektrophorese des polymorphen Mikrosatellitenmarkers *D12Wox6*.

Homozygote Tiere (+) sind gekennzeichnet durch eine Bande, da zweimal dasselbe Allel des LEW.1AR1-*iddm* Stammes vorhanden ist. Heterozygote Tiere (-) sind durch zwei Banden gekennzeichnet, da ein Allel von LEW.1AR1-*iddm* und ein Allel von BN stammt.

2.5.1 Auswahl von Mikrosatellitenmarkern

Zur Genotypisierung der Rückkreuzungstiere wurden genetische Marker verwendet, die zwischen den Ausgangsstämmen LEW.1AR1-*iddm* und BN polymorph waren. Da Mikrosatellitenmarker mittels PCR einfach nachzuweisen sind und die Polymorphismusrate relativ hoch ist, wurden alle 20 Autosome mit diesen Markern typisiert. Das Genom wurde in einer ersten Analyse mit einem Intermarkerabstand von ca. 20 cM untersucht. Die Mikrosatellitenmarkersequenzen wurden Gendatenbanken entnommen, in denen eine große Zahl von Mikrosatellitenmarkern der Ratte veröffentlicht ist. Die Internetadressen sind in Tab. 2.2 aufgeführt.

Institut / Name	Internetadresse
Rat Genome Database	http://rgd.mcw.edu
Ratmap	http://ratmap.gen.gu.se
Whitehead Institute/MIT Center for genome research	http://www-genome.wi.mit.edu
National Institute of Arthritis & Musculoskeletal and Skin diseases/ Arb Database	http://niams.nih.gov/rtbc/ratgbase/
UCSC Genome Bioinformatics	http://genome.ucsc.edu
The Wellcome Trust Sanger Institute/ Ensembl Database	http://www.ensembl.org

Tab. 2.2 Datenbanken des Rattengenoms für die Auswahl von Mikrosatellitenmarkern.

Mikrosatellitenmarker, die für die Genomanalyse der LEW.1AR1-*iddm* Ratte verwendet wurden, sind in Tab. 2.3 nachfolgend aufgelistet.

Chromosom	Mikrosatellitenmarker
RNO1:	<i>D1Ztm1, D1Ztm2, D1Mgh17, D1Rat27, D1Rat148, D1Rat186, D1Rat248, D1Rat250, D1Rat38, D1Rat68, D1Rat41, D1Rat132, D1Rat156, D1Rat210, D1Mgh14, D1Rat79, D1Rat295, D1Rat496, D1Ztm3, D1Ztm4, D1Ztm5, D1Ztm6, D1Rat309, D1Rat307, D1Rat126, D1Rat235, D1Rat225, D1Mgh16, D1Mit4, D1Rat224, D1Rat229, D1Rat326, D1Mgh12, D1Rat452, D1Mit1, D1Mit2, D1Mit10, D1Rat7, D1Rat150, D1Ztm7, D1Ztm8, D1Ztm9, D1Ztm10</i>
RNO2:	<i>D2Mgh9, D2Mit17, D2Wox36, D2Rat115, D2Rat202, D2Rat245, D2Rat201,</i>
RNO3:	<i>D3Rat213, D3Rat47, D3Mit12, D3Mit4, D3Mgh1, D3Rat114, D3Rat93, D3Ztm2</i>
RNO4:	<i>D4Rat13, D4Mgh11, D4Wox32, D4Rat33</i>
RNO5:	<i>D5Rat126, D5Rat60, D5Mcw1, D5Mgh1, D5Mit10, D5Rat126</i>
RNO6:	<i>D6Mit10, D6Mit8, D6Pas1, D6Rat109, D6Rat143</i>
RNO7:	<i>D7Rat100, D7Mit8, D7Mgh9, D7Mit6, D7Mit7</i>
RNO8:	<i>D8Mit2, D8Mit5, D8Mgh4, D8Rat77, D8Mgh1</i>
RNO9:	<i>D9Rat106, D9Mit2, D9Mgh5, D9Rat17, D9Rat30, D9Mit6</i>
RNO10:	<i>D10Mgh5, D10Rat2, D10Rat183, D10Mgh4, D10Mgh10, D10Mgh6</i>
RNO11:	<i>D11Rat24, D11Rat46, D11Rat27, D11Rat76, D11Rat93, D11Mgh3</i>
RNO12:	<i>D12Wox6, D12Mit2, D12Rat68, D12Rat36</i>
RNO13:	<i>D13Mgh1, D13Arb11, D13Rat152, D13Rat32</i>
RNO14:	<i>D14Rat5, D14Rat13, D14Mit2, D14Mit4, D14Mit8</i>
RNO15:	<i>D15Mit2, D15Mgh2, D15Mgh7, D15Mgh4, D15Rat107, D15Rat106, D15Mgh9, D15Rat101</i>
RNO16:	<i>D16Mit2, D16Mgh4, D16Rat96</i>
RNO17:	<i>D17Mgh2, D17Mgh5, D17Mit5</i>
RNO18:	<i>D18Mit3, D18Mit8, D18Rat32</i>
RNO19:	<i>D19Mgh2, D19Rat46, D19Rat32, D19Rat58, D19Rat99</i>
RNO20:	<i>D20Rat17, D20Rat47, D20Rat54, D20Arb10, D20Mgh1, D20Rat21, D20Rat32, D20Rat46, D20Rat48, D20Rat66, D20Rat67, D20RT.1M4 (Lambracht-Washington <i>et al.</i> 1998), D20Uia1, D20Got4, D20Mgh3, D20Ztm1, D20Bat1 (Lambracht-Washington & Fischer Lindahl 2002), D20Rat2, D20Ztm3, D20Ztm2, D20Wox15, D20Rat41</i>

Tab. 2.3 Polymorphe Mikrosatellitenmarker der LEW.1AR1-*iddm* Ratte.

Die Markersequenzen sind aus den in Tab. 2.2 beschriebenen Datenbanken entnommen worden. Die Mikrosatellitenmarker mit dem Suffix *Ztm* wurden durch die Analyse des Rattengenoms am Institut für Versuchstierkunde der Medizinischen Hochschule Hannover (*Ztm*) entwickelt.

Die Mikrosatellitenmarker mit dem Namen *Ztm* sind wie unter 3.4.2 beschrieben entwickelt worden. Die Primersequenzen sind in Tab. 3.9 im Ergebnisteil dargestellt.

2.5.2 *Erstellung von genassoziierten Mikrosatellitenmarkern*

Nach der Ermittlung von Regionen, die eine erhöhte Assoziation zum Diabetes mellitus der LEW.1AR-*iddm* Ratte zeigten, wurden diese Regionen weiter feinkartiert. Das geschah zum einen weiterhin mit den im Internet veröffentlichten Sequenzen der anonymen Mikrosatellitenmarker. Darüber hinaus wurden Mikrosatellitenmarker erstellt, die direkt mit Kandidatengen assoziiert waren.

Von größtem Interesse waren Gene, die mit der Entstehung des Diabetes mellitus der LEW.1AR1-*iddm* Ratte assoziiert sein könnten. So wurden, wo möglich, mit Kandidatengen assoziierte Mikrosatelliten oder sehr nahe am Kandidatengen lokalisierte Mikrosatelliten zur weiteren Feinkartierung generiert und verwendet. Um mögliche Kandidatengene in diesen Regionen zu ermitteln, wurden die Ratten Datenbanken des Wellcome Trust Sanger Institutes (<http://www.ensembl.org>) und der UCSC Genome Bioinformatics Group (<http://genome.ucsc.edu>) verwendet. Diese Datenbanken enthielten Mikrosatellitensequenzen, aus denen unter Zuhilfenahme des frei im Internet zugänglichen Programms *Primer3* (Rozen & Skaletsky 2000) PCR-Primer generiert wurden.

Eine weitere Möglichkeit bestand darin, in den homologen Bereichen des murinen und humanen Genoms nach Kandidatengen zu suchen, die bei der Ratte noch nicht kartiert waren, und diese Sequenzen über BLAST mit bekannten Rattensequenzen zu vergleichen. Dafür wurden die jeweiligen DNA Sequenzen aus Datenbanken, wie *NCBI*, *UCSC* oder *Ensembl* (Tab. 2.2), analysiert. Zur Verifizierung der übereinstimmenden Gensequenzen wurde das BLAST Programm benutzt (*Basic Local Alignment Search Tool*; (Altschul *et al.* 1990)). Dieses Programm ist in der Lage, Übereinstimmungen zwischen zwei DNA-Sequenzen zu identifizieren. Die Nutzung des Programms erfolgte immer nach den vom *NCBI* vorgegebenen Standardbedingungen (Tab. 2.2). Die Klonsequenzen stammen aus dem *CHORI-230 Rat BAC Library Sequencing Project*. Die Daten beruhen auf DNA des Stammes BN. Diese BAC-Klone (*Bacterial Artificial Chromosome*) sind ca. 250 kb lange Genomfragmente, die in Bakterien amplifiziert wurden. Man konnte davon ausgehen, dass bei Sequenzübereinstimmungen die Gene auf dem jeweiligen Rattenklon lokalisiert waren. Die Sequenz der Klone wurde dann auf Mikrosatelliten hin analysiert. Dies wurde mittels des Programms „*Tandem Repeats Finder*“ (Benson 1999) durchgeführt. Die ermittelten Mikrosatelliten waren somit eindeutig mit dem Gen gekoppelt.

Um die für die PCR Reaktion benötigten Primer herzustellen, wurde ebenfalls das Programm *Primer3* verwendet (Rozen & Skaletsky 2000). Die den Mikrosatelliten flankierenden Primer wurden in einer Länge zwischen 18 und 30 bp synthetisiert. Dabei wurde eine *Annealing*temperatur von 55° - 60° C angestrebt. Die entsprechenden Primer wurden als Lyophilisat bezogen, und mit dd-H₂O auf eine Primerkonzentration von 100 pmol/μl rekonstituiert.

2.5.3 Untersuchung der Mikrosatellitenmarker auf Polymorphismen

Alle für die Kopplungsanalysen in Frage kommenden Marker wurden mit Hilfe der beschriebenen PCR-Reaktion und den Gelelektrophorese-Protokollen (s. Kap. 2.5) unter Verwendung der DNA der Parentalstämme LEW.1AR1/Ztm-*iddm*, BN/Ztm sowie einem Individuum der F1 Generation auf Polymorphismen hin getestet. Ein Marker war für die Analyse geeignet, wenn ein Polymorphismus sowohl zwischen den jeweiligen Parentalstämmen, als auch bei dem F1 Individuum deutlich sichtbar war (Abb. 2.3)

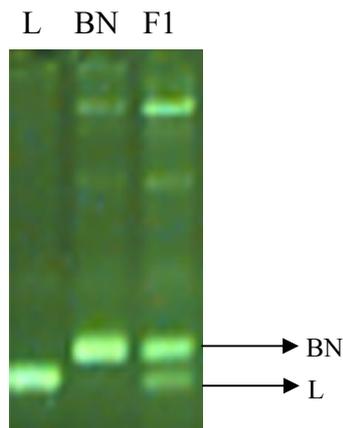


Abb. 2.3 Untersuchung des Mikrosatelliten *DIMgh12* auf Polymorphismus zwischen den LEW.1AR1-*iddm* und BN Rattenstämmen.

Genomische DNA der LEW.1AR1-*iddm* Ratte (L), der BN Ratte (BN) sowie eines Tieres aus der ersten Filialgeneration (F1) wurde amplifiziert. Das heterozygote F1-Tier zeigte das typische Doppelbandenmuster eines polymorphen Mikrosatelliten.

2.5.4 Physikalische Kartierung der eingesetzten Mikrosatellitenmarker

Die verwendeten Mikrosatelliten wurden nicht nur genetisch mit Hilfe von Statistikprogrammen kartiert (s. Kap. 2.8.1). Es erfolgte auch eine physikalische Kartierung durch die Einordnung der Primer in die Sequenz des Rattengenoms. Hierfür wurden die Datenbanken *UCSC* und *Ensembl* verwendet, wo entweder die schon bekannte physikalische Position des Mikrosatelliten entnommen wurde oder mit Hilfe des BLAST Programms die physikalische Position ermittelt werden konnte.

2.6 Immunologische Untersuchungen der LEW.1AR1-*iddm* Ratte

Die Autoimmungenese der Diabeteserkrankung wurde mittels adoptiven Transfers von Immunzellen untersucht. Darüber hinaus wurde auch eine Konditionierung des Immunsystems mittels Poly I:C Behandlung in der prädiabetischen Phase durchgeführt.

Für diese Untersuchungen wurden LEW.1AR1-*iddm* Ratten, der LEW.1AR1 Hintergrundstamm, der MHC differente LEW.1WR1 Stamm, sowie der athymische, immundefiziente LEW.1AR1-*Whn^{tmu}* Stamm eingesetzt.

2.6.1 Diabetesinduktion durch adoptiven Transfer ConA stimulierter Immunzellen

Concanavalin A (ConA) ist ein Lektin, das aus der Schwertbohne isoliert wurde. Es besteht aus 237 AS und besitzt zwei Metallbindungsstellen. ConA wird zur Stimulation der T-Lymphozyten eingesetzt.

Für den adoptiven Transfer wurden die Milz, sowie mesenteriale und zervikale Lymphknoten von diabetischen LEW.1AR1-*iddm* Tieren und dem nicht diabetischen LEW.1AR1 Hintergrundstamm nach Tötung der Tiere entnommen und mechanisch zerkleinert. Hieraus wurde eine Immunzellsuspension gewonnen. Diese Suspension wurde mit einer Zelldichte von 5×10^6 Zellen in 10 ml RPMI 1640 Medium für 72 h bei 37 °C und 6,5 % CO₂ in der Gegenwart von ConA inkubiert.

RPMI Medium für die ConA Stimulation von T-Lymphozyten :

10 ml	RPMI 1640 Medium
0,4 mol/l	L-Glutamin
0,2 U/ml	Penicillin
0,02 % (w/v)	Streptomycin
10 %	hitzeinaktiviertes FCS
2,5 µg/ml	ConA
5×10^{-5} mol/l	Mercaptoethanol

Die Zellen wurden vor dem Transfer dreimal mit RPMI 1640 Medium gewaschen. Die Empfängertiere hatten ein Alter zwischen 30 und 35 Tagen und waren alle nicht diabetisch. Es wurden ca. $7,5 \times 10^6$ ConA aktivierte Lymphozyten in die Schwanzvene appliziert.

Als Empfänger wurden 56 I0 Tiere des LEW.1AR1-*iddm* Stammes (spontane Diabetesinzidenz 30 %) und 50 I1 Tiere (spontane Diabetesinzidenz 60 %) verwendet, sowie 10 Tiere des LEW.1AR1 Hintergrundstammes und 15 Tiere des LEW.1AR1-*Whn^{tmu}* Stammes. Die athymischen LEW.1AR1-*Whn^{tmu}* Tiere waren zum Zeitpunkt des Transfers zwischen 37 und 181 Tagen alt. Der Grund für das unterschiedliche Alter liegt in der geringen Verfügbarkeit, da die Zucht dieses empfindlichen Rattenstammes sehr schwierig ist. Im

Anschluss wurde bei allen Empfängertieren dreimal wöchentlich die Blutglucosekonzentration gemessen.

2.6.2 Diabetesinduktion durch Injektion von Poly I:C

Die Polyinositol-Polycytidylsäure (Poly I:C) ist ein doppelsträngiges RNA Molekül, das als virales Mimikry eingesetzt wird. Dem Körper wird eine virale Infektion vorgetäuscht, was zu einer ausgeprägten Stimulation des Immunsystems führt. Die Aktivierung autoaggressiver Immunzellen kann bei entsprechender Prädisposition zu einer Zerstörung der β -Zellen des Pankreas und zur Diabetesmanifestation führen (Ellerman & Like 2000).

Es wurden 48 Tiere des LEW.1AR1-*iddm* Stammes (spontane Diabetesinzidenz 30 %), 40 Tiere des Stammes LEW.1AR1 und 41 Tiere des Stammes LEW.1WR1 verwendet. LEW.1AR1 und LEW.1WR1 Ratten entwickeln im Gegensatz zum LEW.1AR1-*iddm* Stamm keinen Spontandiabetes. 20 LEW.1AR1-*iddm* Tieren, 15 LEW.1AR1 Tieren und 20 Tieren des LEW.1WR1 Stammes wurde zur Kontrolle PBS injiziert. Poly I:C wurde in PBS gelöst (100 mg/40 ml) und den Tieren an zweimal fünf aufeinander folgenden Tagen i.p. appliziert. Allen Tieren wurde 7,5 μ g/g Körpergewicht Poly I:C je Dosis verabreicht. Die Blutglucosekonzentration wurde anschließend dreimal wöchentlich gemessen.

2.7 Dokumentation der β -Zellzerstörung mittels Real Time PCR (RT-PCR)

2.7.1 RNA Isolierung

Zur Untersuchung der Änderung der Genexpression von Insulin und der induzierbaren NO-Synthase (iNOS) im Verlauf der Diabetesmanifestation wurde Gesamt-RNA aus Rattenpankreatata isoliert. Es wurden 8 diabetische LEW.1AR1-*iddm* Tiere und 8 nicht diabetische Kontrolltiere des gleichen Stammes verwendet.

Nach Tötung der Tiere wurde Pankreasgewebe (300 - 400 mg Feuchtgewicht) entnommen und in 3 ml GTC-Puffer mittels Ultraturrax (Typ T25, IKA, Staufen) für 30 sec homogenisiert. Um ein übermäßiges Schäumen des Homogenats zu verhindern, wurden jeweils 15 μ l Antifoam A zu den 3 ml GTC-Puffer hinzugegeben. Das Gewebhomogenat wurde direkt im Anschluss mit der sauren Guanidiniumthiocyanat – Phenol – Chloroform Extraktion (Chomczynski & Sacchi 1987) aufgearbeitet oder bis zur weiteren Aufarbeitung bei - 80°C gelagert.

GTC-Puffer:

4 mol/l	GTC
0,5 % (v/v)	Natrium-Laurylsarcosin
0,1 mol/l	β -Mercaptoethanol
in 25 mmol/l Natriumcitrat-Puffer (pH 7,0); der Puffer wurde durch einen Spritzenvorfilter (Porengröße 0,2 μ m) filtriert und bei RT gelagert.	

Das GTC-Homogenat wurde mit 400 μ l 2 M Na-Acetat Lösung (pH4) angesäuert, mit 4 ml Phenol und 1 ml Chloroform / Isoamylalkohol (v/v; 49:1) gemischt und für 15 min auf Eis inkubiert.

Wassergesättigtes Phenol:

Phenol wurde im Wasserbad bei 60 °C geschmolzen und bis zur Sättigung (Ausbildung einer wässrigen Phase) mit dd-H₂O versetzt. Die Lagerung erfolgte bei 4 °C.

Die Suspension wurde anschließend zur Phasentrennung bei 4 °C für 20 min bei 10.000 g zentrifugiert. Die wässrige RNA-haltige Phase wurde in ein frisches Zentrifugenröhrchen überführt und für 12 h bei – 20 °C mit dem gleichen Volumen Isopropanol präzipitiert. Die Pelletierung erfolgte mit einem weiteren Zentrifugationsschritt (20 min, 4 °C; 10.000 g). Das RNA-Pellet wurde zur weiteren Konzentrierung erneut in 2 ml GTC-Puffer gelöst und einem weiteren Fällungsschritt mit Isopropanol unterzogen. Das RNA-Pellet des 2. Fällungsschritts wurde vorsichtig mit 1 ml Ethanol gewaschen, für ca. 10 min an der Luft getrocknet und in 200 μ l dd-H₂O gelöst. Nach dem Überspülen mit Ethanol (70%) wurde das Pellet ca. 10 min an der Luft getrocknet und in 200 μ l Aqua dest. gelöst. Der RNA-Gehalt wurde photometrisch bestimmt. Hierzu wurde die RNA-Lösung 1:500 in dd-H₂O verdünnt und die Extinktion bei 260 nm und 280 nm gemessen. Der RNA-Gehalt errechnete sich nach der folgenden Formel: OD (260 nm) x 20 = μ g RNA / μ l. Die 260 /280 nm Ratio war > 1,8. Die RNA wurde anschliessend bei – 80 °C gelagert.

2.7.2 Gelelektrophorese zur Auftrennung der RNA

Um die Gesamt-RNA aufzutrennen, wurden denaturierende 1 %ige (w/v) MOPS-Gele mit 5 % Formaldehyd hergestellt.

MOPS (3-Morpholinpropansulfonsäure) -Laufpuffer (pH 7,0):

20 mM	MOPS
5 mM	Natriumacetat
1 mM	EDTA

Die Auftrennung der RNA erfolgte mit MOPS-Laufpuffer in einer horizontalen Elektrophoresekammer (*Horizon 11-14*, GIBCO BRL) bei einer konstanten Spannung von 100 V. Die elektrophoretische Trennung wurde beendet, als die Bromphenolblau-Lauffront das Gelende erreicht hatte (nach ca. 30 min). Für die Analyse der Genexpression wurden jeweils 10 µg RNA pro Spur geladen. Die jeweiligen RNA-Proben wurden vor dem Auftragen mit dem gleichen Volumen Probenauftrage-Puffer gemischt und für 15 min bei 65 °C denaturiert.

<u>Probenauftrage-Puffer:</u>	
52 % (v/v)	deionisiertes Formamid
17 % (v/v)	37 %iges Formaldehyd
10 % (v/v)	10 x MOPS-Puffer (pH 7,0)
7 % (v/v)	dd-H ₂ O
7 % (v/v)	Glycerol
6 % (v/v)	10 %ige wäßrige Bromphenolblau-Lösung
1 % (v/v)	Ethidiumbromidlösung (1 mg/ml)

Zur Überprüfung der Integrität der RNA wurden die 28 S und 18 S Banden unter UV-Illumination bei 254 nm nachgewiesen. Die Gele wurden mittels Digitalfotographie (Abb. 2.4) dokumentiert.

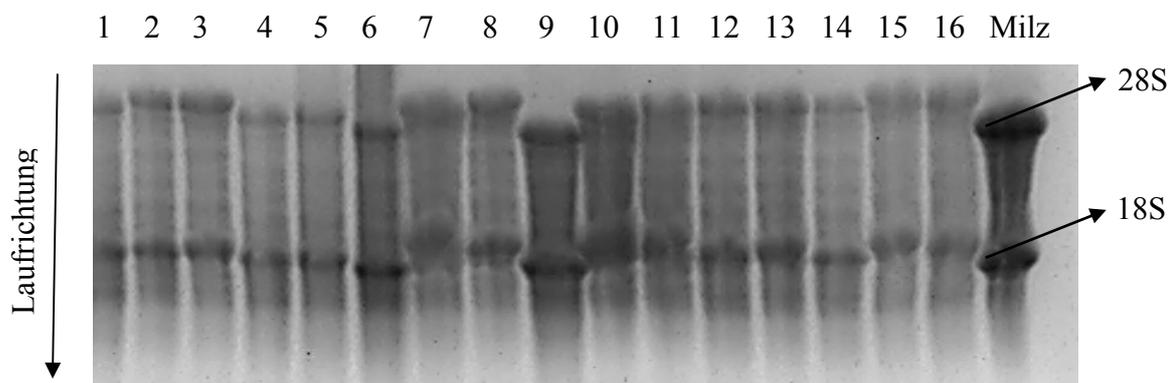


Abb. 2.4 Integritätsprüfung der Pankreas-RNA mittels Gelelektrophorese.

Es wurden jeweils 10 µg RNA pro Spur von nicht diabetischen LEW.1AR1-*iddm* Kontrolltieren (Bahnen 1-8) und diabetischen Tieren (Bahnen 9-16) im Vergleich zur Milz aufgetragen. Die 28 S und 18 S Banden sind durch Pfeile markiert.

2.7.3 Real Time PCR (RT-PCR)

2.7.3.1 Reverse Transkription

Gesamt-RNA des Pankreas wurde mittels Gelelektrophorese auf Intaktheit überprüft (Abb. 2.4) und anschliessend mit Hilfe des Enzyms Reverse Transkriptase in cDNA umgeschrieben (Erststrangsynthese). In dem Reaktionsansatz wurden 3 µg, 1 µg und 0,3 µg Gesamt-RNA des Pankreas revers transkribiert (Tab. 2.4).

1-5 µg Gesamt-RNA (in dd-H₂O)

50 – 250 ng *Random*-Hexamer Primer (0,2 µg)

ad 11 µl mit dd-H₂O

10 min Inkubation bei 70 °C, auf Eis abkühlen

4 µl 5 x Erststrang-Puffer

2µl dNTP Mix (10 mM je Nukleotid)

2 µl DTT (100 mM)

1 µl Power Script™ Reverse Transkriptase (BD Bioscience, Palo Alto, USA)

Der Reaktionsansatz wurde für 60 min bei 42 °C inkubiert und anschliessend durch eine 15 minütige Inkubation bei 70 °C gestoppt.

Tab. 2.4 Erststrangsynthese unter Verwendung von *Random*-Hexamer Primern.

2.7.3.2 Real Time PCR Amplifikation

Die cDNA wurde mit den genspezifischen Primerpaaren (Tab. 2.5) in einem Opticon™ Real Time Cycler (MJ Research, USA) amplifiziert. Die Primer wurden mit dem Vector NTI (Informax Inc., Oxford, U.K.) Programm unter der Vorgabe optimiert, dass (1) die *Annealing*temperaturen der Primer nicht mehr als 2 °C differieren, (2) kein *Self-Annealing* zu beobachten ist und (3) das Amplifikationsprodukt eine Länge von 90 – 120 bp besitzt. Für die Amplifikation des Gens der induzierbaren NO-Synthase (*iNOS*), des Insulin (*Ins*) und des β -*Actins* konnten so optimale Primerpaare generiert werden. Die Primerpaare waren spezifisch für die Gene der Ratte.

<u>Gene:</u>	Primer	Länge des Amplikons	Annealingtemperatur
<i>iNOS</i>	fw: TCG TAC TTG GGA TGC TCC ATG G	87 bp	64 °C
AF042085	rv: TCC TCG AGG CTC ACG GTC AA		
<i>Insulin</i>	fw: AGG ACC CAC AAG TGG CAC AA	110 bp	64 °C
NM_019130	rv: AGC ACT GAT CCA CGA TGC		
β - <i>Actin</i>	fw: GAA CAC GGC ATT GTA ACC AAC TGG	79 bp	64 °C
NM_031144	rv: GGC CAC ACG CAG CTC ATT GTA		

Tab. 2.5 Primersequenzen und Amplifikationsparameter für die Real Time RT-PCR Analyse des *iNOS*, *Ins* und β -*Actin* Gens.

Für die Amplifikation wurden *Low-Profile*TM 96-well Mikrotiterplatten (ABgene, Hamburg) verwendet. Als Fluoreszenzfarbstoff wurde SYBR Green I (Biozym, Hess. Oldendorf) verwendet, das sich ausschliesslich an Doppelstrang DNA anlagert und durch eine Anregung bei 450 bis 495 nm eine Detektion bei 515 bis 545 nm erlaubt. Die optimale SYBR Green I Konzentration im PCR-Reaktionsansatz wurde durch Konzentrationsreihen in Vorversuchen bestimmt, da eine zu geringe SYBR Green I Konzentration ein zu schwaches Fluoreszenzsignal ergab, eine zu hohe SYBR Green I Konzentration hingegen die PCR Reaktion inhibierte. Der Reaktionsansatz für die Real Time PCR setzte sich wie in Tab. 2.6 dargestellt zusammen.

	Volumen	Endkonzentration
Pankreas cDNA (75, 25, 8,25 ng/µl)	1 µl	75, 25, 8,25 ng/µl
dd-H ₂ O	17,9 – 15,9 µl	
dNTP-Mix (10 mM)	0,5 µl	pro dNTP 200 µM
10 x PCR Puffer (1,5 mM)	2,5 µl	1 x PCR Puffer
Forward-Primer (2 pmol)	0,5 – 1,5 µl	200 – 600 µmol
Reverse-Primer (2 pmol)	0,5 – 1,5 µl	200 – 600 µmol
Taq-Polymerase	0,1 µl	0,5 – 2 U
SYBR-Green I (10.000 fach Konz.)	2 µl	1 : 62.500
Gesamt	25 µl	

Tab. 2.6 Reaktionsansatz für Real Time RT PCR Amplifikation.

Das Temperaturprofil ist in Tab. 2.7 aufgeführt. Die *Annealing*temperatur der Primer wurde in Vorversuchen optimiert. Hier wurde mit dem OpticonTM Real Time Cycler eine Gradienten-PCR durchgeführt, bei dem die *Annealing*temperatur zwischen 50 °C und 65 °C variiert wurde. Die *Annealing*temperatur mit dem geringsten C_T-Wert wurde für die Amplifikationen der Pankreas cDNA ausgewählt (Tab. 2.5). Der C_T-Wert ist definiert durch den extrapolierten Amplifikationszyklus, bei dem die SYBR-Green Fluoreszenz, die nach der Extensionsphase gemessen wurde, über der Hintergrundfluoreszenz lag. Nach der Real Time Amplifikation wurde eine Schmelzpunktanalyse der PCR-Produkte durchgeführt, um unspezifische Amplifikationen auszuschliessen. Die Analyse der Genexpression erfolgte durch das auf dem ExcelTM- basierenden Programm QGene (Muller *et al.* 2002), wobei unter Berücksichtigung der Amplifikationseffizienz der untersuchten Gene eine Expressionsratio zu dem β -Actin *Housekeeping*-Gen gebildet wurde.

Temperaturprofil der PCR Amplifikation

Denaturierung	3 Minuten bei 95 °C
---------------	---------------------

45 Zyklen:

Denaturierung	30 Sekunden bei 95 °C
Annealing	30 Sekunden mit der ermittelten <i>Annealing</i> temperatur (64 °C)
Extension	30 Sekunden bei 72 °C

Es erfolgte eine Fluoreszenzdetektion unmittelbar nach der Extension.

Schmelzkurve:

Denaturierung	10 Sekunden bei 95 °C
	10 Sekunden bei 30 °C

Es wurde ein Temperaturgradient von 60 °C bis 95 °C durchlaufen. Dabei erfolgte im Intervall von 0,3 °C eine Fluoreszenzdetektion der PCR-Produkte.

Tab. 2.7 Temperaturprofil der RT-PCR Reaktion**2.8 Statistische Auswertung****2.8.1 Statistische Auswertung der genetischen Untersuchungen**

Um die chromosomalen Regionen, die Suszeptibilitätsloci für den Diabetes mellitus enthalten, zu identifizieren, wurde bei den Rückkreuzungstieren untersucht, ob der genetische Marker mit der Erkrankung assoziiert war (Kopplungsanalyse). Die statistische Auswertung der Kopplung eines genetischen Markers mit dem Auftreten des Diabetes mellitus Typ 1 wurde mit dem Statistikprogramm StatView 5.0™ (Haycock *et al.* 1992) und dem χ^2 – Test durchgeführt.

Für alle Marker waren in der Rückkreuzungspopulation N2 hetero- und homozygote Tiere im Verhältnis 1:1 zu erwarten. Abweichungen von diesem Verhältnis wurden mit Hilfe des exakten Tests von Fisher bei einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$ überprüft. Ein Überwiegen der homozygoten LEW.1AR1-*iddm* Genotypen bei den erkrankten Tieren war ein Hinweis auf eine Kopplung des betroffenen Markers mit der Erkrankung. Die Mikrosatelliten mit einer signifikanten Kopplung zur Erkrankung wurden dann zur Erstellung von genetischen Kopplungskarten mit dem Computerprogramm Joinmap® 2.0 zu Kopplungsgruppen zusammengefasst. Das Programm errechnete zunächst die paarweise Kopplung der Marker untereinander, und brachte sie anschliessend in eine Reihenfolge auf den Chromosomen. Auf dieser genetischen Kopplungskarte wurde, basierend auf der Rekombinationsfrequenz, die relative Entfernung der einzelnen Mikrosatelliten in cM dargestellt.

Mit Hilfe des Programms MapChart™ 2.0 (Plant Research International, Niederlande) wurde eine graphische Darstellung der Kopplungskarten generiert. Um die χ^2 Werte besser

darstellen zu können wurden diese in LOD Scores (*logarithm of the odds*, der Logarithmus des Verhältnisses der Wahrscheinlichkeit für Kopplung gegenüber der Wahrscheinlichkeit gegen Kopplung (Liu 1998)) umgerechnet. Der LOD Score gab die Wahrscheinlichkeit an, mit der sich ein Marker an einer bestimmten Lokalisation befand.

Eine weitere Kopplungsanalyse wurde mit dem Programm R/qtl (Broman *et al.* 2003) durchgeführt. Bei einer phänotypischen Unterscheidung zwischen diabetischem und nicht diabetischem Stoffwechszustand wurden die Daten mit einem binären Modell unter Anwendung des EM-Algorithmus [„*Expectation Maximisation*“ (Lander & Botstein 1989)] berechnet (Xu & Atchley 1996; Broman 2003). Hierdurch wurde ein Intervall-Mapping mit den Daten ermöglicht. Anhand der Verteilung der parentalen Allele an den Markerlokalisierungen wurden Pseudomarker in 2,5 cM Intervallen berechnet und anschließend alle Marker und Pseudomarker auf eine Assoziation zu der Ausprägung der Erkrankung getestet. Die Assoziation eines Markers zur Erkrankung wurde als LOD Score ausgedrückt. Der Schwellenwert des LOD Scores für signifikante Marker wurde mittels eines Permutationstests bestimmt. Bei diesem Permutationstest wurden den Genotypen der getesteten Tiere 1000mal die Phänotypen anderer Tiere nach dem Zufallsprinzip zugeordnet und jedes Mal eine Kopplungsanalyse durchgeführt. Die dabei errechneten, rein auf dem Zufallsprinzip basierenden, maximalen LOD Scores wurden der Häufigkeit nach aufgetragen und das 95 % und das 90 % Konfidenzintervall dieser normalverteilten Häufigkeitskurve gab den Grenzwert für signifikante Markerassoziation (Churchill & Doerge 1994).

Die mit der beschriebenen Methode errechneten Kopplungsergebnisse wurden durch eine Markerregression überprüft. Im letzten Schritt wurde ein multiples Regressionsmodell mit einem stringenten nominalen Signifikanzverlauf für alle zuvor identifizierten Marker erstellt.

2.8.2 Weitere statistische Auswertungen

Die Verlaufsdaten der diabetischen Tiere in den Stoffwechszersuchen sind als Mittelwerte (MW) \pm SEM dargestellt. Die Geschlechterverteilung wurde mit dem *Students t-test* untersucht.

Unterschiede zwischen den Diabetesinzidenzen der verschiedenen Stämme und auch Protokollen wurden mit dem χ^2 – Test analysiert.

Sofern nicht anders erwähnt, sind die Daten als Mittelwerte \pm Standardfehler (MW) \pm SEM dargestellt. Die statistische Analyse erfolgte durch eine Varianzanalyse (ANOVA), die bei multiplen Vergleichen mit einem Bonferroni Test gekoppelt war.

Die Real Time PCR Daten der Insulin und iNOS Expression wurden mit dem auf Excel[®] basierenden Qgene 96 Programm (Muller *et al.* 2002) analysiert. Hierbei wurden die C_T-Werte des Zielgens gegen die C_T-Werte eines Referenzgens (β -Actin) unter Berücksichtigung der jeweiligen Amplifikationseffizienzen normalisiert.

3 Resultate

Der Typ 1 Diabetes mellitus (T1DM) entsteht durch eine Autoimmunzerstörung der β -Zellen des Pankreas, die durch Immunzellen und proinflammatorische Zytokine vermittelt wird (Pickup & Williams 2003). Tiermodelle, die spontan einen Autoimmundiabetes entwickeln, zeigen viele Eigenschaften des T1DM des Menschen und haben dazu beigetragen, ätiologische und pathophysiologische Aspekte dieser Autoimmunerkrankung zu klären (Mordes *et al.* 2001). Der Stellenwert diabetischer Tiermodelle liegt vor allem darin begründet, dass Untersuchungen zur Pathogenese des Autoimmundiabetes schon vor dem Zeitpunkt der klinischen Diabetesmanifestation durchgeführt werden können. Beim Menschen sind zum Zeitpunkt der Diagnosestellung schon mehr als 80 % der β -Zellen zerstört und die immunologischen Prozesse, die zur Diabetesmanifestation führten, schon fast vollständig abgelaufen.

In den vorliegenden Untersuchungen wurde die LEW.1AR1-*iddm* Ratte, ein neues Tiermodell des T1DM, pathophysiologisch, genetisch und immunologisch analysiert.

3.1 Verpaarungsmodus, Geschlechterverteilung und Zeitpunkt der Diabetesmanifestation der LEW.1AR1-*iddm* Ratte

Der Rattenstamm LEW.1AR1/*Ztm-iddm* entstand 1997 durch eine Spontanmutation in der MHC rekombinanten, congenen LEW.1AR1 (RT1^{r2}) Kolonie. Nachdem ein Zuchttier durch einen schlechten Allgemeinzustand mit Gewichtsabnahme und Polyurie auffällig geworden war, bestätigte eine Blutglucosemessung den Verdacht der Hyperglykämie. Nachfolgende Untersuchungen zeigten als Ursache der Hyperglykämie einen Typ 1 Diabetes mellitus. Die Tiere zeigten um den 60. Lebensstag das Vollbild eines Diabetes mellitus mit einer Hyperglykämie, Ketonurie, Polyurie und Gewichtsverlust. Die diabetischen Tiere wurden vom Hintergrundstamm isoliert und als separater, coisogener Inzuchtstamm LEW.1AR1/*Ztm-iddm* weitergezüchtet (Tab. 3.1). Es gibt zwei Zuchtmodi, in denen die Tiere verpaart wurden. Zum einen die Verpaarung von zwei diabetischen Tieren, wobei die Diabetesinzidenz der Nachkommen ca. 60 % beträgt. Diese Tiere werden als II Kolonie bezeichnet, da eine Insulinbehandlung der Elterntiere für den Zuchterfolg unverzichtbar war. Dieser aufwendige Zuchtmodus wurde vor allem dann gewählt, wenn im Zuge von Versuchsvorhaben ein erhöhter Bedarf an diabetischen Tieren bestand.

Die Bezeichnung I0 wird für Nachkommen aus der Verpaarung eines männlichen, diabetischen Tieres mit einem nicht diabetischen, weiblichen LEW.1AR1-*iddm* Tier verwendet. Die Nachkommen dieses Zuchtmodus zeigten eine Diabetesinzidenz von ca. 34 %. Diese Verpaarung war vor allem für Erhaltungszwecke der Zucht geeignet, da ein geringerer Aufwand bei der Tierhaltung (erhöhter Einstreuwechsel bei erkrankten Tieren, Insulinpellets) erforderlich war.

Zuchtmodus	Anzahl Würfe	Tierzahlen	Diabetesinzidenz
I0 (N ♀ x D ♂)	29	n = 119 (D = 40; N = 79)	34 %
I1 (D ♀ x D ♂)	19	n = 176 (D = 105; N = 71)	60 % *

Tab. 3.1 Darstellung der verschiedenen Zuchtformen der LEW.1AR1-*iddm* Ratte.

Dargestellt sind die Zuchtmodi I0 und I1. Beim Zuchtmodus I0 wurde ein gesundes Muttertier mit einem diabetischen männlichen Tier verpaart. Der Zuchtmodus I1 beschreibt die Verpaarung zweier diabetischer Elterntiere. Alle diabetischen Tiere erhielten zur Stabilisierung des Glucosestoffwechsels bei Bedarf Insulinpellets implantiert. (N = nicht diabetisch; D = diabetisch) * $p < 0,05$ verglichen mit der Diabetesinzidenz der I0 Tiere. (χ^2 -Test)

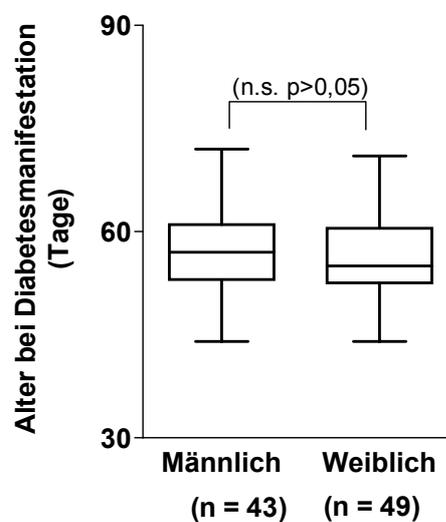


Abb. 3.1 Zeitpunkt der Diabetesmanifestation bei männlichen und weiblichen LEW.1AR1-*iddm* Ratten.

Insgesamt wurden 92 I1 Tiere (43 = ♀; 49 = ♂) des LEW.1AR1-*iddm* Stammes auf ihr Alter bei Diabetesmanifestation hin untersucht. Die Tiere zeigten keine geschlechts-spezifischen Unterschiede im Bezug auf das Manifestationsalter ($p > 0,05$). Der Mittelwert und SEM bei beiden Geschlechtern liegt bei 56 ± 1 Tagen. Dargestellt sind jeweils der früheste und späteste Zeitpunkt der Diabetesmanifestation, sowie die 25 %, 50 % und 75 % Perzentile.

Abb. 3.1 zeigt den Zeitpunkt der Diabetesmanifestation bei LEW.1AR1-*iddm* Ratten in Abhängigkeit vom Geschlecht der Tiere. Es zeigte sich bei keiner der verschiedenen Verpaarungen ein signifikanter Unterschied im Erkrankungsalter oder der Diabetesinzidenz zwischen den beiden Geschlechtern ($p > 0,05$). Es wurden 43 männliche und 49 weibliche Tiere untersucht. Beide Geschlechter erkrankten im Mittel an Tag 56 ± 1 Tag. Die 25 % Perzentile liegt bei beiden Geschlechtern an Tag 53, die 75 % Perzentile an Tag 61. Der Median liegt bei den männlichen Tieren bei Tag 57 und bei den weiblichen Tieren bei Tag 55.

3.2 Zelluläre Infiltrationen der Pankreasinseln und apoptotische β -Zellzerstörung der LEW.1AR1-*iddm* Ratte

Die morphologischen Untersuchungen der LEW.1AR1-*iddm* Ratte zeigten bei nicht diabetischen Kontrolltieren (Alter > 120 Tage) intakte Pankreasinseln, die frei von jeglicher Infiltration durch Immunzellen waren (Abb. 3.2). Die β -Zellmasse des Pankreas war nicht vermindert.

Pankreasinseln diabetischer LEW.1AR1-*iddm* Tiere zeigten eine ausgeprägte Infiltration durch mononukleäre Immunzellen (Insulitis) (Abb. 3.3). Durch immunzytochemische Untersuchungen konnten die Zellen des mononukleären Infiltrates als B und T Lymphozyten, Makrophagen und NK Zellen identifiziert werden. Die Pankreasinseln waren von den Immunzellen sowohl umschlossen (Periinsulitis), als auch infiltriert. Es waren jedoch keine extrapancreatischen Gewebe von den Infiltrationen betroffen (Abb. 3.4). Hierzu wurden Gewebeprobe von Leber, Niere, Dünndarm, Milz, Schilddrüse, Thymus, Nebenniere und Speicheldrüse histologisch in Haematoxylin/Eosin gefärbten Schnitten (jeweils 10 diabetische und nicht diabetische Tiere) untersucht (nicht dargestellt).

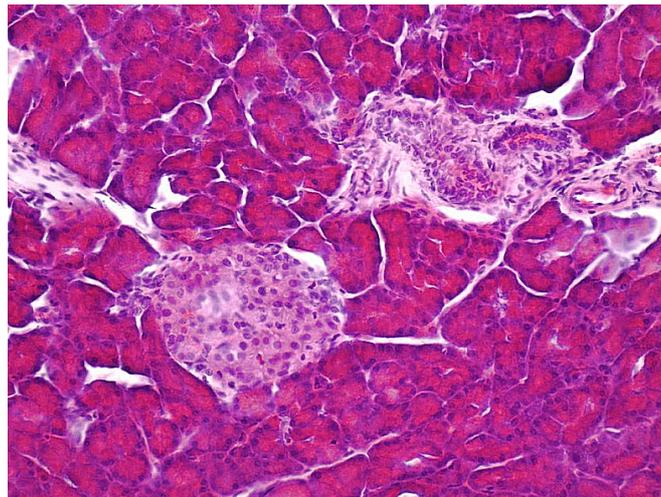


Abb. 3.2 Pankreasinsel einer nicht diabetischen LEW.1AR1-*iddm* Ratte (Alter > 120 Tage).

Langerhanssche Inseln und alle Abschnitte des exokrinen Parenchyms zeigen keine Zeichen von Infiltrationen. (Haematoxylin/Eosin, x 200; mit freundlicher Genehmigung von Prof. A. Jörns)

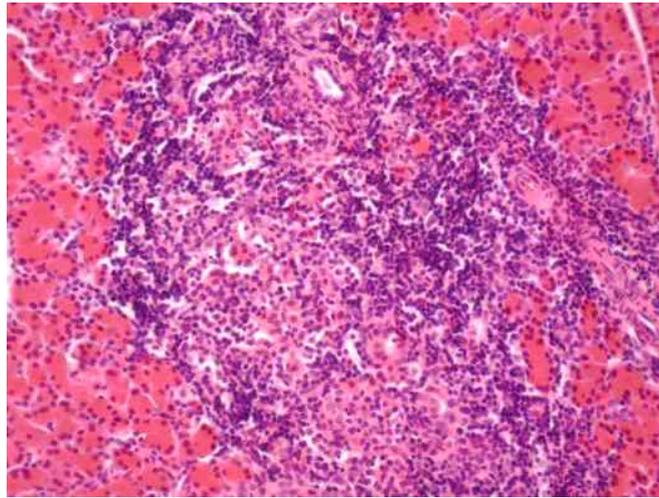


Abb. 3.3 Pankreasinsel einer diabetischen LEW.1AR1-iddm Ratte (Blutglucose: 15,7 mmol/l).

Die Langerhansschen Inseln zeigten deutliche Zeichen einer mononukleären Infiltration mit der höchsten Dichte in der Inselperipherie. (Haematoxylin/Eosin, x 200; mit freundlicher Genehmigung von Prof. A. Jörns)

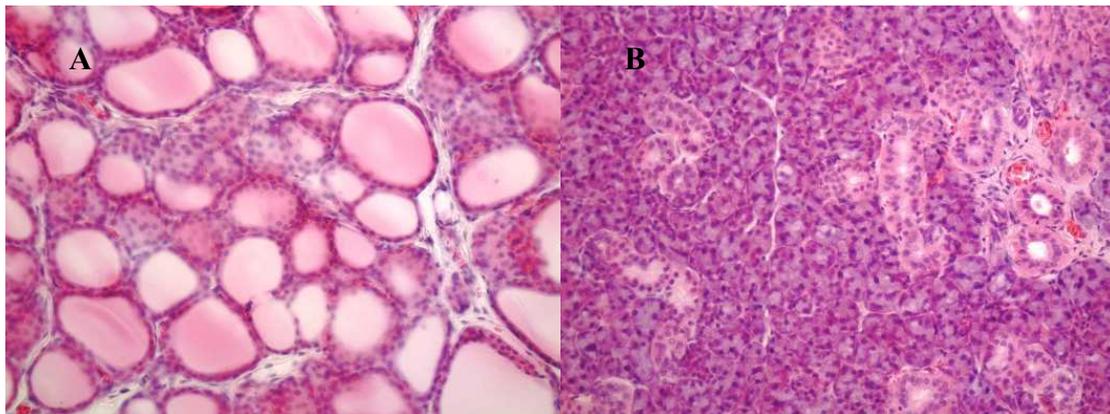


Abb. 3.4 Glandula thyroidea (A) und Glandula submandibularis (B) einer diabetischen LEW.1AR1-iddm Ratte. (Blutglucose: 15,7 mmol/l)

Wie bei allen anderen endokrinen und exokrinen Drüsen zeigten sich ausserhalb der Langerhansschen Inseln des Pankreas keine Infiltrationszeichen. (Haematoxylin/Eosin, x 200; mit freundlicher Genehmigung von Prof. A. Jörns)

β -Zellen können im Autoimmundiabetes sowohl durch Nekrose als auch durch Apoptose zerstört werden. Mittels elektronenmikroskopischer Analysen (EM) von Pankreata diabetischer Tiere wurde untersucht, ob es sich bei der Zerstörung der β -Zellen um ein apoptotisches oder nekrotisches Geschehen handelte. Die β -Zellen von infiltrierten Pankreasinseln zeigten dabei typische morphologische Zeichen einer apoptotischen Zerstörung wie Margination und Kondensation des nukleären Chromatins, Zellschrumpfung und schließlich Desintegration (Abb. 3.5). Es wurde keine apoptotische Zerstörung der α -Zellen und δ -Zellen der Pankreasinseln beobachtet. Die Autoimmunzerstörung war auf die insulinproduzierenden β -Zellen begrenzt (Abb. 3.5). Eine apoptotische Zerstörung von Immunzellen wurde ebenfalls nicht beobachtet.

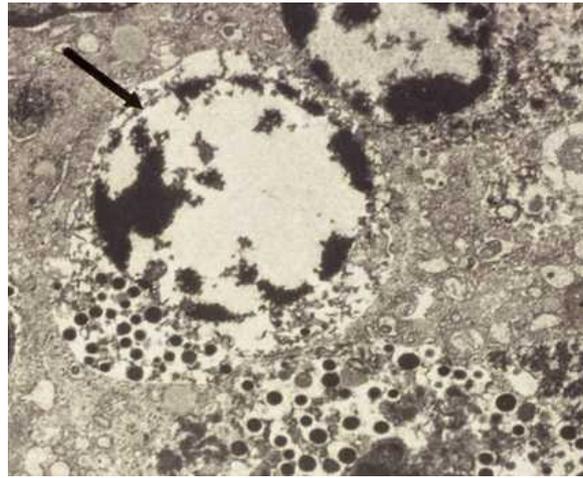


Abb. 3.5 EM Aufnahme einer apoptotischen β -Zelle (Pfeil).

Die Ultrastruktur der β -Zellen zeigt eindeutige Apoptosezeichen wie Margination und Kondensation des nukleären Chromatins, Zellschrumpfung und Kondensation. (x 4500, mit freundlicher Genehmigung von Prof. A. Jörns)

TUNEL Assays zeigten eine Abhängigkeit zwischen der Blutglucosekonzentration und der Anzahl der apoptotischen β -Zellen. In den Pankreasinseln von normoglykämischen LEW.1AR1 Kontrolltieren betrug der Anteil der apoptotischen β -Zellen weniger als 0,5 %. Zum Zeitpunkt des floriden Autoimmunprozesses bei Blutglucosekonzentrationen von 8 – 12 mmol/l zeigten 5 – 15 % der β -Zellen eine positive TUNEL Färbung, die für eine apoptotische Zellzerstörung charakteristisch ist (Abb. 3.6). Dieser Anteil nahm mit der progredienten Zerstörung der β -Zellen mit steigenden Blutglucosekonzentrationen ab (Abb. 3.6). Bei Blutglucosekonzentrationen um 35 mmol/l waren keine apoptotischen β -Zellen mehr nachweisbar. In histologischen Schnitten des Pankreas fanden sich nur noch so genannte *Endstage-Islets*, die α -Zellen und δ -Zellen, jedoch keine β -Zellen mehr enthielten (Morphologie nicht dargestellt).

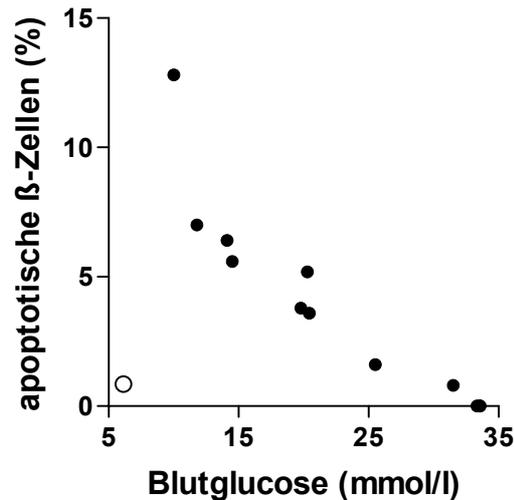


Abb. 3.6 Verhältnis zwischen Blutglucosekonzentration und dem Prozentsatz apoptotischer β -Zellen in den Pankreasinseln diabetischer LEW.1AR1-*iddm* Ratten (●; n = 12) und einem gesunden, nicht diabetischen Kontrolltier (○).

Die apoptotische Zerstörung der β -Zellen des Pankreas wurde mittels TUNEL Assay quantitativ erfasst. Die Anzahl apoptotischer Zellen wurde als Prozentsatz der Gesamtzellzahl der Inselzellen dargestellt. Das Verhältnis zwischen Blutglucosekonzentration und apoptotischen β -Zellen korreliert signifikant miteinander. Bei den diabetischen Tieren fanden sich signifikant ($p < 0,001$) mehr apoptotische β -Zellen als bei dem gesunden Kontrolltier. Die Blutglucosekonzentrationen wurden zum Zeitpunkt der Organentnahme mittels der Glucoseoxidasemethode bestimmt.

Die Zerstörung der β -Zellmasse der diabetischen LEW.1AR1-*iddm* Ratten wurde mit den Seruminsulinkonzentrationen in Beziehung gesetzt, die durch einen sensitiven ELISA Assay bestimmt wurden. Es stellte sich heraus, dass die Plasmainsulinspiegel mit ansteigenden Blutglucosekonzentrationen stark abnahmen (Abb. 3.7). Bei Blutglucosekonzentrationen > 30 mmol/l lagen die Seruminsulinspiegel im Bereich der Nachweisgrenze des Assays (0,07 $\mu\text{g/l}$). Der Diabetesverlauf führte bei den LEW.1AR1-*iddm* Ratten zu einem absoluten Insulinmangel ohne Restfunktion der β -Zellen.

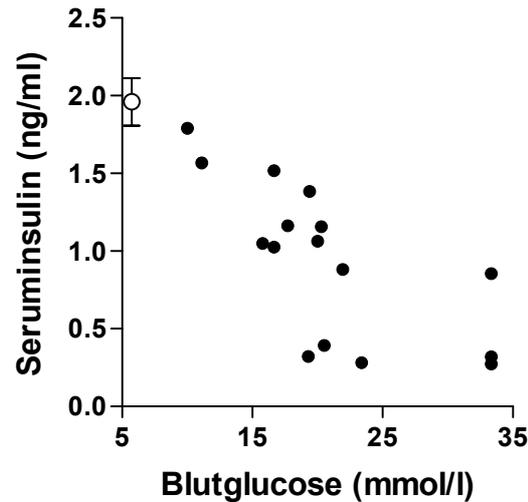


Abb. 3.7 Abhängigkeit der Seruminsulinkonzentration von der Blutglucosekonzentration in diabetischen LEW.1AR1-*iddm* Tieren (●) und normoglykämischen LEW.1AR1 Kontrolltieren (○).

Die Seruminsulinkonzentrationen wurden mittels eines sensitiven ELISA Assays bestimmt, der für Ratteninsulin spezifisch ist. Blutglucosekonzentrationen wurden unmittelbar bei der Blutentnahme mittels Glucoseoxidasemethode bestimmt. Dargestellt sind die Einzeldaten von 16 diabetischen LEW.1AR1-*iddm* Tieren sowie die MW + SEM von 12 Kontrolltieren.

3.3 Stoffwechselphysiologie der LEW.1AR1-*iddm* Ratte vor und nach Diabetesmanifestation

Hyperglykämie, Gewichtsverlust, Polyurie, Polydipsie, Glucosurie und Ketonurie sind typische Stoffwechselveränderungen, die mit dem Diabetes mellitus einhergehen. Diese sollten bei den Tieren des LEW.1AR1-*iddm* Stammes erfasst werden. Hierfür wurden 20 Tiere ab dem 55. Lebensstag für maximal 10 Tage in Stoffwechselkäfigen gehalten. Dadurch konnten die Harnmengen, die Wasser – und die Nahrungsaufnahme der Tiere sehr genau dokumentiert werden.

Eine Genehmigung der Bezirksregierung Hannover (AZ 509.6-42502-03/740) für diese Versuche lag vor.

Insgesamt erkrankten 9 Tiere im Verlauf des Stoffwechselversuches an Diabetes mellitus.

3.3.1 Zeitlicher Verlauf der Blutglucosekonzentration (Hyperglykämie)

Die Blutglucose wurde täglich bei allen 20 Tieren gemessen, um den Verlauf der Blutglucosewerte exakt zu dokumentieren. Im Mittel fanden sich bei den gesunden Tieren Blutglucosewerte zwischen 5 und 6 mmol/l (Tab. 3.2). Die Tiere wurden als diabetisch klassifiziert, wenn die Blutglucosewerte, bei zwei unabhängigen Messungen über 7,5 mmol/l lagen. Bei den diabetischen Tieren zeigte der Verlauf der Blutglucosewerte einen starken Anstieg von ca. 10 mmol/l innerhalb der ersten 24 Stunden nach Detektion der Erkrankung

(Tab. 3.2; Abb. 3.8). Danach verlief der Anstieg der Blutglucosekonzentrationen protrahierter, und erreichte im Mittel Werte zwischen 20 und 25 mmol/l am 6. Tag der Erkrankung (Tab. 3.2).

Tiere	Tag -3 mmol/l	Tag -2 mmol/l	Tag -1 mmol/l	Tag 0 mmol/l	Tag 1 mmol/l	Tag 2 mmol/l	Tag 3 mmol/l	Tag 4 mmol/l	Tag 5 mmol/l	Tag 6 mmol/l
1	4,8	5,3	5,6	6,0	18,3	23,5	23,1	29,9	24,9	19,8
2	5,8	5,6	5,6	5,7	19,8	23,3	27,4	19,3	20,4	21,4
3	4,9	5,2	5,4	6,5	12,6	17,9	17,9	20,9	11,8	24,5
4	5,6	5,4	4,5	4,3	20,5	23,6	28,0	25,1	29,9	26,4
5	5,8	6,1	5,8	5,6	19,1	21,8	21,3	22,6	22,0	24,7
6	5,2	-	5,0	-	7,9	7,1	15,3	22,1	21,7	21,9
7	-	-	-	-	11,3	17,1	16,5	4,5	10,7	15,4
8	5,0	-	6,2	-	13,2	19,9	15,8	19,3	19,7	19,9
9	5,7	6,0	5,7	6,3	14,5	14,1	19,2	17,1	18,6	20,3
MW	5,4	5,6	5,5	5,7	15,2	18,7	20,5	20,1	20,0	21,6
SEM	0,1	0,1	0,2	0,3	1,6	1,7	1,5	2,2	1,9	1,0
MW ND (n=11)	5,7	6,0	5,6	5,7	5,9	5,6	5,6	5,6	5,7	5,5
SEM	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,1	0,1	0,1

Tab. 3.2 Zeitlicher Verlauf der Blutglucosekonzentration in mmol/l der im Stoffwechselforschungserkrankten Tiere.

Die Blutglucosemessung erfolgte täglich mittels der Glucoseoxidasemethode, der Tag mit dem letzten physiologischen Blutglucosewert ist als Tag 0 definiert. Dargestellt sind die Blutglucosekonzentrationen der erkrankten Tiere als Einzelwerte, MW \pm SEM, sowie in den letzten beiden Reihen MW \pm SEM der nicht diabetischen (ND) Tiere.

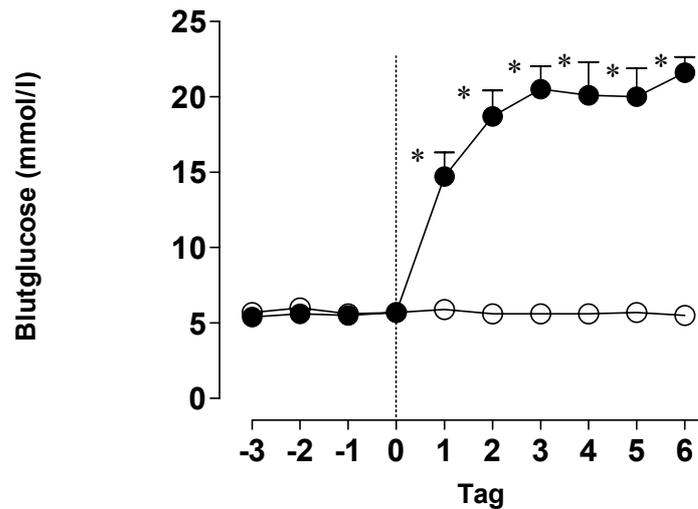


Abb. 3.8 Blutglucoseverlauf (mmol/l) der LEW.1AR1-iddm Ratte in der prädiabetischen und diabetischen Phase.

Tag 0 ist als der letzte Tag vor Diabetesmanifestation definiert. Dargestellt ist der Blutglucoseverlauf (MW \pm SEM) von neun erkrankten Tieren (●) und 11 gesunden Kontrolltieren (○) in einem Intervall von 10 Tagen. Die Blutglucosewerte der diabetischen Tiere stiegen innerhalb der ersten 24 Stunden der Erkrankung um ca. 10 mmol/l an. Bis zum Ende der ersten Erkrankungswoche wurden Maximalwerte bis 30 mmol/l erreicht. (* $p < 0.01$, Student's t-test, diabetische Tiere verglichen mit nicht diabetischen Tieren).

3.3.2 Zeitlicher Verlauf der Gewichtsveränderungen

Der Diabetes mellitus Typ 1 ist in der akuten Phase der Manifestation durch eine Abnahme des Körpergewichts gekennzeichnet, die zum einen durch die Dehydrierung in Folge der osmotischen Diurese, zum anderen durch den katabolen Abbau der Energiespeicher in Leber, Muskulatur und Fettgewebe verursacht wird. Das Körpergewicht der LEW.1AR1-iddm Tiere wurde täglich bestimmt. Da es aufgrund der sehr unterschiedlichen Ausgangsgewichte von männlichen und weiblichen Tieren nicht möglich gewesen wäre, das gesamte Kollektiv miteinander zu vergleichen wurde das Gewicht aller Tiere an Tag 0, dem letzten Tag mit einem physiologischen Blutglucosespiegel $< 7,5$ mmol/l gleich 100 % gesetzt. Alle anderen Messungen wurden prozentual auf diesen Tag bezogen (Tab. 3.3; Abb. 3.9). Während die nicht erkrankten Tiere konstant an Körpergewicht zunahm (σ : 3 g/Tag entspricht 1,2 % des Ausgangskörpergewichtes am 56. Tag; ♀ : 1 g/Tag entspricht 0,7 % des Ausgangskörpergewichtes am 56. Tag), war bei den diabetischen Tieren bereits am ersten Krankheitstag eine Gewichtsabnahme von ca. 1% zu verzeichnen. Die erkrankten Tiere verloren innerhalb der ersten 6 Tage der Erkrankung $7,6\% \pm 3,1\%$ ihres Ausgangskörpergewichtes an Tag 0 (Tab. 3.3; Abb. 3.9).

Tiere	Tag -3 %	Tag -2 %	Tag -1 %	Tag 0 %	Tag 1 %	Tag 2 %	Tag 3 %	Tag 4 %	Tag 5 %	Tag 6 %
1	98	100	101	100	98	98	98	99	97	93
2	95	98	96	100	104	92	92	88	80	73
3	98	99	99	100	102	100	100	100	99	100
4	-	-	-	100	98	98	101	101	102	98
5	105	108	108	100	101	102	101	99	100	94
6	-	-	-	100	100	102	100	101	101	98
7	-	-	-	100	100	105	105	97	105	106
8	-	-	-	100	100	98	88	94	92	83
9	98	98	101	100	88	93	92	91	88	86
MW	99	101	101	100	99	99	97	97	96	92
SEM	2	2	2	0	1	1	2	2	3	3
MW ND (n=11)	95	97	98	100	101	101	104	106	108	111
SEM	1	2	2	0	1	2	2	2	2	1

Tab. 3.3 Gewichtsverlauf dargestellt als prozentuales Restgewicht der im Stoffwechselversuch diabetischen Tiere.

Die Gewichtsmessung erfolgte täglich um 10 Uhr morgens. Um männliche und weibliche Tiere in einer Gruppe zusammenfassen zu können, wurde die prozentuale Gewichtsabnahme der Tiere bestimmt, indem das Gewicht an Tag 0, dem letzten Tag vor Diabetesmanifestation, gleich 100 % gesetzt wurde. Alle anderen Angaben orientieren sich an diesem Wert. Zum Vergleich sind in den letzten beiden Reihen die Mittelwerte (MW) und SEM der gesunden Kontrolltiere (ND) aufgeführt. Für die diabetischen Tiere sind Einzelwerte, sowie MW ± SEM dargestellt.

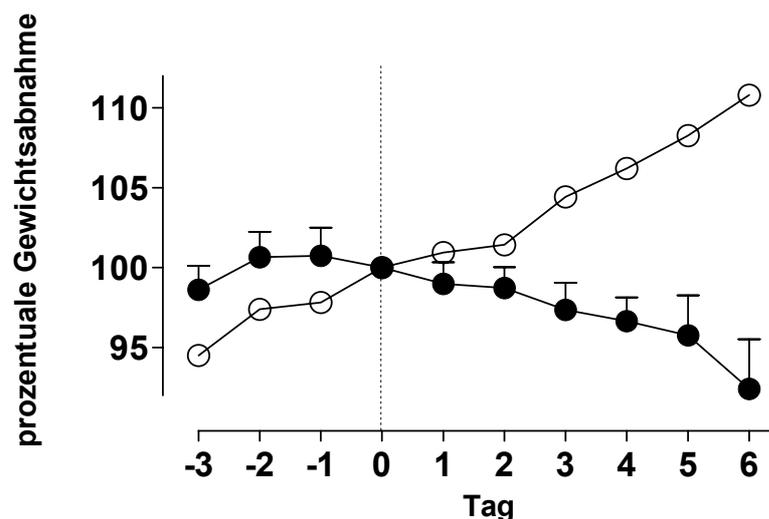


Abb. 3.9 Gewichtsentwicklung der diabetischen und nicht diabetischen Tiere in einem Intervall von 10 Tagen.

Dargestellt sind Verlaufsdaten (MW ± SEM) von neun erkrankten Tieren (●) und die Verlaufsdaten (MW ± SEM) 11 gesunder Kontrollen (○). Die diabetischen Tiere zeigen innerhalb der ersten Erkrankungswoche einen Gewichtsverlust von fast 10% bezogen auf das Körpergewicht an Tag 0, der gleich 100 % gesetzt wurde.

3.3.3 Zeitlicher Verlauf der Harnmengen (Polyurie)

Da die Blutglucosekonzentrationen diabetischer LEW.1AR1-*iddm* Ratten bereits innerhalb des ersten Erkrankungstages auf Werte um 15 mmol/l anstiegen, war schon in dieser Phase auf Grund der einsetzenden osmotischen Diurese eine Polyurie nachweisbar. Die gemessenen Harnmengen (ml/d) zeigten hierbei eine starke Parallelität zum Anstieg der Blutglucose (vgl. Abb. 3.8 und Abb. 3.10). In den ersten 24 Stunden der Erkrankung wurde ein Anstieg der Harnmengen von ca. 5 ml/d auf Werte um 40 ml/d beobachtet (Tab. 3.4). Im Verlauf der Erkrankung wurde am 5. Tag eine Plateauphase von im Mittel 70 ml/d erreicht (Abb. 3.10).

Tiere	Tag -3 ml/d	Tag -2 ml/d	Tag -1 ml/d	Tag 0 ml/d	Tag 1 ml/d	Tag 2 ml/d	Tag 3 ml/d	Tag 4 ml/d	Tag 5 ml/d	Tag 6 ml/d
1	7	7	-	-	84	91	82	91	98	26
2	5	4	-	-	13	8	21	11	23	†
3	10	6	3	9	30	51	54	112	125	118
4	-	-	-	-	78	81	78	75	85	†
5	5	5	2	1	29	35	46	43	45	40
6	-	-	-	-	47	73	99	114	123	114
7	-	-	-	-	31	39	18	32	27	11
8	-	-	-	-	37	13	76	73	42	24
9	-	-	-	-	11	40	45	39	57	84
MW	7	6	3	5	40	48	58	66	69	60
SEM	1	1	0	3	8	9	9	11	12	14
MW ND (n=11)	7	6	7	5	7	6	6	7	8	10
SEM	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1

Tab. 3.4 Harnmengen in ml pro Tag (ml/d) der im Stoffwechselversuch erkrankten Tiere.

Die Harnmengen wurden täglich gemessen. Tag 0 ist als der letzte Tag vor Diabetesmanifestation definiert. Zum Vergleich sind in den letzten beiden Reihen MW ± SEM der täglichen Harnmengen der gesunden Kontrolltiere (ND) aufgeführt. Die Harnmengen der diabetischen Tiere sind als Einzelwerte, sowie als MW ± SEM dargestellt.

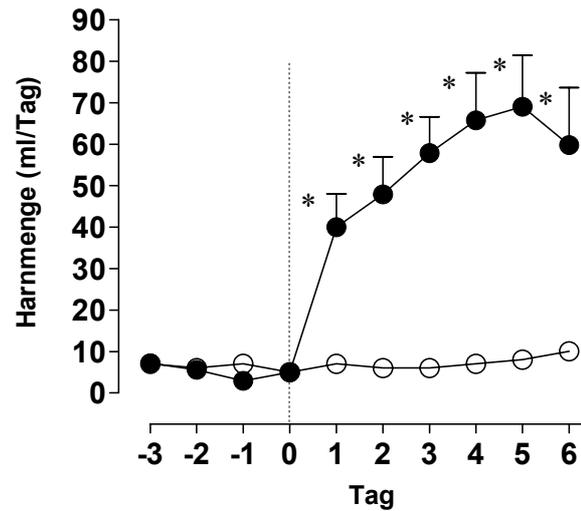


Abb. 3.10 Tägliche Harnmenge der diabetischen und nicht diabetischen Tiere in einem Intervall von 10 Tagen.

Dargestellt sind Verlaufsdaten (MW \pm SEM) von neun erkrankten Tieren (●) und 11 gesunden Kontrollen (○). Die Harnmenge gesunder Tiere liegt zwischen 5 und 10 ml/d, und steigt parallel zum Blutglucosespiegel innerhalb der ersten Erkrankungstage auf Werte um 50 ml/d. Tag 0 entspricht dem letzten Tag vor Diabetesmanifestation. (* $p < 0.01$, Student's t-test, diabetische Tiere verglichen mit nicht diabetischen Tieren)

3.3.4 Zeitlicher Verlauf der Trinkmengen (Polydipsie)

Die starken Wasserverluste, die durch die Polyurie verursacht wurden, konnten zunächst durch vermehrtes Trinken der Tiere kompensiert werden. Die Trinkmengen stiegen von ca. 10 ml/d auf Werte von ca. 50 ml und mehr pro Tag an (Tab. 3.5). Der Verlauf der Wasseraufnahme zeigte starke Ähnlichkeit zum Anstieg der Harnmenge und der Blutglucose (Abb. 3.11).

Tiere	Tag -3 ml/d	Tag -2 ml/d	Tag -1 ml/d	Tag 0 ml/d	Tag 1 ml/d	Tag 2 ml/d	Tag 3 ml/d	Tag 4 ml/d	Tag 5 ml/d	Tag 6 ml/d
1	21	22	-	-	101	109	97	102	100	61
2	20	8	-	-	3	14	31	2	13	2
3	32	9	17	28	37	71	71	128	137	132
4	-	-	-	-	86	98	87	87	88	93
5	18	18	1	7	45	44	51	50	47	42
6	-	-	-	-	41	2	96	79	36	17
7	-	-	-	-	49	57	51	43	63	84
8	-	-	-	-	41	2	96	79	36	17
9	-	-	-	-	2	58	51	43	63	84
MW	23	14	9	18	46	61	67	77	74	63
SEM	3	3	-	-	11	12	1	14	14	18
MW ND (n=11)	11	15	21	19	17	1	19	16	23	17
SEM gesund	2	3	4	5	4	4	3	2	3	2

Tab. 3.5 Wasseraufnahme in ml pro Tag (ml/d) der im Stoffwechselfersuch erkrankten Tiere.

Die Trinkmengen wurden täglich bestimmt. Tag 0 ist als der letzte Tag vor Diabetesmanifestation definiert. Zum Vergleich sind in den letzten beiden Reihen MW ± SEM der Harnmengen in ml/d der gesunden Kontrolltiere (ND) aufgeführt. Dargestellt sind die Einzelwerte, sowie MW ± SEM von gesunden (ND) und diabetischen Tieren.

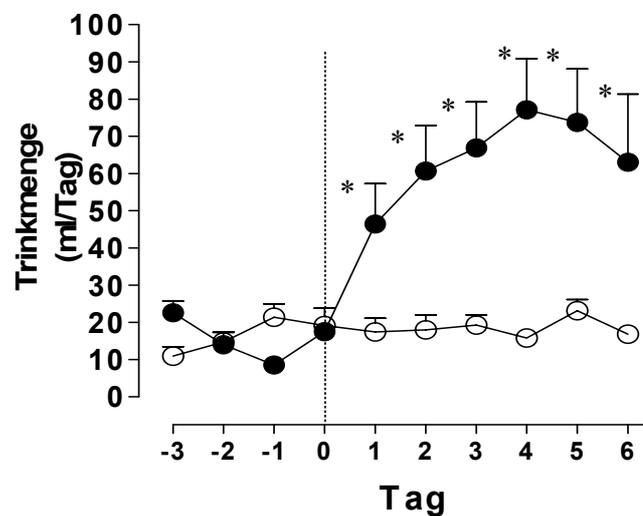


Abb. 3.11 Täglicher Wasserverbrauch der diabetischen und nicht diabetischen Tiere in einem Intervall von 10 Tagen.

Dargestellt sind die Verlaufsdaten (MW ± SEM) der neun erkrankten Tiere (●) und der (MW ± SEM) gesunden Kontrollgruppe (○). Die Trinkmenge stieg innerhalb der ersten Erkrankungswoche von 10 bis 20 ml/d auf Werte um 80 ml/d. Tag 0 ist als der letzte Tag vor Diabetesmanifestation definiert. (*p<0.01, Student's t-test, diabetische Tiere verglichen mit nicht diabetischen Tieren)

3.3.5 Zeitlicher Verlauf der Harnglucosekonzentration (Glucosurie)

Solange sich die Blutglucosekonzentrationen der Tiere innerhalb physiologischer Parameter befanden, konnte keine Glucose im Harn nachgewiesen werden. Schon innerhalb der ersten 24 Stunden der Erkrankung stiegen die Glucosekonzentrationen im Harn auf über 200 mmol/l an (Tab. 3.6; Abb. 3.12). Die Glucosekonzentrationen erreichten dann nach 2 Tagen Maximalwerte um die 400 mmol/l und es bildete sich eine Plateauphase um diesen Wert. Bei den gesunden Tieren war der Nachweis von Glucose im Harn zu keinem Zeitpunkt möglich.

Tiere	Tag -3 mmol/l	Tag -2 mmol/l	Tag -1 mmol/l	Tag 0 mmol/l	Tag 1 mmol/l	Tag 2 mmol/l	Tag 3 mmol/l	Tag 4 mmol/l	Tag 5 mmol/l	Tag 6 mmol/l
1	0	0	0	0	276	296	392	312	336	487
2	0	0	0	0	490	710	581	504	478	723
3	0	0	0	0	108	344	282	287	266	277
4	0	0	0	0	0	599	452	394	275	477
5	0	0	0	0	237	294	408	534	607	663
6	0	0	0	0	381	408	415	296	342	396
7	0	0	0	0	161	248	117	105	217	180
8	0	0	0	0	296	220	326	253	215	259
9	0	0	0	0	0	270	260	230	179	208
MW	0	0	0	0	224	393	390	351	337	436
SEM	0	0	0	0	52	53	42	42	44	62

Tab. 3.6 Harnglucosekonzentrationen (Glucosurie) in mmol/l der im Stoffwechselforschungserkrankten Tiere.

Die Harnglucosekonzentrationen wurden täglich bestimmt. Tag 0 ist als der letzte Tag vor Diabetesmanifestation definiert. Da beim gesunden Tier kein Nachweis von Harnglucose möglich ist (s. Tag -3 bis Tag 0), sind keine weiteren Werte der gesunden Tiere aufgeführt. Für die diabetischen Tiere sind Einzelwerte, sowie MW \pm SEM dargestellt.

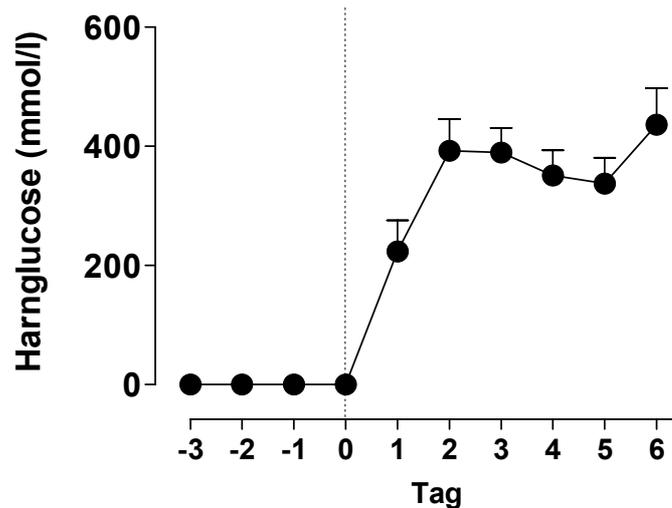


Abb. 3.12 Zeitverlauf der Glucosurie der diabetischen Tiere in einem Intervall von 10 Tagen.

Dargestellt sind die Verlaufsdaten (MW \pm SEM) der neun erkrankten Tiere. Gesunde Tiere zeigen keinerlei Glucose im Harn. Die Glucosekonzentrationen im Harn stiegen innerhalb von zwei Tagen nach Erkrankung auf Werte um 400 mmol/l. Als Tag 0 ist der letzte Tag vor Diabetesmanifestation definiert.

3.3.6 Zeitlicher Verlauf der Harnketonkörper (Ketonurie)

Während bei gesunden Tieren kein Nachweis von Ketonkörpern möglich war, zeigte sich bei knapp der Hälfte der erkrankten Tiere eine durch die gesteigerte Ketogenese ausgeprägte metabolische Azidose (Tab. 3.7). Da die Rückresorption der Ketonkörper durch die Niere nur gering ist, sind schon bei geringer Ketonämie Ketonkörper im Harn nachweisbar. Hier stiegen die Ketonkörpermengen im Harn mit zweitägiger Verspätung stark an, erreichten einen Maximalwert an Tag 5, um anschliessend wieder abzufallen (Abb. 3.13). Auffällig war die Spaltung der diabetischen Tiere in zwei Gruppen. Eine Gruppe zeigte eine ausgeprägte Azidose, die auch eine starke Beeinträchtigung des Allgemeinzustandes zur Folge hatte (Torkeln, Apathie, Gleichgewichtsstörungen). Die zweite Gruppe entwickelte keine Ketonurie und machte einen relativ stabilen Eindruck im Bezug auf das Allgemeinbefinden. Bei den gesunden Tieren wurden zu keinem Zeitpunkt Ketonkörper im Harn nachgewiesen.

Tiere	Tag -3 mmol/l	Tag -2 mmol/l	Tag -1 mmol/l	Tag 0 mmol/l	Tag 1 mmol/l	Tag 2 mmol/l	Tag 3 mmol/l	Tag 4 mmol/l	Tag 5 mmol/l	Tag 6 mmol/l
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	2,2	2,2	2,2	5,6	16,7	2,9
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0,8	5,6	16,7	5,6
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0,3	0,3	0,3	0	0,3	0,3
8	0	0	0	0	0,3	0,3	0,3	3,3	16,7	8,3
9	0	0	0	0	0,3	0	0	0	0	0
MW	0	0	0	0	0,3	0,3	0,4	1,6	5,6	1,9
SEM	0	0	0	0	0,2	0,2	0,2	0,8	2,8	1,0

Tab. 3.7 Harnketonkörper (Ketonurie) in mmol/l der im Stoffwechselforschung erkrankten Tiere.

Tag 0 ist als der letzte Tag vor Diabetesmanifestation definiert. Da beim gesunden Tier kein Nachweis von Harnketonkörpern möglich ist (s. Tag -3 bis Tag 0), sind keine weiteren Werte der gesunden Tiere aufgeführt. Es zeigte sich bei den diabetischen Tieren eine Aufteilung in eine Gruppe mit ausgeprägter Azidose (Tiere 2, 5, 8) und stark beeinträchtigtem Allgemeinbefinden (Apathie, Torkeln, Gleichgewichtsstörungen) und in eine Gruppe ohne Ketoazidose mit einem relativ guten Allgemeinzustand. Dargestellt sind die Einzelwerte, sowie MW \pm SEM der erkrankten Tiere.

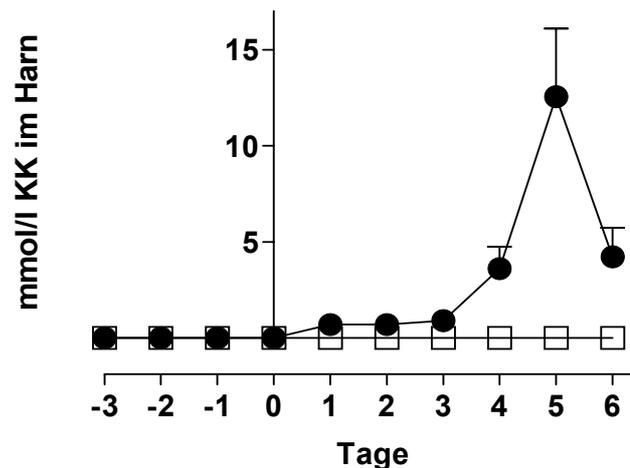


Abb. 3.13 Verlauf der Ketonurie der diabetischen Tiere in einem Intervall von 10 Tagen.

Dargestellt sind die Verlaufsdaten (MW \pm SEM) der neun erkrankten Tiere. Man kann die Tiere in zwei Gruppen unterteilen. Eine Gruppe, die keine ketoazidotische Stoffwechsellaage bei relativ gutem Allgemeinzustand manifestiert (\square), und eine Gruppe, die eine starke ketoazidotische Stoffwechsellaage bei stark beeinträchtigtem Allgemeinzustand zeigt (\bullet). Als Tag 0 ist der letzte Tag vor Diabetesmanifestation definiert.

Die Futteraufnahme unterschied sich zu keiner Zeit von den gesunden Kontrollen und wird deshalb vernachlässigt.

3.4 Genetische Untersuchungen der LEW.1AR1-*iddm* Ratte

Das diabetische Syndrom der LEW.1AR1-*iddm* Ratte entstand durch eine Mutation in der 17. Inzuchtgeneration des MHC rekombinanten, congenen (RT1^{r2}) Inzuchtstammes LEW.1AR1. Die Mutation konnte vom LEW.1AR1 Hintergrundstamm isoliert werden und wurde als separater Inzuchtstamm LEW.1AR1-*iddm* weitergezüchtet. Zu Beginn der Zucht wurden weibliche nicht diabetische LEW.1AR1-*iddm* Tiere mit diabetischen Männchen verpaart, da die Fertilität bei diabetischen weiblichen Tieren herabgesetzt ist. Die Diabetesinzidenz der Nachkommenschaft betrug bei diesem Verpaarungsmodus 30 %. Dies lässt darauf schließen, dass das diabetische Syndrom nach einem autosomal rezessiven Vererbungsmodus an die Nachkommen vererbt wird. Die Diabetesinzidenz konnte auf 60 % verdoppelt werden, wenn zwei diabetische Tiere des LEW.1AR1-*iddm* Stammes miteinander verpaart wurden. Diese Art der Verpaarung war nur nach der subkutanen Implantation von Insulinpellets möglich, die durch die konstante Freisetzung von Insulin Blutglucosekonzentrationen < 10 mmol/l garantierten und somit eine ausreichende Fertilität insbesondere der weiblichen Tiere gewährleisten konnten. Die Inzidenzdaten zeigen, dass bei dem autosomal rezessiven Vererbungsmodus eine unvollständige Penetranz (3/5) besteht. Dies erklärt auch die beobachtete Inzidenz von 60 % bei der Verpaarung zweier diabetischer LEW.1AR1-*iddm* Tiere.

Um genetische Analysen von Diabetessuszeptibilitätsloci im Genom der LEW.1AR1-*iddm* Ratte durchführen zu können, wurde eine [(BN x LEW.1AR1-*iddm*)F1 x LEW.1AR1-*iddm*] N2 Rückkreuzungspopulation mit dem Rattenstamm BN (Brown Norway) generiert. Der BN Stamm ist genetisch divergent zum LEW.1AR1 Stamm und somit ein geeigneter Kreuzungspartner zur Erstellung einer N2 Population, die dann mittels Kopplungsanalyse unter Verwendung von Mikrosatellitenmarkern auf Diabetessuszeptibilitätsloci untersucht wurde. Dabei wurde, wie beim LEW.1AR1-*iddm* Stamm, auch für die N2 Population eine 3/5 Penetranz angenommen, obwohl nicht ausgeschlossen werden konnte, dass auch BN Allele Einfluss auf die Diabetessuszeptibilität nehmen können.

3.4.1 Generierung einer Rückkreuzungspopulation mit Tieren des BN Stammes

Die für die genetischen Untersuchungen generierte [BN x LEW.1AR1-*iddm*] F1 x LEW.1AR1-*iddm* N2 Rückkreuzungspopulation umfasste 218 Tiere. Die Tiere wurden ab dem 45. Lebenstag dreimal wöchentlich auf erhöhte Blutglucosewerte hin untersucht und bis zur Manifestation des diabetischen Syndroms oder bis zu einem Alter von 120 Tagen beobachtet. 14 Tiere aus der Rückkreuzungspopulation wurden diabetisch (Tab. 3.8).

Tiernummer	Geschlecht	Manifestationsalter (Tage)	Blutglucose (mmol/l)
13	♂	56	19,9
15	♂	62	19
40	♀	49	21,7
52	♂	56	18,4
70	♀	57	19,4
75	♀	50	15,9
109	♀	60	28,1
148	♀	79	21,6
160	♀	62	18,2
164	♂	67	18,5
171	♀	76	16,2
183	♂	68	10,8
188	♂	73	14,3
192	♀	58	11,4

Tab. 3.8 Diabetische Rückkreuzungstiere mit Manifestationsalter, Geschlecht und Blutglucosekonzentration.

Insgesamt wurden 218 [BN x LEW.1AR1-*iddm*] F1 x LEW.1AR1-*iddm* Tiere für diese Studie generiert. 14 (~ 6,5%) Tiere entwickelten zwischen dem 49. und 79. Lebensstag das Vollbild eines Diabetes mellitus. Die Autoimmunzerstörung der β -Zellen wurde durch eine morphologische Untersuchung der Pankreata verifiziert. Bei allen diabetischen Tieren war eine Infiltration der Langerhansschen Inseln (Insulitis) mit Makrophagen, T- und B-Lymphozyten sowie NK-Zellen waren mit monoklonalen Antikörpern nachweisbar.

3.4.2 Genomweite Kopplungsanalyse mittels Mikrosatellitenmarker

Genomweite Mikrosatellitenmarkeranalysen sind entscheidend von einer hinreichenden Zahl polymorpher Marker abhängig, die darüber hinaus eine Kartierung des Genoms in regelmäßigen Abständen garantiert. Für die Analyse der Rückkreuzungspopulation wurden mehr als 250 Mikrosatellitenmarker aus verschiedenen Internetdatenbanken (Tab. 2.2) auf Polymorphismen zwischen LEW.1AR1-*iddm* und BN hin getestet. 157 Marker erwiesen sich als polymorph zwischen den beiden Stämmen und wurden für die genomweite Analyse nach Diabetessuszeptibilitätsregionen der LEW.1AR1-*iddm* Ratte eingesetzt. Der Intermarkerabstand betrug auf das gesamte Genom bezogen ca. 9cM.

In den Regionen mit einer signifikanten Assoziation zur Erkrankung erfolgte dann eine Feinkartierung anhand weiterer Mikrosatellitenmarker, die zum Teil auf der Basis neuester genomischer Daten generiert wurden und mit dem Suffix *Ztm* des Zentralen Tierlaboratoriums der Medizinischen Hochschule Hannover versehen wurden. Der Abstand zwischen den feinkartierten Markern auf den Chromosomen 1 und 20 betrug dann ca. 1cM. Die beiden Marker, die nicht auf RNO1 oder 20 lagen wurden aus den folgenden Gründen entwickelt und untersucht: Der Mikrosatellitenmarker *D3Ztm2* ist assoziiert mit dem *Nkx2-2* Gen, welches

eine herausragende Rolle bei der embryonalen Entwicklung der insulinproduzierenden β -Zellen spielt (Sussel *et al.* 1998). Für das Gen *MadCAM-1* wurde der Marker *D7Ztm1* generiert. *MadCAM-1* spielt bei der Diabetesentstehung der NOD Maus eine Rolle (Hanninen *et al.* 1998) und wird von *Nkx2-3*, dessen Gen im Suszeptibilitätsbereich auf RNO1 lokalisiert ist, induziert (Wang *et al.* 2000)(s.Tab. 3.12).

Das diabetische Syndrom in der [(BN x LEW.1AR1-*iddm*)F1 x LEW.1AR1-*iddm*] N2 Population zeigte eine signifikante Assoziation (LOD Score > 2,3) in drei Regionen des Genoms (Abb. 3.14). Die Signifikanzgrenze wurde anhand eines Permutationstests für alle Mikrosatellitendaten ermittelt.

3.4.2.1 Zwei Diabetessuszeptibilitätsregionen kartieren auf Chromosom 1

Die stärkste Assoziation mit einem LOD Score von 4,13 konnte in einer ca. 10 cM umspannenden Region auf Chromosom (RNO) 1 lokalisiert werden (Tab. 3.10; Abb. 3.15). Diese Region liegt bei 170 cM in der telomeren Region auf RNO1 und ist begrenzt von den Markern *D1Rat496* und *D1Ztm3*. Die Feinkartierung erfolgte bis auf einen Intermarkerabstand von < 1cM. Obwohl etwa 18 Mikrosatellitenmarker in dieser Suszeptibilitätsregion platziert werden konnten, war es nicht möglich einen Markerabstand von 0,4 cM zu unterschreiten.

Datenbankanalysen (z. B. Ratmap, UCSC, näheres s. Material und Methoden) zeigten über 40 bekannte und postulierte Gene, die in dieser Suszeptibilitätsregion zwischen den Markern *D1Rat496* und *D1Ztm3* kartieren. Aus dieser großen Liste an Genen schienen *Nkx2-3*, *Ins1* (Insulin1) und *Casp7* (Caspase7) geeignete Kandidatengene zu sein, die eine Rolle in der β -Zellfunktion und immunologischen Aspekten der β -Zellzerstörung spielen könnten (Tab. 3.12). Für *Nkx2-3* und *Ins1* konnten polymorphe Mikrosatellitenmarker generiert werden. So sind die Marker *D1Ztm1* und *D1Ztm2* assoziiert mit dem *Nkx2-3* Gen, das im Rahmen dieser Arbeit in die Region 1q51 (247,3Mb) bei 162cM kartiert werden konnte. Die Marker *D1Ztm3* bis *D1Ztm6* sind verknüpft mit dem *Ins1* Gen der Ratte, das bei 1q55 (258,3Mb) auf RNO1 liegt (Mori *et al.* 1992). Die Marker mit dem höchsten LOD Score in dieser Region waren der Marker *D1Ztm1* mit einem LOD Score von 4,13 und der Marker *D1Ztm3* mit einem LOD Score von 3,9 (Tab. 3.9; Tab. 3.10).

Eine zweite Suszeptibilitätsregion konnte im zentromeren Bereich von RNO1 identifiziert werden. Sie umfasst ebenfalls einen Abschnitt von ca. 10 cM. Die höchste Assoziation zum diabetischen Syndrom in dieser zentromeren Region konnte mit dem polymorphen Marker für das *Tctex-1* (Tab. 3.9) Gen (T-complex testis expressed-1) erreicht werden. Der Marker wurde als *D1Ztm7* bezeichnet und zeigt einen LOD Score von 2,7 (Tab. 3.10; Abb. 3.15). Das *Tctex-1* Gen kodiert für ein Protein, das in den Testes exprimiert wird und die Spermatogenese beeinflusst (Lader *et al.* 1989).

3.4.2.2 Eine Diabetessuszeptibilitätsregion kartiert auf Chromosom 20

Die dritte Suszeptibilitätsregion wurde auf RNO20 innerhalb der MHC Region lokalisiert. Der LOD Score dieser Region liegt für 14 verschiedene polymorphe Marker bei etwa 2,5 (Tab. 3.10; Abb. 3.16). Diese Ergebnisse stimmen mit vorhergehenden Studien anderer Arbeitsgruppen überein, die zeigen konnten, dass MHC Klasse II Gene des RT1^u Haplotyps, wie er auch bei der LEW.1AR1-*iddm* Ratte vorliegt, essentiell für die Entwicklung eines Typ 1 Diabetes Mellitus in verschiedenen Rattenstämmen sind (Ellerman & Like 2000).

In enger Nachbarschaft zum centromeren Ende der MHC Region der Ratte liegt der Mikrosatellitenmarker *D20Ztm3* der einen LOD Score von 2,5 als Assoziation zum diabetischen Syndrom zeigt. Interessanterweise ist dieser Marker verknüpft mit dem „Autoimmunregulatorischen“ Gen (*Aire*), welches für einen Transkriptionsfaktor kodiert, der in Autoimmunprozesse involviert ist (Nagamine *et al.* 1997). Das *Aire* Gen der Ratte ist in der Region 20p12, jedoch ausserhalb des MHC lokalisiert, während es beim Menschen auf Chromosom (HSA) 21q22.3 und bei der Maus auf Chromosom (MMU) 10 kartiert (Aaltonen & Bjorses 1999; Shi *et al.* 1999).

Gen	Mikrosatellitenmarker, Lokalisation (Mb; RNO)	Primersequenz
<i>Nkx2-3</i>	<i>D1Ztm1</i> 247,3Mb 1q54	fw: CCT AAA TGG GCG GGG TAA CAC GAA G rv: TTC CAC TTC CAG GAC ATC CAA CAC C
<i>Nkx2-3</i>	<i>D1Ztm2</i> 247,3Mb 1q54	fw: AAA GTT CTA GAA CAG TGT CCA AAA G rv: TCT ACA CAG AGA GTT CCA GAA CAG C
<i>Ins1</i>	<i>D1Ztm3</i> 258,29Mb 1q55	fw: ACT TGT GCA CTT GTG TAT TGC TTG GG rv: TTG GGT GCC ATT GAG TGT TAT TAC CA
<i>Ins1</i>	<i>D1Ztm4</i> 258,26Mb 1q55	fw: ACA TTC CCT TGC TTG CTG TT rv: GGG GGA AGA TCA GGT TTC TT
<i>Ins1</i>	<i>D1Ztm5</i> 258,28Mb 1q55	fw: GAG GGA GAA CCC TCC TCT AAA rv: TTG ACT CAT GTA TAC TAC ACG CAA A
<i>Ins1</i>	<i>D1Ztm6</i> 258,28Mb 1q55	fw: TCC AAA ACA GCA AAC AGT GC rv: TCC ATC AGT CTC CCA ATA GAC A
<i>Tctex</i>	<i>D1Ztm7</i> 41,10Mb 1q11	fw: AGT CAG TCC AGG GAT GTT GG rv: CTG GCT GGT CCT TGG TGT
<i>Pde7b</i>	<i>D1Ztm8</i> 15,7Mb 1p12	fw: GGC AAC ACA TCC AGA CTT CA rv: ACT CCA GCT CCA GGA GAT CTA A
<i>Pde7b</i>	<i>D1Ztm9</i> 15,7Mb 1p12	fw: TCA CAT GGG AAG AAG GGT CT rv: GGT TTC TGA ATT CCC ACT GC
<i>Pde7b</i>	<i>D1Ztm10</i> 15,7Mb 1p12	fw: ACG GGA CTA GGT GAG GGA CA rv: CCC TCC CCT CCC TAC TTG AT
<i>Nkx2-2</i>	<i>D3Ztm2</i> 135,75Mb 3q41	fw: AAC CTC TTC TCC GTG GCT TT rv: CCT GGT CCC CTG TAC CTT TT
<i>MAdCAM-1</i>	<i>D7Ztm1</i> 11,55Mb 7q11	fw: GCC ACC TGC CTT AAG GTG TA rv: ACT CAG GAC GCA GAG TCA GG
<i>Tnf-α</i>	<i>D20Ztm1</i> 3,65Mb 20p12	fw: TCA AAG GGG AAC GGA CAT AG rv: ACC AGG ATT CTG TGG CAA TC
<i>Bak-1</i>	<i>D20Ztm2</i> 5,25Mb 20p12	fw: CCT TGT GCC CTG AGA AGG T rv: CTG GTA AGG GTC CTC CTG GT
<i>Aire-1</i>	<i>D20Ztm3</i> 11,35Mb 20p12	fw: AAA CCA AGG GGA AGA GAT GG rv: GGA AGC GTC ATG TAA TAA ATG CT

Tab. 3.9 Neue polymorphe Mikrosatellitenmarker für die Feinkartierung von Diabetessuszeptibilitätsregionen der LEW.1AR1-*iddm* Ratte.

Gene, die auf RNO1 und RNO2 kartiert werden konnten, fungierten als Basis für die Konstruktion der neuen Mikrosatellitenmarker in Übereinstimmung mit assoziierten, repetitiven Sequenzen.

Chromosom	Suszeptibilitätsregion	Marker	Lokalisation (cM)	LOD	
RNO1	<i>Iddm9</i>	<i>D1Rat229</i>	42.6	2.00	
		<i>D1Ztm7</i>	46.5	2.75	
		<i>D1Mit10</i>	52.7	0	
		<i>D1Rat229 – D1Mit10</i>	42.6cM – 52.7cM		
RNO1	<i>Iddm8</i>	<i>D1Rat496</i>	156.0	4.06	
		<i>D1Ztm1</i>	162.1	4.13	
		<i>D1Rat79</i>	162.8	3.91	
		<i>D1Rat496 – D1Ztm3</i>	<i>D1Rat235</i>	162.8	3.91
		156.0cM – 172.6cM	<i>D1Ztm2</i>	163.6	4.02
			<i>D1Mgh12</i>	163.6	3.85
			<i>D1Rat309</i>	164.8	3.96
			<i>D1Rat307</i>	164.8	3.96
			<i>D1Rat452</i>	166.3	4.02
			<i>D1Rat156</i>	167.1	3.91
			<i>D1Mgh14</i>	170.9	3.85
			<i>D1Rat126</i>	170.9	3.85
			<i>D1Rat225</i>	170.9	3.80
			<i>D1Ztm5</i>	171.4	3.75
		<i>D1Ztm4</i>	171.4	3.75	
		<i>D1Ztm6</i>	171.4	3.85	
<i>D1Ztm3</i>	172.6	3.75			
RNO20	<i>Iddm1</i>	<i>D20Wox15</i>	0.0	2.97	
		<i>D20Rat2</i>	10.3	2.32	
		<i>D20Rat21</i>	10.3	2.46	
		<i>D20Wox15 – D20Rat67</i>	<i>D20Bat1</i>	10.3	2.41
		0.0cM – 22.6cM	<i>D20Uia1</i>	11.9	2.44
			<i>D20Rat17</i>	13.3	2.37
			<i>D20Rat41</i>	13.3	2.51
			<i>D20Ztm2</i>	13.3	2.37
			<i>D20Got4</i>	13.8	2.37
			<i>D20Rat66</i>	13.8	2.37
			<i>D20Rat47</i>	14.6	2.41
			<i>D20Rat46</i>	14.6	2.37
			<i>D20Rat48</i>	18.0	2.32
			<i>D20Rat67</i>	22.6	2.32

Tab. 3.10 Assoziation von Mikrosatellitenmarkern mit dem diabetischen Syndrom der [(BN x LEW.1AR1-*iddm*) F1 x LEW.1AR1-*iddm*] N2 Population.

Der LOD Score der Diabetessuszeptibilitätsregionen wurde mit dem R/qlt Programm ermittelt. Ein LOD Score von > 2.3 wurde zuvor mittels Permutationstest als Signifikanzgrenze für die Assoziation zum Diabetes mellitus festgelegt.

Ausgehend von einem autosomal rezessiven Vererbungsmodus, wies die Inzidenz von 6,5% in der [(BN x LEW.1AR1-*iddm*) F1 x LEW.1AR1-*iddm*] N2 Population auf eine Beteiligung von 3 bis 4 Genen an der Diabetespathogenese hin. Somit stimmte die Identifikation der drei Suszeptibilitätsregionen auf RNO1 und RNO20 mit dieser Voraussage überein.

Vor allem der Locus zwischen den Markern *D1Rat496* und *D1Ztm3* in der telomeren Region (im Folgenden als *Iddm8* bezeichnet) und der Locus zwischen den Markern *D1Ztm250* und *D1Mit10* (im Folgenden als *Iddm9* bezeichnet) im zentromeren Bereich von RNO1 sind noch

nicht in etablierten Diabetes mellitus Typ1 Tiermodellen beschrieben worden (s. Tab. 1.5). Die MHC Region hingegen ist schon von anderen Arbeitsgruppen (Ellerman & Like 2000) als *Iddm1* für die Ratte, *Idd1* für die Maus und *IDDM1* des Menschen beschrieben worden.

3.4.3 Vergleich der Suszeptibilitätsregionen der LEW.1AR1-iddm Ratte mit homologen Regionen von Mensch und Maus

Die ermittelten Diabetessuszeptibilitätsregionen wurden mit Hilfe von Internetdatenbanken (s. Tab. 2.2) im Bezug auf ihre homologen Bereiche im menschlichen und murinen Genom überprüft.

Der homologe Bereich des *Iddm8* Locus liegt beim Menschen auf HSA10q25, in einem chromosomalen Bereich, in dem auch das *IDDM17* Diabetessuszeptibilitätsgen kartiert wurde (Verge *et al.* 1998). Der homologe Bereich im Mausgenom kartiert bei 49 cM auf MMU19. Hier fanden sich bis jetzt keine Diabetessuszeptibilitätsgene (*Idd* Gene) der Maus (Tab. 3.10).

Der *Iddm9* Locus auf RNO1 ist homolog zu den Diabetessuszeptibilitätsgenen *IDDM5* und *IDDM8* im Bereich HSA6q25-27 (Davies *et al.* 1994; Davies *et al.* 1996; Luo *et al.* 1996). Im Mausgenom liegt der homologe Bereich bei etwa 7cM auf MMU17, auch dieser Bereich wurde bis jetzt nicht mit einem *Idd* Gen assoziiert (Tab. 3.10).

Der *Iddm2* Locus auf RNO20 ist homolog zum humanen *IDDM1* Gen auf HSA6p21.3 (Noble *et al.* 1996) und dem murinen *Idd1* Gen auf MMU17 (Todd *et al.* 1991; Serreze *et al.* 1994; Serreze *et al.* 1998). Alle Kandidatengene auf RNO20 liegen, bis auf das *Aire* Gen, innerhalb des MHC (Tab. 3.11).

LEW.1AR1- <i>iddm</i>	Marker	Mensch	Maus	Kandidatengene
<i>Iddm8</i>	<i>D1Rat496</i>	<i>IDDM17</i>	MMU19D2	<i>Casp7</i> : h, m
RNO1q51-55 243-264Mb	<i>D1Ztm3</i>	HSA10q25		<i>Nkx2-3</i> : h, m <i>Ins1</i> : m
<i>Iddm9</i>	<i>D1Rat229</i>	<i>IDDM5</i>	MMU17A2	<i>Sod2</i> : h, m
RNO1p11-12 17-34Mb	<i>D1Mit10</i>	<i>IDDM8</i> HSA6q25-27		
<i>Iddm1</i>	<i>D20Wox15</i>	<i>IDDM1</i>	<i>Idd1</i>	MHC: h, m
RNO20p12 2-11Mb	<i>D20Ztm1</i>	HSA6p21.3	MMU17B2	<i>Aire</i>

Tab. 3.11 Homologe Bereiche der Diabetessuszeptibilitätsloci der LEW.1AR1-*iddm* Ratte zeigen *IDDM* Gene des Menschen und der Maus.

Der Vergleich zwischen den Spezies wurde mit Hilfe von Internetdatenbanken durchgeführt. Die ausgewählten Kandidatengene in den Suszeptibilitätsregionen der LEW.1AR1-*iddm* Ratte konnten in den entsprechenden chromosomalen Regionen des humanen (h) und/oder murinen (m) Genoms lokalisiert werden.

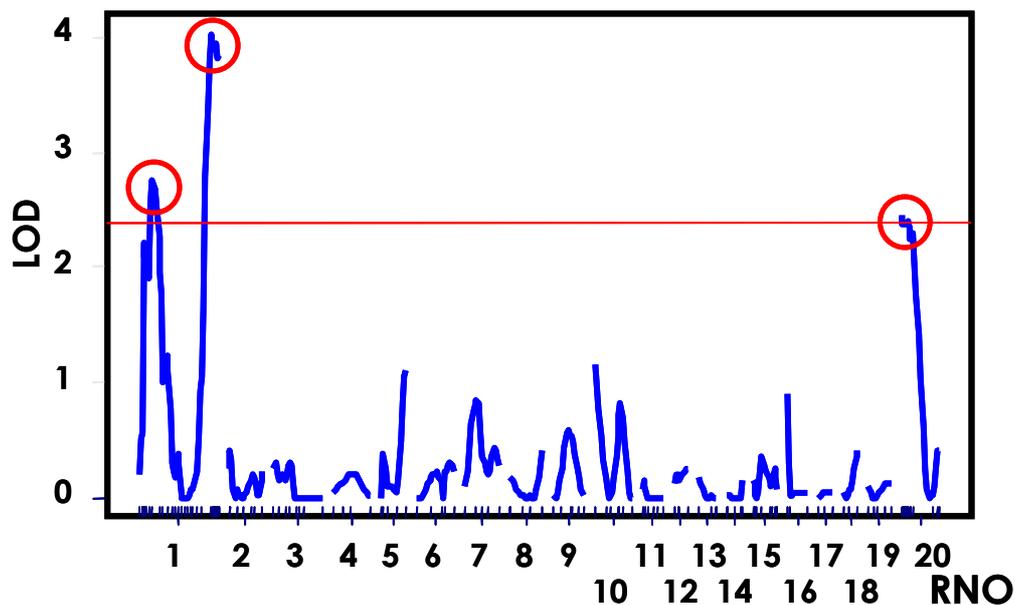


Abb. 3.14 Ergebnis der genomweiten Analyse nach Diabetessuszeptibilitätsregionen der LEW.1AR1-*iddm* Ratte.

Die genomische DNA von 218 [(BN x LEW.1AR1-*iddm*) F1 x LEW.1AR1-*iddm*] N2 Tieren wurde mit den in Tab. 2.3 beschriebenen polymorphen Mikrosatellitenmarkern analysiert. Der LOD Score der Diabetessuszeptibilitätsregionen wurde mit dem R/qtl Programm ermittelt. Ein LOD Score von > 2.3 wurde mittels Permutationstest als Signifikanzgrenze für die Assoziation zum Diabetes mellitus festgelegt (rote Linie).

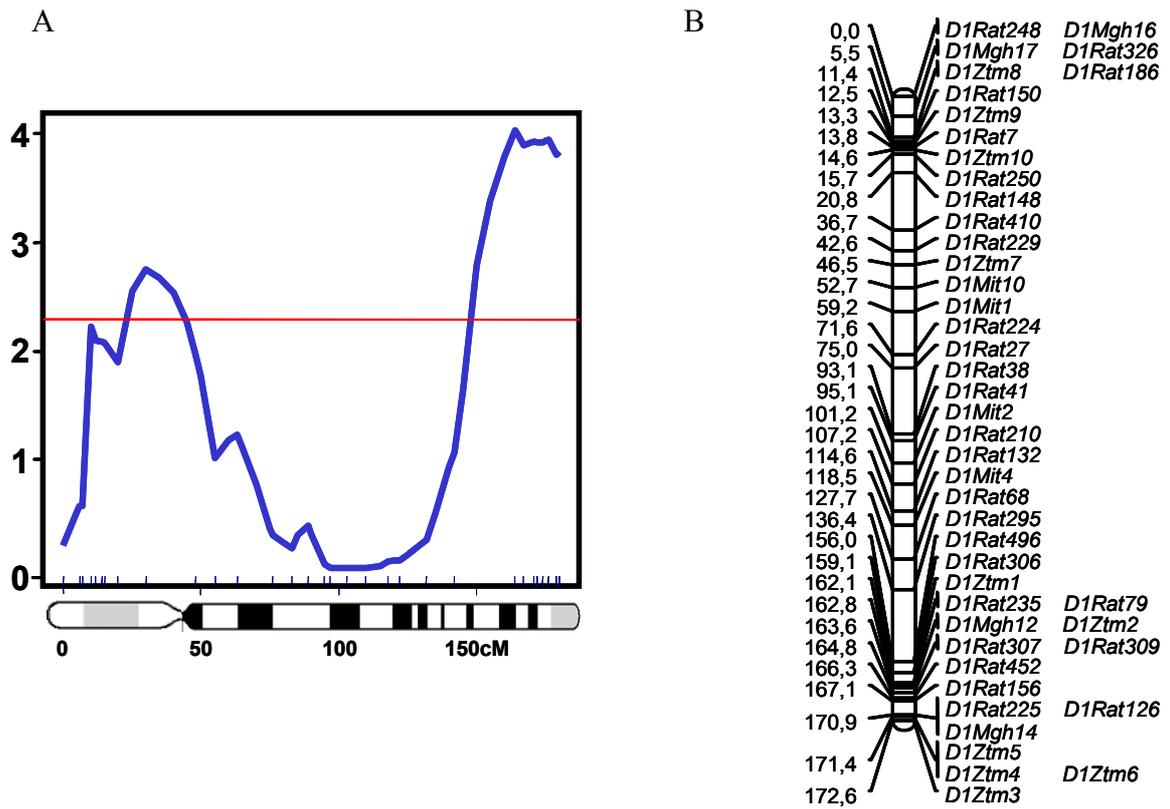


Abb. 3.15 Karte von Rattenchromosom (RNO) 1 mit den Positionen der Diabetes-suszeptibilitätsloci der LEW.1AR1-iddm Ratte

A: Die LOD Scores der Diabetes-suszeptibilitätsregionen wurde mit dem R/qlt Programm ermittelt.

B: Polymorphe Mikrosatellitenmarker wurden für die Ermittlung der LOD Scores verwendet.

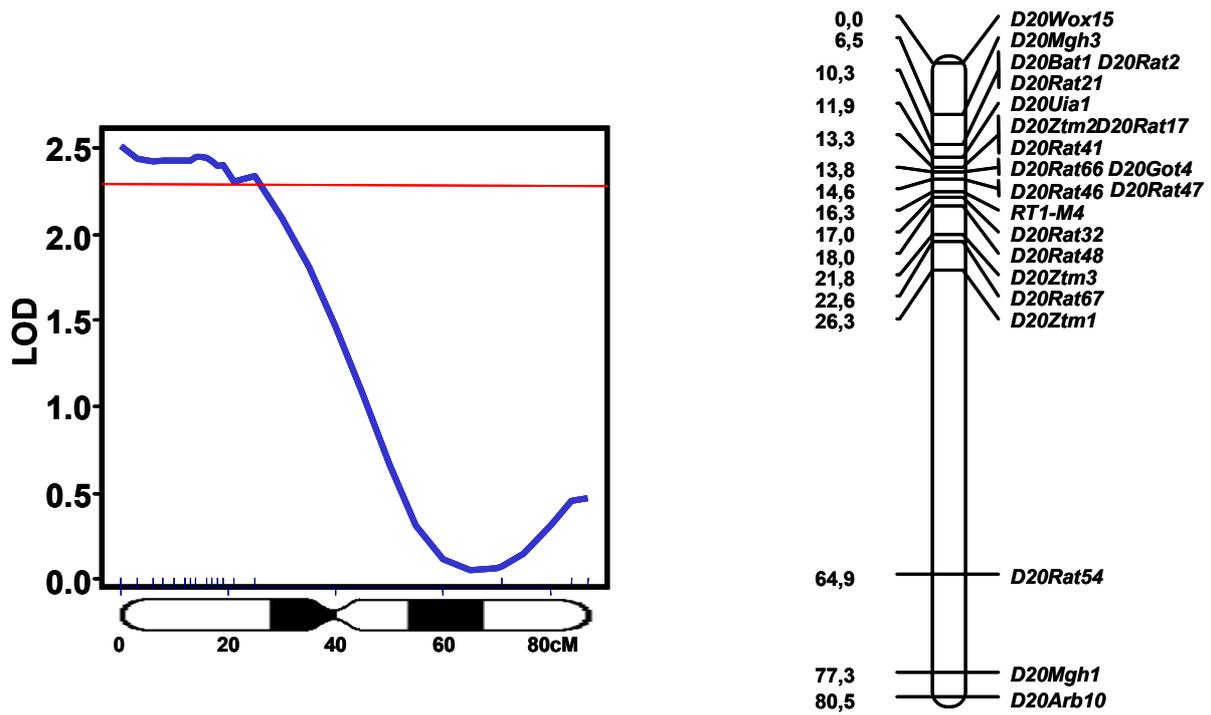


Abb. 3.16 Karte von Rattenchromosom (RNO) 20 mit der Position des Diabetes-suszeptibilitätslocus der LEW.1AR1-iddm Ratte

A: Die LOD Scores der Diabetessuszeptibilitätsregion wurde mit dem R/qtl Programm ermittelt.

B: Polymorphe Mikrosatellitenmarker wurden für die Ermittlung der LOD Scores verwendet.

Gen	GenBank Nr.	Funktion
<i>Nkx2-3</i>	über Maus Blast AF202036	-Homeobox Gen, Transkriptionsfaktor, -induziert MAdCAM Expression -kontrolliert die Darmentwicklung und die - Formierung der Peyerschen Plaques -kontrolliert die Milzentwicklung (Pabst <i>et al.</i> 1997; Pabst <i>et al.</i> 1999; Pabst <i>et al.</i> 2000a; Pabst <i>et al.</i> 2000b)
<i>Ins1</i> Insulin 1	NM_019129	„innere Reserve“ für das Insulingen (Leroux <i>et al.</i> 2001), mögliches Autoantigen
<i>Tctex-1</i> T-Complex testis exprimiert	NM_031318	Dynein Leicht Kette Protein, beeinflusst die Spermatogenese (Ha <i>et al.</i> 1991)
<i>Pde7b</i> Phosphodiesterase 7b	NM_08094	cAMP spezifische Phosphodiesterase, beeinflusst die Neuralaktivität (Sasaki <i>et al.</i> 2000)
<i>Nkx2-2</i>	über Maus Blast NM_010919	Homeobox Gen, Transkriptionsfaktor, kontrolliert die Pankreasentwicklung (Sussel <i>et al.</i> 1998)
<i>MAdCAM-1</i> endotheliales Addressin (mucosal vascular addressin cell adhesion molecule 1)	NM_019317	kontrolliert die Verteilung von Lymphozyten in die Milz und das mucosaassoziierte Lymphgewebe (Pabst <i>et al.</i> 2000a)
<i>Tnf-α</i> Tumornekrosefaktor α	AF329987	ist ein potenter para- und endokriner Mediator von inflammatorischen und immunologischen Funktionen (Fitzgerald <i>et al.</i> 2001)
<i>Bak-1</i> Bcl-2 Antagonist-Killer	NM_053812	proapoptotische Funktion (Krajewski <i>et al.</i> 1996)
<i>Aire-1</i> Autoimmunregulatorisches Gen	über Maus Blast AJ0077	Transkriptionsfaktor, der Autoimmunität durch die Förderung der Expression von peripheren Antigenen im Thymus verhindert (Anderson <i>et al.</i> 2002)

Tab. 3.12 Durch neue Mikrosatelliten untersuchte Kandidatengene für den Diabetes mellitus Typ 1 der LEW.1AR1-*iddm* Ratte.

Aufgeführt sind der Name des Gens, die Abkürzung, die GenBank Nummer, unter der die verwendete Sequenz gefunden wurde und stichpunktartig die Funktion des Gens.

3.4.4 Physikalische Kartierung der eingesetzten Mikrosatelliten mittels Internetdatenbanken

Um nicht nur eine stammbezogene, genetische Kartierung der Chromosomen 1 und 20 zu erhalten (Abb. 3.16B; Abb. 3.15B), wurden die eingesetzten Mikrosatellitenmarker in den Datenbanken *Ensembl* und *UCSC* auf ihre physikalische Kartierung hin untersucht. Marker, die noch nicht physikalisch kartiert waren, wurden mittels des BLAST Programms in das Genom der Ratte kartiert. Die physikalische Kartierung der Ergebnisse zeigte gute Übereinstimmungen mit den vorher durchgeführten genetischen Kartierungen (Abb. 3.17 und Abb. 3.18). Die Ergebnisse zeigen, bis auf die Marker *D1Rat79*, *D1Mit10*, *D1Mit4* und *D20Rat48* den Stand der Datenbanken *UCSC* und *Ensembl* von Juni 2003. Die erwähnten Marker entsprechen in der Kartierung dem Stand von Januar 2003, sie tauchen in der Kartierung vom Juni nicht mehr auf.

RNO1

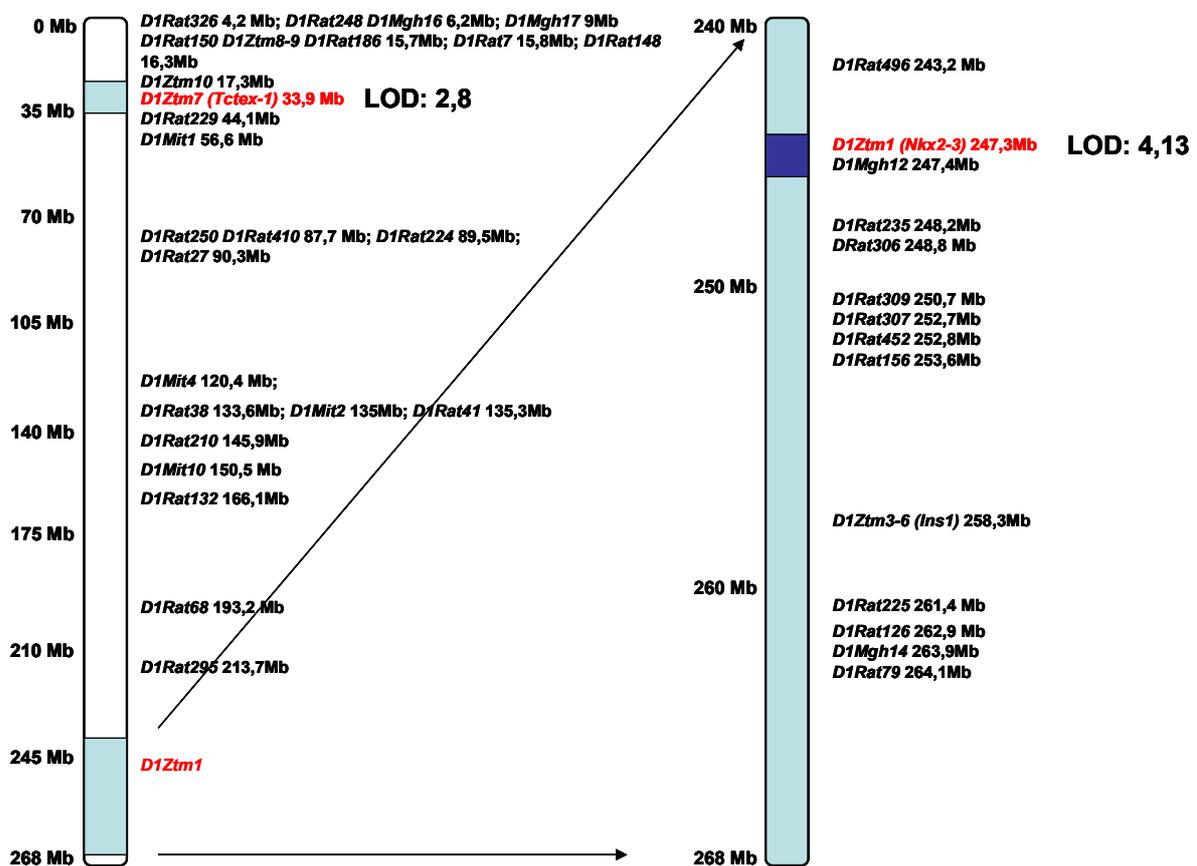


Abb. 3.17 Physikalische Kartierung der eingesetzten Mikrosatellitenmarker auf RNO1.

Rot markiert sind die Marker mit den höchsten LOD Scores (*D1Ztm7*: 2,8; *D1Ztm1*: 4,13) auf RNO1. Die Suszeptibilitätsregionen mit signifikanten LOD Scores über 2,3 sind blau unterlegt. Die Kartierung erfolgte mittels Internetdatenbanken, in der entweder die bereits kartierten Marker zu finden waren oder die Markersequenzen mittels des BLAST Programms kartiert wurden.

RNO20

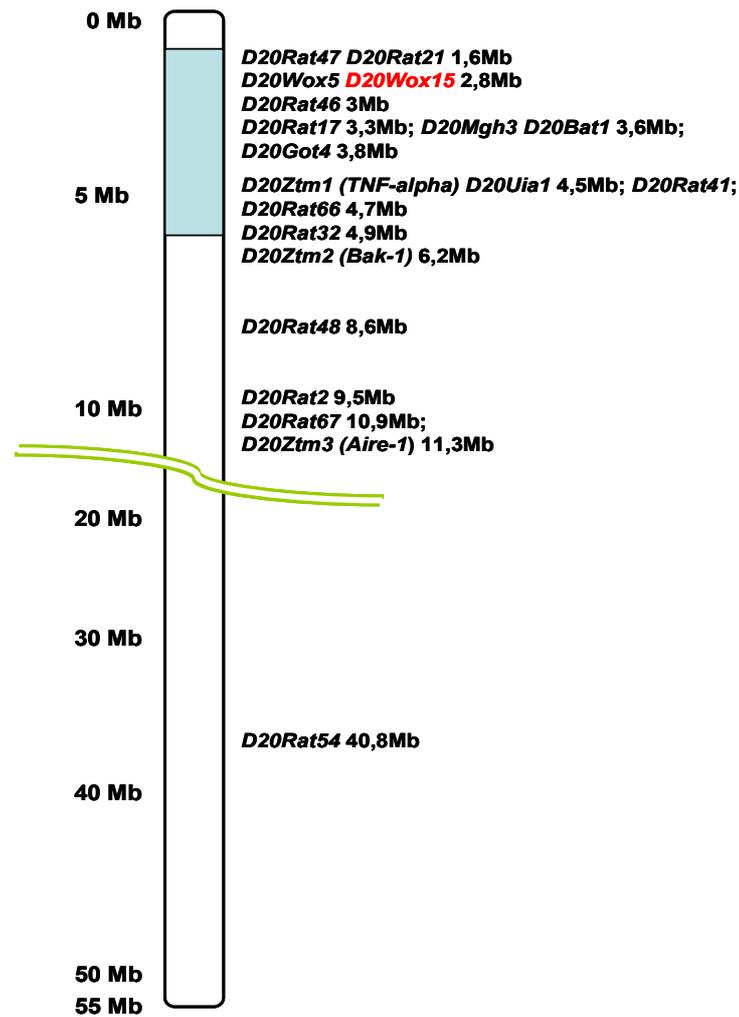


Abb. 3.18 Physikalische Kartierung der eingesetzten Mikrosatellitenmarker auf RNO20.

Rot markiert ist der Marker mit dem höchsten LOD Score (*D20Wox15*: 2,97) auf RNO20. Die Suszeptibilitätsregionen mit signifikanten LOD Scores über 2,3 sind blau unterlegt. Die Kartierung erfolgte mittels Internetdatenbanken, in der entweder die bereits kartierten Marker zu finden waren oder die Markersequenzen mittels des BLAST Programms kartiert wurden.

Das Ziel der physikalischen Kartierung war die genaue Bestimmung der Position der Marker im Genom der Ratte. Aufgrund der fast vollständigen Sequenzierung des Rattengenoms können nun gezielt weitere Mikrosatellitenmarker aus den genomischen Datenbanken entnommen werden, die eine noch feinere Kartierung des Suszeptibilitätsbereiches erlauben.

3.5 Immunologische Untersuchungen der LEW.1AR1-*iddm* Ratte

Um einen Einblick in die Pathogenese des Autoimmundiabetes der LEW.1AR1-*iddm* Ratte zu erhalten, wurde zum einen untersucht, wie sich die Inzidenz verändert, wenn das Immunsystem der Tiere mittels des viralen Mimetikums Poly I:C stimuliert wurde, zum anderen wurde versucht, die Autoimmunhypothese mittels adoptiven Transfers Concanavalin (ConA) stimulierter Immunzellen diabetischer LEW.1AR1-*iddm* Tiere zu bestätigen.

3.5.1 Diabetesinduktion durch adoptiven Transfer von ConA stimulierten Lymphozyten

Durch den adoptiven Transfer ConA stimulierter Lymphozyten sollte die Autoimmunhypothese des T1DM der LEW.1AR1-*iddm* Ratte verifiziert werden. Die Übertragbarkeit der Erkrankung mittels Immunzellen ist ein eindeutiges Indiz für eine Autoimmungeneese der Erkrankung.

3.5.1.1 Effekte ConA stimulierter Lymphozyten auf die Induzierbarkeit des Diabetes mellitus Typ 1 und das Manifestationsalter von LEW.1AR1-*iddm* und LEW.1AR1 Ratten

Bei der Übertragung von ConA aktivierten Lymphozyten diabetischer LEW.1AR1-*iddm* Spendertiere auf prädiabetische LEW.1AR1-*iddm* Empfängertiere konnte die Diabetesinzidenz signifikant von 30 % (Tab. 3.13, Zeile 1) auf 61 % erhöht werden (Tab. 3.13, Zeile 1). Auch das Manifestationsalter erhöhte sich signifikant auf 75 Tage (Tab. 3.13, Zeile 1). ConA stimulierte Lymphozyten diabetischer LEW.1AR1-*iddm* Spendertiere waren jedoch nicht in der Lage, Diabetes in LEW.1AR1 Empfängertieren zu induzieren.

Beim Transfer ConA aktivierter Lymphozyten gesunder, nicht diabetischer LEW.1AR1 Tiere konnten keine signifikanten Effekte auf die Diabetesinzidenz nicht diabetischer LEW.1AR1-*iddm* Empfängertiere der I0 Kolonie entdeckt werden (Tab. 3.13, Zeile 3). Das Alter bei Diabetesmanifestation (Tab. 3.13, Zeile 3) veränderte sich im Vergleich mit der LEW.1AR1-*iddm* Kontrollgruppe (Tab. 3.13, Zeile 1) nicht signifikant. Wurde dieser Transfer mit 10×10^6 ConA stimulierten Lymphozyten in Tiere mit dem Züchtungsmodus I1 mit einer erwarteten Diabetesinzidenz von 60 % appliziert, konnte die Inzidenz von 60 % auf 20 % reduziert werden (Tab. 3.13, Zeile 5, 6)

	Donor	Rezipient	Anzahl der Tiere	Diabetes Inzidenz	Manifestationsalter (Tage)	Zeit bis Manifestation (Tage)
1	diabetische LEW.1AR1- <i>iddm</i>	nicht diabetische LEW.1AR1- <i>iddm</i>	33	20/33* (61 %)	75 ± 5*	44 ± 5
2	diabetische LEW.1AR1- <i>iddm</i>	nicht diabetische LEW.1AR1	10	0	n.d.	n.d.
3	nicht diabetischer LEW.1AR1 Hintergrund	nicht diabetische LEW.1AR1- <i>iddm</i> (I0)	23	7/23 (30 %)	65 ± 4	38 ± 5
4	diabetische LEW.1AR1- <i>iddm</i>	nicht diabetische LEW.1AR1- <i>Whn^{mu}</i>	15	15/15 (100%)	127 ± 11	58 ± 5
5	keiner	nicht diabetische LEW.1AR1- <i>iddm</i> (I1)	25	15/25 (60%)	56 ± 1	n.d.
6	nicht diabetischer LEW.1AR1 Hintergrund	nicht diabetische LEW.1AR1- <i>iddm</i> (I1)	25	5/25 [#] (20%)	63 ± 6	32 ± 6

Tab. 3.13 Effekte ConA stimulierter Lymphozyten auf die Induzierbarkeit von Diabetes und das Manifestationsalter beim LEW.1AR1-*iddm* und LEW.1AR1 Rattenstamm.

Die LEW.1AR1-*iddm* Ratten kamen aus der I0 Kolonie mit einer Diabetesinzidenz von 30 %, bzw. der I1 Kolonie die eine Diabetesinzidenz von 60 % aufweisen. Alle LEW.1AR1 und LEW.1AR1-*Whn^{mu}* Tiere entwickeln keinen spontanen Diabetes mellitus (siehe auch Tiere ohne Poly I:C Behandlung in Tab. 3.14. Das Alter der Donortiere war > 60 Tage, während alle Empfängertiere zwischen 30 und 35 Tage alt waren. Nur die LEW.1AR1-*Whn^{mu}* Tiere waren zwischen 45 und 100 Tagen alt. Die Daten zeigen die Ergebnisse des adoptiven Transfers mit ConA stimulierten Lymphozyten. Alle LEW.1AR1-*iddm* Spendertiere waren diabetisch. LEW.1AR1-*iddm* Empfängertiere waren zum Zeitpunkt des Transfers nicht diabetisch. Ca. 7.5×10^6 ConA stimulierte Lymphozyten wurden den Tieren i.v. appliziert, alle I1 Tiere erhielten 10×10^6 ConA stimulierte Lymphozyten. Athymische LEW.1AR1-*Whn^{mu}* Ratten (Zeile 4) erhielten zwischen 4 und 44×10^6 Zellen. Nach dem adoptiven Transfer wurde der Blutglucosespiegel der Empfängertiere 3 x wöchentlich gemessen. Das Alter und die Zeitspanne zwischen Transfer und Manifestation sind als Mittelwerte ± SEM angegeben. *p < 0.05 im Vergleich zu nicht lymphozytentransferierten Tieren (Zeile 1). #p < 0.05 im Vergleich zu nicht lymphozytentransferierten Tieren (Zeile 5).

3.5.1.2 Effekte ConA stimulierter Lymphozyten auf die Induzierbarkeit des Diabetes mellitus Typ 1 und das Manifestationsalter in immundefizienten, athymischen LEW.1AR1-*Whn^{nu}* Ratten

Um den Effekt des adoptiven Transfers auf ein defektes zelluläres Immunsystem zu testen wurden Lymphozyten auf athymische Empfängertiere übertragen. Alle LEW.1AR1-*Whn^{nu}* Tiere erkrankten unabhängig von der Anzahl übertragener Zellen ($4 - 44 \times 10^6$ Zellen) und des Alters (37 – 181 Tage) bei Transfer. Die Dauer bis zum Ausbruch der Erkrankung betrug ungefähr 58 Tage (Tab. 3.13, Zeile 4). Diese Daten unterstreichen das autoaggressive Potential der T-Zellen von LEW.1AR1-*iddm* Ratten, die sehr rasch eine Insulitis bei Empfängertieren mit einem defekten Immunsystem induzieren konnten.

3.5.2 *Diabetesentwicklung durch i.p. Applikation von Poly I:C (Polyinositol-Polycytidylsäure) – Effekte auf die Induzierbarkeit des Diabetes mellitus Typ 1 und das Manifestationsalter verschiedener Rattenstämme*

Durch die Stimulation mit dem viralen Mimetikum Poly I:C sollten die Induzierbarkeit des diabetischen Syndroms und die mögliche Veränderung des Manifestationsalters bei Tieren des LEW.1AR1-*iddm* Stammes, des LEW.1AR1 und des LEW.1WR1 Stammes untersucht werden.

Alle LEW.1AR1-*iddm* Tiere kamen aus einer Kolonie mit einer Diabetesinzidenz von 30 % (Tab. 3.14, Zeile 1). Wurden die LEW.1AR1-*iddm* Tiere vor Diabetesmanifestation über 5 Tage (Alter: 30-35 Tage) mit Poly I:C behandelt, waren keine Veränderungen in der Inzidenz zu erkennen (Tab. 3.14, Zeile 2). Das Manifestationsalter stieg jedoch signifikant an, wenn ein 10 tägiges Behandlungsintervall mit Poly I:C durchgeführt wurde (Tab. 3.14, Zeile 2). Zum Vergleich wurden ausserdem Tiere des LEW.1AR1 (*A^u/B^u/D^u/C^u*) Hintergrundstammes und des intra-MHC rekombinanten, congenen Stammes LEW.1WR1 untersucht. Ohne Poly I:C Behandlung erkrankte kein Tier dieser beiden Stämme spontan an Diabetes, wobei hier die Ergebnisse der Arbeit von Ellerman und Like im Bezug auf den LEW.1WR1 Stamm bestätigt werden konnten (Ellerman & Like 2000) (Tab. 3.14, Zeile 3, 5).

3.5.2.1 Diabetesinduktion durch Poly I:C beim LEW.1AR1 Stamm

Nach einer 10 tägigen Behandlung mit Poly I:C (7,5µg/g KG) wurden 20 % der LEW.1AR1 Tiere diabetisch (Tab. 3.14, Zeile 4). Die Zeit bis zur Manifestation betrug im Mittel 55 Tage, dann waren die Tiere im Durchschnitt 80 Tage alt.

Gruppen Nr.	Ratten Stamm	Tierzahl	Poly I:C Behandlung	Diabetes Inzidenz	Manifestationsalter (Tage)	Tage bis Manifestation
1	nicht diabetische LEW.1AR1- <i>iddm</i>	20	Keine	6/20 (30 %)	56 ± 1	n.d.
2	nicht diabetische LEW.1AR1- <i>iddm</i>	10	10 Tage	2/10 (20 %)	96 ± 1 ^{##}	65 ± 1
3	nicht diabetische LEW.1AR1	15	Keine	0/15 (0 %)	n.d.	n.d.
4	nicht diabetische LEW.1AR1	10	10 Tage	2/10 (20 %)	80 ± 1	55 ± 1
5	nicht diabetische LEW.1WR1	20	Keine	0/20 (0 %)	n.d.	n.d.
6	nicht diabetische LEW.1WR1	10	10 Tage	8/10 ^{**} (80 %)	46 ± 1	14 ± 1

Tab. 3.14 Effekte der Poly I:C Behandlung auf die Induzierbarkeit von Diabetes und auf das Manifestationsalter bei LEW.1AR1-*iddm*, LEW.1AR1 und LEW.1WR1 Ratten.

Alle LEW.1AR1-*iddm* Ratten stammten aus einer Kolonie mit einer Diabetesinzidenz von 30 %, während Tiere des LEW.1AR1 Hintergrundstammes und des LEW.1WR1 Stammes keinen spontanen T1DM entwickeln. Die Poly I:C Behandlung erfolgte an 2 x 5 Tagen (7,5 µg/g KG i.p.). Die Blutglucosebestimmung erfolgte 3 x wöchentlich. Das Manifestationsalter und der Zeitraum bis Manifestation sind als Mittelwerte (MW) ± Standardfehler (SEM) angegeben. Die Auswertung erfolgte mit dem Students t-test wobei ^{**}p < 0,01 im Vergleich mit nichtbehandelten Tieren und ^{##}p < 0,01 im Vergleich mit Tieren, die nicht mit Poly I:C behandelt wurden.

3.5.2.2 Diabetesinduktion durch Poly I:C beim LEW.1WR1 Stamm

Im MHC congenen LEW.1WR1 Rattenstamm konnte durch Poly I:C nach einem 10 tägigen Behandlungszeitraum eine Inzidenz von 80 % erreicht werden. Im Gegensatz zum LEW.1AR1 Stamm trat der Diabetes bereits 14 Tage nach der Poly I:C Behandlung auf (Tab. 3.14, Zeile 2).

3.6 Analyse der Genexpression von Insulin und iNOS vor und nach Diabetesmanifestation mittels *Real Time PCR*

Das Ziel der Genexpressionsanalysen war es, die Expressionsunterschiede von Insulin und iNOS vor und nach der Manifestation des diabetischen Syndroms der LEW.1AR1-*iddm* Ratte zu untersuchen. Dafür wurde die Genexpression von Insulin und iNOS im Gesamtpankreas von 8 gesunden Kontrollen und 8 diabetischen Tieren gemessen und über die Expression von

β -Actin normalisiert. Dargestellt sind die Mittelwerte und der Standardfehler des Mittelwertes.

3.6.1 Veränderung der Genexpression von Insulin während der Diabetesmanifestation

In Abb. 3.19 kann man erkennen, dass die Insulinexpression mit dem Anstieg der Blutglucose abnimmt. Die hier gezeigten Werte sind gegen die β -Actin Expression normalisiert. Bei einem Blutglucosewert von mehr als 30 mmol/l ist die Insulingenexpression gegenüber gesunden Tieren mehr als tausendfach reduziert.

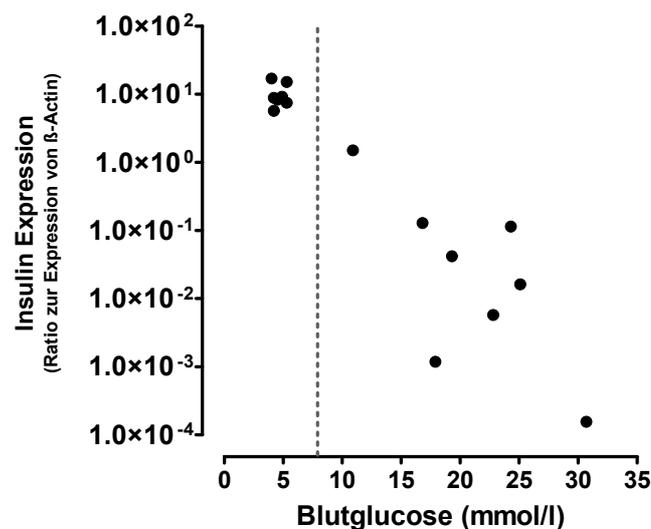


Abb. 3.19 Die Insulingenexpression im Pankreas von LEW.1AR1-*iddm* Ratten in Abhängigkeit von der Blutglucosekonzentration.

Der Anstieg der Blutglucosekonzentration ist stark mit der Reduktion der Insulinexpression assoziiert. Für die Untersuchung wurde ein Kollektiv gesunder LEW.1AR1-*iddm* Tiere, (links der gestrichelten Linie) mit einem Kollektiv diabetischer Tiere, (rechts von der gestrichelten Linie) die verschiedene, diabetische Blutglucosekonzentrationen zeigten, verglichen.

In Abb. 3.20 ist die Insulinexpression von gesunden Kontrollen und diabetischen LEW.1AR1-*iddm* Tieren dargestellt. Die Expressionswerte wurden im Vergleich zur β -Actinexpression normalisiert. Die Ergebnisse der Insulin-Genexpressionsanalyse zeigen, dass bei der LEW.1AR1-*iddm* Ratte innerhalb der ersten 24 Stunden der Diabeteserkrankung noch residuale, insulinproduzierende β -Zellen mit einer messbaren mRNA Expression vorhanden waren. Die Insulingenexpression zeigte mit Anstieg der Blutglucosekonzentrationen einen exponentiellen Abfall um 5 Zehnerpotenzen im Vergleich zur Expression von β -Actin. Interessanterweise bedeutet eine Zunahme der Blutglucosekonzentrationen von etwa 5 mmol/l eine um den Faktor 10 verringerte Insulingenexpression (Abb. 3.19). Die Insulingenexpression diabetischer Tiere (Blutglucosekonzentration > 7,5 mmol/l) war gegenüber nicht diabetischen Kontrolltieren um den Faktor 45 erniedrigt (Abb. 3.20).

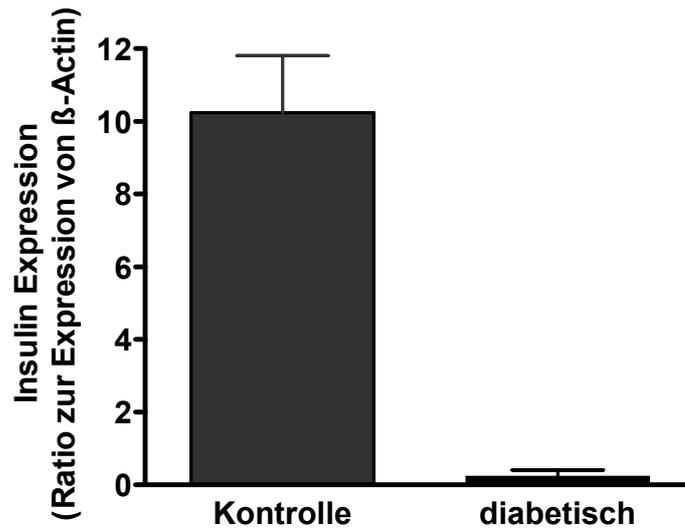


Abb. 3.20 Vergleich der Insulingenexpression zwischen nicht diabetischen Kontrolltieren und diabetischen Tieren.

Die Werte sind gegenüber der Expression von β -Actin abgeglichen. Die Insulingenexpression der diabetischen Tiere war kaum nachweisbar.

3.6.2 *Veränderung der iNOS Expression während der Diabetesmanifestation*

Abb. 3.21 zeigt die Veränderung der iNOS Expression in gesunden LEW.1AR1-*iddm* Kontrollen und bei der Diabetesmanifestation. Die Daten wurden gegenüber den Expressionsdaten von β -Actin normalisiert und zeigten bei den gesunden Tieren deutlich niedrigere Expressionsraten als bei den erkrankten Tieren.

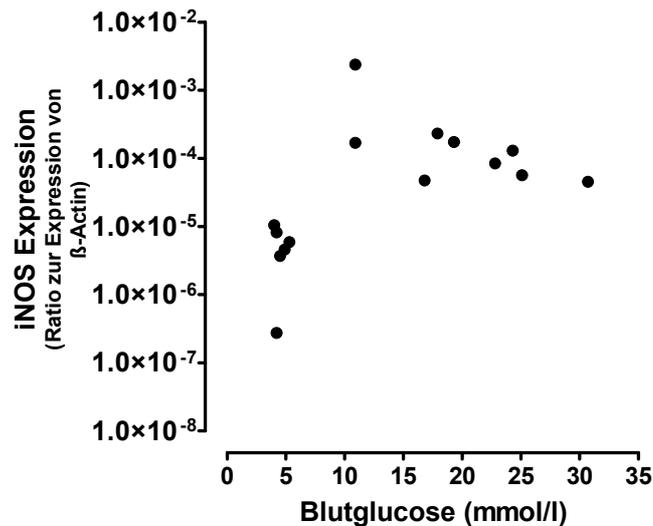


Abb. 3.21 Die iNOS Genexpression, in Abhängigkeit von der Blutglucosekonzentration.

Die Daten wurden gegenüber den β -Actin Expressionsdaten normalisiert. Die gesunden Tiere mit einer physiologischen Blutglucosekonzentration zeigten eine zehnfach geringere Expression von iNOS als die diabetischen Tiere.

Abb. 3.22 zeigt den Vergleich der iNOS Expression zwischen gesunden und diabetischen Tieren. Auch hier wurden die Daten bezogen auf die β -Actin Expression normalisiert. Während die Expression von *iNOS* in den Kontrollen kaum nachweisbar war, waren sie in den Pankreata diabetischer Tiere um den Faktor 13 erhöht (Abb. 3.22).

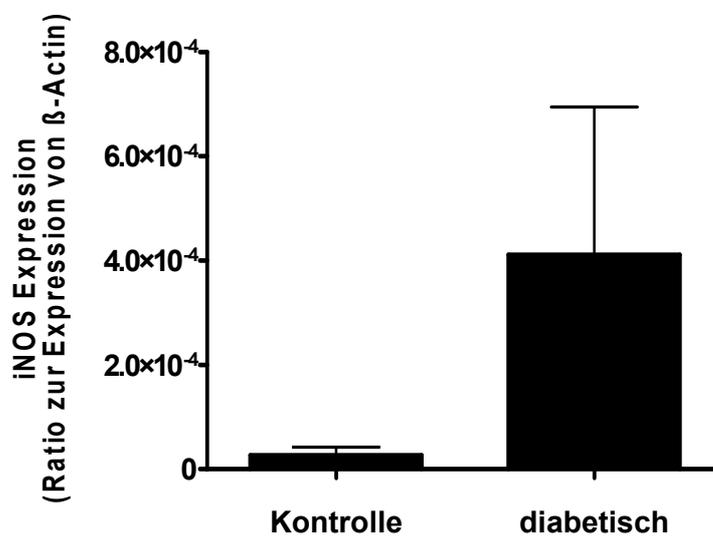


Abb. 3.22 Vergleich der *iNOS* Expression zwischen nicht diabetischen Kontrolltieren und diabetischen Tieren.

Die Daten wurden gegen β -Actin Expressionsdaten normalisiert. Die iNOS Expression der diabetischen Tiere war fast viermal so hoch wie die der gesunden Tiere.

4 Diskussion

Der Typ 1 Diabetes mellitus (T1DM) ist eine multifaktorielle Autoimmunerkrankung, bei der es zu einer vollständigen Zerstörung der β -Zellen der Pankreas kommt. Die Folge dieser Zerstörung erfordert eine lebenslange Substitution von Insulin und bedeutet ein hohes Risiko für die Entstehung von vaskulären Spätschäden, welche die Lebensqualität und –erwartung der Erkrankten deutlich verringern.

Die immunologischen Mechanismen der zellvermittelten Autoimmunität lassen sich am Patienten nur unzureichend untersuchen, da zum Zeitpunkt der Diagnosestellung bereits mehr als 90 % der β -Zellmasse zerstört ist. Hierdurch erklärt sich der hohe Stellenwert von Tiermodellen des T1DM für die Aufklärung der Pathomechanismen der Autoimmunzerstörung und der Beurteilung der genetischen Prädisposition. Mit der LEW.1AR1-*iddm* Ratte, die durch eine Spontanmutation entstanden ist, wird hier ein neues Tiermodell des T1DM vorgestellt, das auf stoffwechselphysiologische, genetische und immunologische Aspekte hin untersucht wurde und nun im Vergleich zum T1DM bei anderen Tiermodellen und des Menschen zu bewerten ist.

4.1 Vergleich der stoffwechselphysiologischen Parameter des Typ 1 Diabetes mellitus

Im Mittelpunkt der Stoffwechseluntersuchungen stand die Analyse der klinischen Symptome der LEW.1AR1-*iddm* Ratte.

Vergleicht man das durchschnittliche Manifestationsalter des Diabetes bei der LEW.1AR1-*iddm* Ratte mit anderen in der experimentellen Diabetologie verwendeten spontandiabetischen Tiermodellen (BB, KDP Ratte, NOD Maus), so fällt der genau bestimmbare und frühe Zeitpunkt der Diabetesmanifestation zu Beginn der Adoleszenz (Tag 56 ± 1) und der fulminante Verlauf der Krankheit, bei dem die Blutglucose innerhalb von drei bis fünf Tagen auf 20 bis 30 mmol/l ansteigt, auf. Auch beim Menschen manifestiert der T1DM hauptsächlich zu Beginn der Adoleszenz (Hürter & Lange 1997). Im Vergleich dazu manifestiert der T1DM der BB Ratte, abhängig vom Substamm zwischen Tag 60 und 100 (Crisa *et al.* 1992). Die Krankheit kann dabei ähnlich fulminant wie bei der LEW.1AR1-*iddm* Ratte oder protrahiert wie bei der NOD Maus verlaufen (Makino *et al.* 1980; Marliss *et al.* 1983). Der T1DM der KDP Ratte manifestiert zwischen Tag 100 und 120; Befunde zum zeitlichen Verlauf der Krankheit in KDP Ratten sind nicht beschrieben.

Die Diabetesinzidenz liegt bei LEW.1AR1-*iddm* Ratten je nach Verpaarungsmodus in konventioneller Tierhaltung stabil bei ca. 30 % oder ca. 60 % (Lenzen *et al.* 2001). Eine Geschlechtspräferenz war nicht festzustellen. Die Diabetesinzidenz der BB Ratten ist stark abhängig vom jeweiligen Substamm und kann unter konventionellen Haltungsbedingungen bis zu 90 % erreichen (Ramanathan & Poussier 2001), während 70 % der KDP Ratten im Alter von 120 Tagen diabetisch sind (Yokoi *et al.* 1997). Für die NOD Mäuse ist eine ausgeprägte Geschlechtspräferenz der Krankheit auffällig. Es erkrankten 70 % der Weibchen

aber nur 30 % der Männchen (Makino *et al.* 1980). Als besonders vorteilhaft erweist sich der frühe und gut reproduzierbare Manifestationszeitpunkt der LEW.1AR1-*iddm* Ratte für die Durchführung von immunologischen Experimenten, die auf die prädiabetische Phase fokussiert sind. Obwohl zu diesem Zeitpunkt die Mechanismen der β -Zellzerstörung am aktivsten sind, finden sich noch keinerlei Symptome des T1DM, was die genaue Bestimmung dieser Phase bisher nahezu unmöglich machte.

Im Hinblick auf weitere stoffwechselphysiologische Parameter zeichnen sich zwischen der LEW.1AR1-*iddm*, der BB und KDP Ratte Parallelen ab. So verlieren alle diabetischen Rattenmodelle, bedingt durch den absoluten Insulinmangel mit der daraus resultierenden polyurischen Dehydrierung (Abb. 3.10) und kachektischen Reduktion der Fettgewebedepots etwa 10 % ihres Körpergewichts (Abb. 3.9) in der ersten Woche nach Diabetesmanifestation (Nakhoda *et al.* 1977; Marliss *et al.* 1983; Kawano *et al.* 1991). Für die diabetische NOD Maus sind 16 % Gewichtseinbußen innerhalb von vier Wochen nach Manifestation der Krankheit beobachtet worden (Makino *et al.* 1980). Ein initialer Gewichtsverlust ist auch bei Diabetikern festzustellen, wobei der zeitliche Verlauf auf Grund einer sofortigen Insulinsubstitution nur schwer ermittelt werden kann (Hürter & Lange 1997).

Weitere Symptome des T1DM sind eine Polyurie und eine damit einhergehende Polydipsie zu Beginn der Diabetesmanifestation, die im Verlauf der Insulinsubstitution reversibel sind (Hürter & Lange 1997). Übereinstimmend korreliert bei diabetischen LEW.1AR1-*iddm*, BB und KDP Ratten die Zunahme der Trinkmenge mit der Zunahme der abgegebenen Harnmenge (Abb. 3.10Abb. 3.11). Bei den drei Rattenmodellen verzehnfacht sich die Harnmenge innerhalb kurzer Zeit nach Beginn der diabetischen Stoffwechsellage (Marliss *et al.* 1983; Kawano *et al.* 1991). Demgegenüber ist die abgegebene Harnmenge mit Beginn der Diabetesmanifestation bei NOD Mäusen sogar um den Faktor zwanzig erhöht (Makino *et al.* 1980).

Eine lebensbedrohliche Stoffwechselveränderung bei Diabetikern ist die Ketoazidose, die nicht bei allen Patienten auftreten muss. Auch bei einigen diabetischen LEW.1AR1-*iddm* Ratten treten mit einer Verzögerung von zwei bis drei Tagen nach Diabetesmanifestation Ketonkörper im Harn auf (Abb. 3.13). Es zeigt sich, dass Tiere mit Ketoazidose eine kürzere Überlebensdauer aufweisen, als Tiere ohne Ketoazidose. Dieses Phänomen wird auch bei der BB Ratte, der KDP Ratte und der NOD Maus mit schwerem Insulinmangel beschrieben (Makino *et al.* 1980; Marliss *et al.* 1983; Kawano *et al.* 1991). Allerdings ist bei den NOD Mäusen eine Geschlechtspräferenz hinsichtlich der Ketoazidose zu beobachten. Etwa 70 % der weiblichen Tiere zeigen vier Wochen nach Diabetesmanifestation eine Ketoazidose während die männlichen diabetischen Tiere keine Ketoazidose entwickeln. (Makino *et al.* 1980).

Wahrscheinlich ist die Entwicklung der Ketoazidose bei LEW.1AR1-*iddm* Ratten eher von Umweltfaktoren als von einer genetischen Komponente abhängig. Dies würde erklären,

warum der Versuch die ketoazidotischen und nicht ketoazidotischen LEW.1AR1-*iddm* Ratten durch kontrollierte Zucht zu trennen und zu fixieren nicht gelungen ist. Das Ausbleiben der Ketoazidose könnte mit einer geringen residualen Insulinsekretion gekoppelt sein, wie sie vor allem bei älteren Patienten beobachtet wird. Bei diesen T1DM Patienten steht durch die protrahierte Zerstörung der β -Zellmasse und der sekretorischen Restfunktion die ketoazidotische Stoffwechsellage nicht im Vordergrund (Karjalainen *et al.* 1989). Das Verständnis der Entwicklung einer Ketoazidose in Beziehung zur β -Zellzerstörung eröffnet die Möglichkeit, die Ausbildung dieser Stoffwechselkomplikation zu verhindern und somit die Mortalität des T1DM beim Menschen zu verringern.

4.2 Die genetische Analyse zeigt neue Diabetessuszeptibilitätsregionen im Genom der LEW.1AR1-*iddm* Ratte

Der T1DM ist eine multifaktorielle Erkrankung mit polygenetischem Hintergrund (Pickup & Williams 2003). Seit Beginn der genetischen Analyse dieser Erkrankung sind im Genom von Mensch, Ratte und Maus zahlreiche prädisponierende Loci kartiert worden. Für die 24 beschriebenen *IDDM* Loci des Menschen konnten bisher nur fünf Kandidatengene identifiziert werden, bei denen sich eine unmittelbare Beteiligung an der Pathogenese des T1DM vermuten lässt. Die NOD Maus gehört zu den am besten untersuchten Tiermodellen des spontanen T1DM. Bisher sind 28 suszeptibilitätsvermittelnde Bereiche im Genom der NOD Maus gefunden worden, wobei für acht Bereiche Kandidatengene diskutiert werden. In der Ratte wurden bislang mit Hilfe der T1DM Modelle BB und KDP zehn Diabetessuszeptibilitätsregionen identifiziert die in der folgenden Tabelle aufgelistet sind (s. Tab. 4.1). In der LEW.1AR1-*iddm* Ratte konnten nun zusätzlich die Loci *Iddm8* und *Iddm9* identifiziert werden, die im Gegensatz zu den bekannten *Iddm*-Loci der Ratte und den *Idd*-Loci der Maus Homologien zu beschriebenen *IDDM*-Loci des Menschen aufweisen. Die einzige bekannte genetische Komponente, die gleichermaßen bei Mensch, Maus und Ratte an der Pathogenese des T1DM beteiligt ist, ist der Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC), der als *IDDM1/Idd1/Iddm1* beschrieben wird.

Rattenstamm	Suszeptibilitätsregion (RNO)	Gen / Kandidatengen
LEW.1AR1- <i>iddm</i> ; BB; KDP	<i>Iddm1</i> (RNO20) (ursprünglich als <i>Iddm2</i> bezeichnet)	RT1-B ^u /D ^u
	<i>Iddm2 – Lyp</i> (RNO4)	<i>Ian5</i> / <i>Ian411</i> (Hornum <i>et al.</i> 2002; MacMurray <i>et al.</i> 2002)
BB Ratte	<i>Iddm3</i> (RNO18)	<i>Olf</i>
	<i>Iddm3r</i> (RNO2)	
	<i>Iddm4 – Iddm11</i> (RNO6)	
	<i>Iddm4</i> (RNO4)	<i>Npy</i>
	<i>Iddm5</i> (RNO13)	
	<i>Iddm5r</i> (RNO1)	<i>Igf2</i>
LEW.1AR1- <i>iddm</i>	<i>Iddm8</i> (RNO1)	<i>Nkx2-3</i> ; <i>Ins1</i> ; <i>Casp7</i>
	<i>Iddm9</i> (RNO1)	<i>Sod2</i> ;
KDP Ratte	<i>Iddm / Kdp1</i> (RNO11)	<i>Cblb</i> (Yokoi <i>et al.</i> 2002)

Tab. 4.1 Diabetessuszeptibilitätsregionen, identifizierte Mutationen (Gene) und Kandidatengene der drei Rattenmodelle LEW.1AR1-*iddm*, BB und KDP

Alle drei T1DM Rattenmodelle sind durch eine spontane Mutation, die für die Diabetesentstehung verantwortlich ist, entstanden. Für die beiden T1DM Modelle BB und KDP Ratte ist die jeweilige Mutation identifiziert worden (MacMurray *et al.* 2002; Yokoi *et al.* 2002). Voraussetzung für den T1DM in der BB Ratte ist eine Lymphopenie in Folge einer spontanen Mutation auf RNO4. Die Mutation wurde als *Lyp* Locus kartiert und das Gen kürzlich identifiziert (Jacob *et al.* 1992; Hornum *et al.* 2002; MacMurray *et al.* 2002). Eine Basendeletion an Position 478 der kodierenden Sequenz eines Gens der *Ian* (*Immune*

associated nucleotide) Familie führt zu einer Leserasterverschiebung und somit zu einem defekten Genprodukt (MacMurray *et al.* 2002). Bei dem Genprodukt handelt es sich um ein Membranprotein der äusseren Mitochondrienmembran, das GTP-Bindungsaktivität besitzt. Die Abwesenheit von Ian führt zu mitochondrialer Dysfunktion und einer erhöhten, T-zellspezifischen Apoptoserate, die in der Lymphopenie resultiert (Pandarpurkar *et al.* 2003). Noch ungeklärt ist die genaue Bezeichnung des mutierten Gens, während es von der Gruppe um MacMurray als *Ian5* bezeichnet wird (MacMurray *et al.* 2002), findet sich in der Arbeitsgruppe von Hornum die Bezeichnung *Ian411* (Hornum *et al.* 2002).

Die Mutation, die für die Diabetesentstehung der KDP Ratte verantwortlich ist konnte als *Kdp1* Locus auf RNO11 kartiert werden. Eine Basensubstitution an Position 455 der kodierenden Sequenz des Gens *Cblb* hat ein Stopcodon zur Folge. *Cblb* ist Mitglied in einer Familie von Ubiquitin-Protein Ligasen, und hat einen grossen Einfluss auf die T-Zellaktivierung (Yokoi *et al.* 2002).

Trotz der unterschiedlichen Mutationen findet sich bei BB und KDP Ratte eine Gemeinsamkeit. Beide Mutationen lösen eine generalisierte Autoimmunität aus, die sich zusätzlich zum T1DM in extrapancreatischen, lymphozytären Infiltrationen, z. B. in Schilddrüse, Niere oder Speicheldrüsen zeigt (Kawano *et al.* 1991; Mordes *et al.* 2001). Vor dem genetischen Hintergrund der LEW.1AR1 Ratte führt die Mutation der LEW.1AR1-*iddm* Ratte einzig zu einer fokalen Infiltration der insulinproduzierenden β -Zellen, andere Gewebe sind nicht betroffen. Im Folgenden werden die identifizierten *Iddm* Loci der LEW.1AR1-*iddm* Ratte als mögliche Orte der Mutation diskutiert.

4.2.1 Die *Iddm1* Region als Suszeptibilitätsregion für den T1DM der LEW.1AR1-*iddm* Ratte

Die Ergebnisse der Kopplungsanalyse (Abb. 3.16Abb. 3.15) und der physikalischen Kartierung (Abb. 3.18) weisen auf eine Assoziation zwischen dem MHC der LEW.1AR1-*iddm* Ratte ($RT1^{r2}$) und der Pathogenese des T1DM hin. Der Haupthistokompatibilitätskomplex spielt bei der Pathogenese von vielen Autoimmunerkrankungen des Menschen und entsprechender Tiermodelle eine wichtige Rolle. So sind beim Menschen bestimmte Allele der MHC Klasse II sowohl mit der Entstehung (*IDDM1*: HLA-DRB1*03.DQ2 und 04.DQ8) (Herr *et al.* 2000), als auch dem Schutz (HLA-DQ6) (Pickup & Williams 2003) vor T1DM assoziiert. Der diabetespermissive MHC Haplotyp der Maus ist $H2^{g7}$, der nur in NOD Mäusen exprimiert wird (Kikutani & Makino 1992). Die diabetessuszeptiblen Rattenmodelle exprimieren in der MHC Klasse II (RT1-B/D) den *u*-Haplotypen (Günther *et al.* 1991; Ellerman & Like 2000). Die pathogenetische Bedeutung des MHCs im T1DM ist noch nicht aufgeklärt.

Eine Prädisposition zum T1DM wird beim Menschen beobachtet, wenn in der HLA-DQB β -Kette an Position 57 in der B1 Domäne anstatt eines negativ geladenen Aspartatrestes ein ungeladener Serin-, Valin-, oder Alaninrest exprimiert wird (Sato *et al.* 1999; Ettinger *et al.*

2000). Das gleiche Phänomen wird für die H2Ab Kette der NOD Maus beschrieben, die an Position 57 einen Serinrest exprimiert. Sequenzvergleiche mehrerer Inzuchtrattenstämme, unter anderem mit BB-DP, LEW.1AR1 und LEW.1AR1-*iddm*, haben ergeben, dass an Position 57 der b1 Domäne der RT1-Bb^u Proteinkette ebenfalls ein Serinrest exprimiert wird (D.Wedekind, nicht veröffentlichte Daten). Eine Besonderheit des *H2^{s7}* Haplotypen der NOD Maus ist das *H2Eb^{null}* Allel, wodurch das entsprechende MHC II Dimer auf der Zelloberfläche nicht exprimiert wird. Eine Nullmutante ist für die orthologen MHC II Genfamilien des Menschen (*HLA-DR*) und der Ratten (*RT1-D*) nicht beschrieben. Auch in der Peripherie diabetischer LEW.1AR1-*iddm* Ratten kann die Expression von RT1-D Dimeren nachgewiesen werden. Eine Mutation im MHC der LEW.1AR1-*iddm* Ratte kann grundsätzlich nicht ausgeschlossen werden, solange sie noch nicht eindeutig im Genom identifiziert ist. Da aber die LEW.1AR1-*iddm* Ratte den T1DM permissiven RT1-B/D^u Haplotypen exprimiert und bis jetzt keine Daten vorliegen, die ausdrücklich auf den *RT1* Komplex als Ort der Mutation hinweisen ist diese Hypothese sehr kritisch zu betrachten. Weiterhin konnte mit Hilfe der Kopplungsanalyse für die *Iddm1* Region auf RNO20 nur ein LOD score von 2,9 ermittelt werden. Dieser liegt deutlich unter dem LOD score von 4,13 für *Iddm8* auf RNO1. Das bedeutet, dass auch N2 Tiere am T1DM erkranken, die heterozygot für die MHC Haplotypen RT1^{'2} (von LEW.1AR1-*iddm*) und RT1["] (von BN) sind. Dieser Befund deutet hinsichtlich einer T1DM Permissivität auf die Kodominanz von MHC Haplotypen hin, wie sie bereits für die BB Ratte beschrieben wurden. (Fuks *et al.* 1990). Auch die T1DM Inzidenzen der I0 und I1 Kolonien weisen auf einen autosomal rezessiven Erbgang des LEW.1AR1-*iddm* Modells hin.

Ein interessanter Befund der Kopplungsanalysen, der sich anschliessenden physikalischen Kartierungen und der komparativen Analysen ist die Kartierung des Gens *Aire* in RNO20p12 ca. 5Mb vom centromeren Ende des *RT1* Komplexes entfernt. Dieses Gen kartiert nicht ortholog zur Ratte beim Menschen in HSA21q22.3 und bei der Maus in MMU10qC1. Der Grund für das Interesse am *Aire* Gen ist seine Rolle bei einer Reihe von Autoimmunerkrankungen des Menschen, die sich im Gastrointestinaltrakt, an der Haut, und an endokrinen Organen (Leber/Hepatitis, Pankreas/T1DM, Schilddrüse/Thyreoditis, Nebennieren/M. Addison usw.) manifestieren. Zusammengefasst werden diese Erkrankungen unter dem Begriff Autoimmunes-polyendokrines Syndrom (APS; OMIM 240300) (Anderson *et al.* 2002). Obwohl das *Aire* Gen bei der Ratte auf RNO20 ausserhalb des MHC kartiert, zeigte ein *Aire* gekoppelter Mikrosatellitenmarker (*D20Ztm3*) eine signifikante Assoziation zum T1DM der (BN x LEW.1AR1-*iddm*) x LEW.1AR1-*iddm* N2 Population. Daher kann eine Beteiligung von *Aire* an der Pathogenese des T1DM im Rattenmodell nicht ganz ausgeschlossen werden. Es ist durchaus denkbar, dass unterschiedliche Allelvarianten dieses Gens mit verschiedenen MHC Klasse I Haplotypen gekoppelt sind. So ist einer der Unterschiede zwischen den etablierten T1DM Rattenmodellen (BB und KDP) die Expression des *RT1-A^u* Haplotyps, während die LEW.1AR1-*iddm* Ratte den *RT1-A^a* Haplotypen

exprimiert. Phänotypisch unterscheiden sich die etablierten Modelle ausserdem vor allem durch eine generalisierte Autoimmunität (Lam-Tse *et al.* 2002; Yokoi *et al.* 2003) von der LEW.1AR1-*iddm* Ratte.

4.2.2 Die *Iddm8* Region als Suszeptibilitätsregion für den T1DM der LEW.1AR1-*iddm* Ratte

Von den drei ermittelten *Iddm* Loci (*Iddm1*, *Iddm8* und *Iddm9*) der LEW.1AR1-*iddm* Ratte konnte für die *Iddm8* Region in RNO1q51-55 (156cM – 172,6cM) der höchste LOD score (4,13) ermittelt werden. Der *Iddm8* Locus ist bisher in keinem der etablierten T1DM Rattenmodelle beschrieben worden. In dem hierzu homologen Bereich im Genom des Menschen (HSA10q25) kartiert *IDDM17* (Verge *et al.* 1998). Im Gegensatz dazu konnten in dem homologen Chromosomenbereich der Maus (MMU19qD2) keine predisponierenden *Idd* Loci identifiziert werden. Ein ebenfalls auf RNO1 kartierter, bereits beschriebener T1DM assoziierter Locus ist *Iddm5r*. Der für die BB-DP/OK Ratten beschriebene QTL wurde mit Hilfe einer (BB/OK x SHR) x BB/OK Rückkreuzung bei ca. 140cM auf RNO1 lokalisiert (Klötting *et al.* 1998a). Physikalisch kartiert *Iddm5r* in der Nähe des *Igf2* Gens bei 200Mb und ist ca. 40Mb von *Iddm8* entfernt. Da *Iddm5r* T1DM Resistenz vermitteln soll ist es unwahrscheinlich, dass *Iddm5r* und *Iddm8* identische Genorte sind.

Die Suszeptibilitätsregion auf RNO1 in der *Iddm8* kartiert, umfasst in etwa 28 Mb. In diesem Bereich kartieren mindestens 133 Gene, von denen bisher nur 56 beschrieben sind. Von diesen 56 beschriebenen Genen könnten *Casp7* (Caspase7), das Homeoboxgen *Nkx2-3* und das nur für die *Murinae* beschriebene *Ins1* (Insulin1) an der β -Zellfunktion oder sogar an deren Zerstörung beteiligt sein. *Casp7* gehört zu einer Genfamilie, die für Serinproteasen kodiert, welche an der apoptotischen Signalkaskade beteiligt sind (Fernandes-Alnemri *et al.* 1995). Aufgrund seiner Funktion und seiner Lokalisation im Bereich von *IDDM17* wurde *CASP7* beim Menschen auf seine mögliche Assoziation zum T1DM hin untersucht. Mittels SNP (*single nucleotide polymorphism*) Analysen wurde auf demselben BAC-Contig (AL592546) auf dem *CASP7* kartiert ist, ein Basenaustausch (SNP) gefunden, der signifikant mit der Erkrankung assoziiert ist. Das Homeoboxgen *Nkx2-3* ist an der Entwicklung von sekundären lymphatischen Organen (MALT, Milz) und an der Differenzierung von B- und T-Lymphozyten beteiligt (Tarlinton *et al.* 2003). Für *Ins1* wäre denkbar, dass es als Autoantigen über eine akzessorische Insulinproduktion zu einer β -zellspezifischen Autoimmunität führen könnte.

4.2.3 Die *Iddm9* Region als Suszeptibilitätsregion für den T1DM der LEW.1AR1-*iddm* Ratte

Auch der Locus *Iddm9* ist auf RNO1, jedoch in der Nähe des Zentromers lokalisiert. Aufgrund des wesentlich niedrigeren LOD scores von 2,75 im Vergleich mit dem LOD score von 4,13 im Bereich von *Iddm8* ist es ziemlich unwahrscheinlich, dass die Mutation in diesem Bereich lokalisiert ist.

Wie beim *Iddm8* Locus gibt es weder bei den anderen Rattenmodellen noch im Mausmodell eine entsprechende Suszeptibilitätsregion. Es finden sich jedoch in der homologen Region des Menschen im telomeren Bereich auf HSA6 zwei *IDDM* Gene (*IDDM5* und *IDDM8*) (Luo *et al.* 1995; Davies *et al.* 1996; Luo *et al.* 1996). Die Suche nach Kandidatengen für *Iddm9* erfolgte über die Analyse von schon veröffentlichten Kandidatengen in den Regionen *IDDM5* und *IDDM8*, die statt für eine generalisierte Autoimmunität für eine organspezifische Autoimmunität gegenüber den insulinproduzierenden β -Zellen des Pankreas verantwortlich sein könnten. Ein Kandidat findet sich hier nur für das *IDDM5* Gen (Pociot & McDermott 2002). Das *SOD2* Gen codiert für die mitochondriale, manganenthaltende Isoform der Superoxiddismutase, die einen grossen Einfluss auf den Status der oxidativen Abwehr der β -Zellen besitzt (Tiedge *et al.* 1997; Tiedge *et al.* 1998). Eine Veränderung im antioxidativen Status der β -Zellen in Kombination mit der Mutation könnte somit der Auslöser für die fokalen Infiltrationen sein.

4.3 Immunologische Aspekte der Diabetespathogenese

Der Diabetes mellitus Typ 1 ist eine T-zellvermittelte Autoimmunkrankheit, bei der die insulinproduzierenden β -Zellen in den Langerhansschen Inseln des Pankreas durch Apoptose zerstört werden. Als Ursache dafür werden verschiedene Mechanismen diskutiert. Eine klassische Methode um eine zellvermittelte Autoimmunogenese des T1DM in Tiermodellen nachzuweisen ist der adoptive Transfer von Immunzellen.

Für das spontan diabetische LEW.1AR1-*iddm* Rattenmodell sollten insbesondere zwei immunologische Aspekte geklärt werden: (1) die Induktion und Prävention eines Autoimmundiabetes mittels klassischer adoptiver Transferversuche (Koevary *et al.* 1983; Like *et al.* 1985) und (2) die Bedeutung eines durch Poly I:C stimulierten Immunsystems für die Diabetesentstehung in den intra-MHC-rekombinanten congenen Stämmen LEW.1AR1-*iddm*, LEW.1AR1 und LEW.1WR1.

4.3.1 Der adoptive Transfer ConA stimulierter Lymphozyten und dessen Bedeutung bei der Untersuchung des T1DM der LEW.1AR1-iddm Ratte

Die Ergebnisse der Transferversuche zeigen, dass es sich bei dem T1DM der LEW.1AR1-iddm Ratte um eine T-zellvermittelte Autoimmunerkrankung handelt. So konnte die Inzidenz der I0 LEW.1AR1-iddm Kolonie durch Transfer ConA stimulierter Lymphozyten aus diabetischen LEW.1AR1-iddm Donortieren von 30 % auf 60 % gesteigert werden. Zusätzlich zeigte sich eine prolongierte Zeitspanne bis zum Zeitpunkt der Diabetesmanifestation. Im Vergleich mit den Transferversuchen im immundefizienten LEW.1AR1-Whn^{tmu} Rattenmodell, dessen Diabetesinzidenz nach Transfer ConA stimulierter Lymphozyten aus diabetischen LEW.1AR1-iddm Donortieren 100 % betrug, kann die niedrigere Inzidenz und die spätere Manifestation im LEW.1AR1-iddm Rattenmodell ein Hinweis auf eine regulatorische Restfunktion des Immunsystems der LEW.1AR1-iddm Tiere sein. Diese Schutzfunktion ist im immundefizienten LEW.1AR1-Whn^{tmu} Rattenmodell nicht existent. Aufgrund der Ergebnisse kann davon ausgegangen werden, dass im LEW.1AR1-iddm Stamm ein residuales regulatorisches System aktiv ist, das in der Lage ist, eine Diabeteserkrankung, ausgelöst durch transferierte, diabetogene T-Zellen, zu verhindern. Es ist jedoch nicht geklärt, ob hier z. B. regulatorische T-Zellsubpopulationen (CD4⁺CD25⁺ T-Zellen) (Stephens *et al.* 2004) protektiv eingreifen. Im Bezug auf die verzögerte Diabetesmanifestation bei den LEW.1AR1-iddm Rezipienten ist anzumerken, dass beim Transferexperiment der Tag der Diabetesinduktion bekannt ist und somit ein fixer Startpunkt für den Beginn des Immunprozesses besteht. Im Gegensatz dazu ist dieser Startpunkt für den spontanen Diabetes der LEW.1AR1-iddm Ratte unbekannt. In Wieweit es eine reale Zeitverzögerung bei der Manifestation des T1DM der LEW.1AR1-iddm Rezipienten gibt, ist somit nicht endgültig geklärt.

Für die LEW.1AR1-iddm Ratte ist die Existenz des coisogenen Hintergrundstammes eine Besonderheit. Der coisogene LEW.1AR1 Stamm konnte ebenfalls in die adoptiven Transferversuche mit einbezogen werden. Im Gegensatz zum LEW.1AR1-iddm Stamm war durch einen adoptiven Transfer von Immunzellen diabetischer Tiere auf den coisogenen LEW.1AR1 Stamm keine Induktion eines Autoimmundiabetes möglich. Gegenüber der verwendeten Anzahl von $7,5 \times 10^6$ transferierter, diabetogener Zellen besteht bei diesem Stamm eine dauerhafte Diabetesresistenz. Dieser bislang nicht identifizierte Schutzmechanismus, der in der LEW.1AR1 Ratte besteht, konnte adoptiv auf den LEW.1AR1-iddm Stamm übertragen werden. Der Transfer führt zu einer signifikanten Reduktion der Diabetesinzidenz von 60 % auf 20 %. Während in der Literatur für bestimmte T-Zellsubpopulationen eine aktive Schutzfunktion vor Autoimmunität [CD4⁺/CD25⁺ (Stephens *et al.* 2004); Th3; Tr1 (Roncarolo & Levings 2000)] und/oder eine aktive Beteiligung an der Entwicklung der Autoimmunität [CD4^{lo}/CD40⁺ (Waid *et al.* 2004); Th1 (Pickup & Williams 2003)] diskutiert wird, kann für unser Modell noch nicht abschliessend festgestellt werden, ob durch die Mutation protektive T-Zellsubpopulationen ausgeschaltet

oder autoaggressive T-Zellsubpopulation aktiviert wurden, oder eine generalisierte Imbalance das Gleichgewicht zwischen Autoaggressivität und Protektion hin zur autoimmunen Zerstörung der β -Zellen der LEW.1AR1-*iddm* Ratte verschob.

4.3.2 Die Bedeutung der Immunstimulation durch Poly I:C für die Pathogenese des T1DM bei der LEW.1AR1-*iddm* Ratte und dem LEW.1AR1 Hintergrundstamm

Poly I:C ist ein synthetisches, doppelsträngiges RNA Molekül, das eine virale Infektion imitiert, und dadurch das angeborene Immunsystem und die Zytokinproduktion (IFN- α) aktiviert (Sobel *et al.* 1994; Tough *et al.* 1996; Liu *et al.* 2001). Anschliessend kommt es zu einer autoimmunen β -Zellzerstörung, die zum T1DM führt. Der Effekt von Poly I:C auf die Entwicklung eines T1DM ist von der Spezies, dem Genotyp, insbesondere dem MHC Haplotyp und dem Behandlungsschema abhängig. So besitzt besonders der MHC Klasse II *u*-Haplotyp der Ratte einen permissiven Einfluss auf die mit Poly I:C induzierte Diabetesentstehung. Dieses konnte bereits mit verschiedenen Rattenstämmen gezeigt werden (Ellerman & Like 2000).

Für die Poly I:C Versuche in dieser Arbeit wurden die MHC congenen Stämme LEW.1AR1-*iddm*, LEW.1AR1 und LEW.1WR1 verwendet. Mit Ausnahme des LEW.1AR1-*iddm* Stammes entwickelt keiner dieser Stämme einen spontanen T1DM.

In den durchgeführten Untersuchungen entwickelt sich im Gegensatz zu den vorangegangenen adoptiven Transferversuchen bei den LEW.1AR1 Ratten ein T1DM. Dies zeigt, dass in den LEW.1AR1 Tieren autoreaktives Potential vorhanden ist, das nach Stimulation des Immunsystems zu einer Attacke auf β -Zellen des Pankreas führen kann. Unterschiede zwischen dem durch Poly I:C induzierten Diabetes der LEW.1AR1 Ratte und dem spontanen Diabetes der LEW.1AR1-*iddm* Ratte finden sich in einer diffusen Infiltration des exokrinen und endokrinen Pankreas (A. Jörns, unveröffentlichte Daten), im höheren Manifestationsalter und einer geringeren Diabetesinzidenz (Tab. 3.14).

Diese Befunde sind ein Hinweis auf zwei unterschiedliche Mechanismen, die zum spontanen oder Poly I:C induzierten T1DM der Tiere führen. Verglichen mit dem T1DM spontan diabetischer LEW.1AR1-*iddm* Ratten ist der Poly I:C induzierte Diabetes in LEW.1AR1 Tieren weniger aggressiv. Eine mögliche Erklärung für die diffuse Infiltration sind unterschiedliche Pathomechanismen der Diabetesentstehung, die durch die Mutation oder durch die Stimulation des Immunsystems mit Poly I:C aktiviert werden. Auf der Basis der vorliegenden Daten kann keine Aussage darüber getroffen werden, ob die β -zelltoxischen T-Zellen bei Poly I:C behandelten LEW.1AR1-*iddm* Tieren von anderen autoaggressiven T-Zellklonen stammen als in spontandiabetischen Tieren oder ob sich differente autoaggressive Klone entwickelt haben.

Die Diabetesinzidenz nach Poly I:C Behandlung bei den LEW.1WR1 Tieren war im Vergleich mit den LEW.1AR1 Tieren signifikant höher (80 % vs. 20 %) und die Diabetesmanifestation im LEW.1WR1 Stamm erfolgte wesentlich früher. Die intra MHC rekombinanten, congenen Rattenstämme LEW.1WR1 und LEW.1AR1 unterscheiden sich nur durch die Expression des MHC Haplotyps RTI^{r4} ($u/u/a$) bei LEW.1WR1 und RTI^{r2} ($a/u/u$) bei LEW.1AR1 (Hedrich 1990). Beide Rattenstämme tragen den permissiven MHC Klasse II Haplotyp $RTI-B^u/D^u$ (Ellerman & Like 2000). Unterschiede zwischen den beiden Rattenstämmen existieren somit nur in der MHC Klasse I. Sie unterscheiden sich in der RT1-A und RT1-C Region. Die höhere Diabetessuszeptibilität der LEW.1WR1 Tiere weist daher auf einen Einfluss der MHC Klasse I Region hin. Dies wird von Ergebnissen der Arbeitsgruppe Ellerman, die Poly I:C Versuche mit MHC congenen PVG Ratten durchgeführt hat, unterstützt (Ellerman & Like 2000). Hier zeigten sich deutliche Unterschiede in der Diabetesinzidenz zwischen PVG-RT1^u, der für alle drei MHC Regionen den u -Haplotyp exprimiert und PVG.R8, der in der RT1-A Region den a -Haplotyp, ansonsten ebenfalls den u -Haplotyp besitzt. PVG.R8 besitzt den gleichen MHC Haplotyp ($a/u/u$) wie LEW.1AR1. Beide Rattenstämme zeigen in Poly I:C Versuchen im Vergleich mit Tieren, die in der RT1-A Region den u -Haplotyp besitzen, eine geringere Diabetesinzidenz (Ellerman & Like 2000). So besitzt die MHC Klasse I oder ein eng an die MHC Klasse I gekoppeltes Gen, z. B. *Aire*, das durchaus bei der Entwicklung congener Stämme mit übertragen werden könnte und modifizierend auf den Phänotypen wirkt einen offensichtlichen Einfluss auf die Diabetesentwicklung beim LEW.1WR1 Stamm.

Der spontan manifestierte Diabetes der LEW.1AR1-*iddm* Ratte unterscheidet sich vom durch Poly I:C induzierten Diabetes durch eine fokale Infiltration des endokrinen Pankreas (A. Jörns, unveröffentlichte Daten), das Manifestationsalter und die Inzidenz. Die diffuse Infiltration des endokrinen und exokrinen Pankreas bei Poly I:C stimulierten LEW.1AR1-*iddm* Tieren unterstützt die Hypothese der unterschiedlichen Pathomechanismen, die auch beim Poly I:C stimulierten Diabetes der LEW.1AR1 Ratte diskutiert wird.

4.4 Die Veränderung der Insulin- und iNOS-Genexpression im Verlauf der Diabetesmanifestation bei der LEW.1AR1-*iddm* Ratte

Um die Abnahme der β -Zellmasse und den Aktivitätszustand der infiltrierten Pankreasinsel zu dokumentieren, wurde die Insulingenexpression sowie die Expression der induzierbaren NO-Synthase (*iNOS*) als Markergen der Zytokinwirkung in β -Zellen des Pankreas bestimmt (Abb. 3.19 - Abb. 3.22). Die Expressionsmuster von Insulin und iNOS wurden vor und nach bzw. bei Diabetesmanifestation untersucht, um zu analysieren, ob die Genexpression mit der Entwicklung des T1DM korreliert. Beide Gene sind von grosser Bedeutung für die β -Zellfunktion; Insulin als Produkt der intakten β -Zelle und somit als Hinweis auf deren Vitalität und iNOS in seiner Funktion als Produzent reaktiver Sauerstoffspezies (ROS), wie Stickstoffmonoxid (NO), das über die Aktivierung von NF κ B zur apoptotischen Zerstörung der β -Zellen beiträgt.

4.4.1 Die Bedeutung der Veränderung der Insulingenexpression bei der Manifestation des T1DM der LEW.1AR1-*iddm* Ratte

Die Entwicklung des T1DM kann in 6 verschiedene Stadien eingeteilt werden (Eisenbarth 1986), beginnend mit Stadium I, einer genetischen Suszeptibilität für den T1DM, der beim LEW.1AR1-*iddm* Rattenmodell die Suszeptibilitätsbereiche *Iddm1*, *Iddm8* und *Iddm9* umfasst. In Stadium II kommt ein auslösendes Moment, z. B. eine Virusinfektion hinzu. Dies führt zur Entwicklung einer β -zellspezifischen Autoimmunität, die das Stadium III charakterisiert. Zunächst bleibt die Insulinsekretion normal, sie verschlechtert sich jedoch in Stadium IV, wobei weiterhin normale Blutglucosespiegel aufrechterhalten werden können. In Stadium V manifestiert sich eine Hyperglykämie bei residualer β -Zellfunktion. In Stadium VI sind alle β -Zellen zerstört und die Insulinproduktion versiegt.

Die Ergebnisse der Insulin-Genexpressionsanalyse zeigen, dass bei der LEW.1AR1-*iddm* Ratte zu Beginn der Diabetesmanifestation noch residuale, insulinproduzierende β -Zellen mit messbaren Seruminsulinkonzentrationen vorhanden sind. Die Insulingenexpression zeigt mit Ansteigen der Blutglucosekonzentration einen exponentiellen Abfall im Vergleich zur Expression von β -Actin (Abb. 3.19). Interessanterweise bedeutet eine Zunahme der Blutglucosekonzentration um etwa 5 mmol/l eine um den Faktor 10 verringerte Insulingenexpression, die sehr genau mit der β -Zellmasse des Pankreas korreliert. Somit haben LEW.1AR1-*iddm* Tiere bei einer Blutglucosekonzentration von 10 mmol/l schon mehr als 90 % der β -Zellen durch eine Autoimmunattacke verloren. Dies geht konform mit der Aussage, dass beim ersten Auftreten von erhöhten Blutglucosewerten schon mehr als 80 % der β -Zellen vernichtet sind (Hürter & Lange 1997).

4.4.2 Die Bedeutung der Veränderung der iNOS Genexpression bei der Manifestation des T1DM der LEW.1AR1-iddm Ratte

Stickstoffmonoxid (NO) ist als freies Radikal ein wichtiger Mediator der pankreatischen β -Zellzerstörung beim T1DM. NO wird durch das Enzym Nitroxidsynthase (NOS) aus Arginin gebildet. Es existieren drei verschiedene Isoformen der NOS: Zwei konstitutiv-exprimierte Isoformen (nNOS, eNOS), sowie die induzierbare Isoform der Nitroxidsynthase (iNOS) (Kröncke *et al.* 1995). Die iNOS ist die für den T1DM relevante Isoform, da deren Expression durch proinflammatorische Zytokine sehr stark stimuliert wird.

Die Expression von iNOS wurde bei verschiedenen Autoimmunerkrankungen untersucht (Kröncke *et al.* 1995; Cook & Cattell 1996) und konnte auch während der Insulitis bei BB Ratten und NOD Mäusen festgestellt werden (Kleemann *et al.* 1993; Rothe *et al.* 1994; Rabinovitch *et al.* 1996). So konnte gezeigt werden, dass eine transgene Expression von iNOS in β -Zellen deren Zerstörung und Diabetes induziert (Takamura *et al.* 1998), während eine fehlende iNOS-Expression in knock-out Mäusen eine Diabetesmanifestation sogar nach der Verabreichung subdiabetogener Streptozotozin Dosen verhindern konnte (Flodstrom *et al.* 1999).

Die iNOS Expression war bei mässig erhöhten Blutglucosespiegeln der Tiere am höchsten. Dieser höchste Wert ist ein Indikator für die Präsenz einer floriden Insulitis. Beim Fortschreiten der Immunreaktion und der fortgesetzten Zerstörung der β -Zellen sinkt die iNOS Expression dann leicht ab und erreicht eine Plateauphase. Die anhaltende iNOS Expression als Marker der floriden Entzündung könnte ein Hinweis auf noch vorhandene β -Zellen sein.

4.5 Perspektiven für das LEW.1AR1-*iddm* Rattenmodell

Mit der LEW.1AR1-*iddm* Ratte steht der biomedizinischen Forschung ein neues Tiermodell des spontanen T1DM zur Verfügung, das deutliche Analogien zur Diabeteserkrankung des Menschen zeigt. In der vorliegenden Arbeit wurden physiologische, genetische und immunologische Eigenschaften des Modells erarbeitet, die nun die Basis für weitere Untersuchungen zur Pathogenese des T1DM sind.

Ein Hauptaugenmerk liegt dabei auf der Identifizierung prädisponierender Gene, insbesondere der Mutation, die für die Entwicklung des T1DM in der LEW.1AR1-*iddm* Ratte verantwortlich ist. Dazu werden die N2 Population (BN x LEW.1AR1-*iddm*) x LEW.1AR1-*iddm*, die coisogenen Stämme LEW.1AR1-*iddm* und LEW.1AR1 sowie eigens entwickelte congenere Stämme eingesetzt.

Die Feinkartierung der beschriebenen Suszeptibilitätsbereiche auf RNO1 und RNO20 mit Hilfe der N2 Population wird zunehmend diffiziler. Die Mikrosatellitenmarker, die mit Hilfe des sequenzierten Rattengenoms ermittelt wurden, sind nicht polymorph zwischen den eingesetzten Stämmen LEW.1AR1-*iddm* und BN. Abhilfe könnten repräsentative SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) schaffen, die die Mikrosatellitenmarkeranalyse ergänzen (Zimdahl *et al.* 2004). Für effiziente Kopplungsanalysen mit Hilfe von SNPs bietet sich der Einsatz der pflanzlichen Endonuclease CEL-1 an, die nicht komplementäre Basenpaarungen in Heteroduplex DNA erkennt und schneidet. Diese Strategie bietet sich auch für die Analyse von Kandidatengen an, die zwischen den Stämmen LEW.1AR1-*iddm* und LEW.1AR1 verglichen und dann gegebenenfalls sequenziert werden können.

Es ist denkbar, dass die Mutation ausserhalb des transkribierten Abschnitts in den regulatorischen Sequenzbereichen eines Gens lokalisiert ist. Eine Möglichkeit umfangreiche Sequenzierungsarbeiten zur Identifizierung der Mutation zu vermeiden, wären Expressionsanalysen einzelner Kandidatengene. Bei dieser Strategie müssen mehrere Aspekte berücksichtigt werden (a) die organspezifische Expression von Genen (b) Veränderungen der Expression in Folge einer diabetischen Stoffwechsellaage und (c) eine veränderte Expression auf Grund einer Mutation.

Nach den molekulargenetischen Vergleichen der beiden coisogenen Stämme könnte die markerassistierte Entwicklung congenere Stämme es ermöglichen, die *Iddm* Regionen und deren phänotypische Konsequenzen einzeln oder gemeinsam vor einem anderen genetischen Hintergrund, wie zum Beispiel der BN/Ztm Ratte zu untersuchen. Voraussetzung dafür ist, dass der congenere Stamm den RT1^u Haplotyp exprimiert.

Die adoptiven Transferversuche dieser Arbeit haben gezeigt, dass es sich beim Diabetes mellitus der LEW.1AR1-*iddm* Ratte um eine T-zellvermittelte Autoimmunerkrankung handelt. Darüber hinaus konnte nachgewiesen werden, dass die LEW.1AR1 Ratte über einen effektiven Schutz verfügt, der durch den adoptiven Transfer von Lymphozyten auf LEW.1AR1-*iddm* Ratten übertragen werden kann. Um die T-Zellpopulationen nun weiter zu charakterisieren, soll die Rolle bestimmter T-Zellsubpopulationen in der autoimmunen Zerstörung der insulinproduzierenden β -Zellen, sowie deren mögliche Schutzfunktionen untersucht werden (Hori *et al.* 2003; Stephens *et al.* 2004; Waid *et al.* 2004). Dazu können selektive Transfers mit $CD3^+ CD4^+$ und $CD3^+ CD8^+$ T-Zellen durchgeführt werden, um deren Rolle bei der Diabetesmanifestation zu analysieren. Eine weitere Eingrenzung der T-Zellsubpopulationen erfolgt anschliessend durch den selektiven Transfer von potentiell autoaggressiven $CD3^+ CD4^+ CD40^+$ T-Zellpopulationen (Waid *et al.* 2004) und potentiell regulatorischen $CD3^+ CD4^+ CD25^+$ T-Zellpopulationen (Stephens *et al.* 2004). Die Zytokinexpressionsmuster dieser T-Zellsubpopulationen z.B. TGF- β oder IFN γ können durch *in vivo* und *in vitro* Vergleiche zwischen den LEW.1AR1-*iddm* Ratten und coisogenen LEW.1AR1 Ratten zur genaueren Charakterisierung der autoaggressiven und regulatorischen Potentiale beitragen.

5 Zusammenfassung

Der Diabetes mellitus ist die sozioökonomisch bedeutsamste Stoffwechselerkrankung in den westlichen Industrieländern, von der ca. 5 % der Bevölkerung betroffen sind. Der Typ 1 Diabetes mellitus (T1DM), der ca. 10 % aller Diabeteserkrankungen ausmacht, entwickelt sich durch die progrediente Autoimmunzerstörung der insulinproduzierenden β -Zellen des Pankreas und ist durch einen absoluten Insulinmangel gekennzeichnet. Da zum Zeitpunkt der Diagnosestellung zumeist > 90 % der β -Zellen bereits zerstört sind, spielen Tiermodelle eine entscheidende Rolle für die Aufklärung der Pathomechanismen der Erkrankung und der Entwicklung präventiver und therapeutischer Konzepte.

In der vorliegenden Arbeit wird die LEW.1AR1-*iddm* Ratte als ein neues Tiermodell des T1DM vorgestellt. Dabei war es das Ziel, (1) die Pathomechanismen der Diabetesentstehung, (2) die genetischen Ursachen der Krankheitsentstehung sowie (3) die Mechanismen der Immunzerstörung in ihren Grundlagen zu charakterisieren.

Die LEW.1AR1-*iddm* Ratte entstand 1997 durch Spontanmutation in einem MHC congenen LEW.1AR1 Inzuchtstamm am Zentralen Tierlaboratorium der Medizinischen Hochschule Hannover (Ztm). Ein metabolisches Monitoring in Stoffwechselkäfigen ergab, dass die Tiere um den 60. Lebensstag das Vollbild eines T1DM entwickelten, gekennzeichnet durch eine schwere, progrediente Hyperglykämie, Glucosurie, Polyurie, Polydipsie, Ketoazidose und Gewichtsabnahme. Dabei stieg die Blutglucosekonzentration innerhalb von 24 h auf Werte > 20 mmol/l an, was auf eine fulminante Zerstörung der β -Zellen schließen ließ. Pankreasinseln diabetischer Tiere zeigten eine massive Infiltration mit Makrophagen, T- und B-Lymphozyten sowie NK-Zellen. Elektronenmikroskopische Untersuchungen und TUNEL Assays zeigten eine apoptotische Zerstörung der Beta-Zellen. Ohne Insulinsubstitution verläuft das diabetische Syndrom innerhalb von einer Woche letal. Spezifische Umweltfaktoren, wie Nahrungsbestandteile und Infektionen konnten als Triggermechanismen der Autoimmunität bislang nicht identifiziert werden, da die Tiere unter SPF Bedingungen mit identischem Futter des diabetesresistenten LEW.1AR1 Hintergrundstammes gezüchtet wurden, sowie Infektionen durch ein regelmäßiges Monitoring auf Krankheitserreger ausgeschlossen wurden.

Die Entwicklung des T1DM folgt einem autosomal rezessiven Erbgang mit einer eingeschränkten 3/5 Penetranz. So betrug die Diabetesinzidenz der Verpaarung eines diabetischen Tieres mit einem nicht diabetischen Merkmalsträger ca. 30 %, wohingegen die Inzidenz bei der Verpaarung von diabetischen Tieren auf ca. 60 % anstieg. Es lag bei den Tieren keine Geschlechtspräferenz vor, was mit der Situation beim Menschen vergleichbar ist. Um die genetische Prädisposition der LEW.1AR1-*iddm* Ratte aufzuklären, wurde eine Rückkreuzungspopulation mit dem genetisch divergenten Brown Norway (BN) Rattenstamm angelegt, die 218 Tiere umfasste. Die Diabetesinzidenz betrug in der Rückkreuzungspopulation 6,5 %, was auf die Beteiligung von 3 – 4 Genen am

Krankheitsprozess schliessen lies. Mittels einer Kopplungsanalyse unter Verwendung von 157 polymorphen Mikrosatellitenmarkern, sowie einer systematischen Feinkartierung, konnten 3 Suszeptibilitätsloci mit signifikanten LOD Scores von 2,7 – 4,13 identifiziert werden. Dabei lagen 2 Loci auf Chromosom 1 (RNO1) in der zentromeren Region (LOD Score 2,75) sowie in der telomeren Region (LOD Score 4,13). Ein dritter Locus konnte auf Chromosom 20 (RNO20) im Bereich des MHC lokalisiert werden. Für alle Diabetessuszeptibilitätsbereiche konnten in den homologen Regionen des Menschen *IDDM* Gene kartiert werden.

Durch adoptiven Transfer ConA stimulierter Lymphozyten diabetischer Tiere auf immundefiziente LEW.1AR1-*Whn^{mu}* Ratten und prädiabetische LEW.1AR1-*iddm* Ratten konnte ein diabetisches Syndrom induziert, bzw. die Inzidenz erhöht werden. Die β -Zellzerstörung ist somit ursächlich als ein durch T-Lymphozyten vermitteltes Phänomen zu werten. Der diabetesresistente LEW.1AR1 Hintergrundstamm enthält regulatorische Immunzellen, die (a) eine Diabetesentstehung nach adoptivem Transfer von diabetischen Spendertieren verhinderten und (b) die Diabetesinzidenz nach adoptivem Transfer in prädiabetische LEW.1AR1-*iddm* Tiere signifikant von 60 % auf 20 % verminderten.

Die LEW.1AR1-*iddm* Ratte zeigt im Gegensatz zu der BB Ratte und der NOD Maus keine angeborenen Defekte des Immunsystems und entspricht damit der Situation beim T1DM des Menschen. Die fulminante synchronisierte Zerstörung der β -Zellen erlaubt eine eingehende Untersuchung der Autoimmunmechanismen und der Signalwege der Apoptose. Das intakte Immunsystem ermöglicht Untersuchungen zu regulatorischen Immunphänomenen, die bei anderen Nagetiermodellen des T1DM bislang nicht möglich waren. Mit der Aufklärung der diabetesrelevanten Mutation sollte es möglich sein, die Pathomechanismen von der deskriptiven Genetik bis hin zur funktionellen Relevanz für den Autoimmunprozess zu verfolgen. Dies eröffnet die Perspektive, neue Strategien für die Prävention und Therapie des T1DM beim Menschen zu entwickeln.

6 Literaturverzeichnis

- Aaltonen, J. & Bjorses, P. (1999).** Cloning of the APECED gene provides new insight into human autoimmunity. *Ann Med* **31**: 111-116.
- ADA (1997).** American Diabetes Association: clinical practice recommendations 1997. *Diabetes Care* **20 Suppl 1**: S1-70.
- Akerblom, H.K. & Knip, M. (1998).** Putative environmental factors in Type 1 diabetes. *Diabetes Metab Rev* **14**: 31-67.
- Alberti, K.G. & Zimmet, P.Z. (1998).** Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med* **15**: 539-553.
- Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W. & Lipman, D.J. (1990).** Basic local alignment search tool. *J Mol Biol* **215**: 403-410.
- Anderson, M.S., Venanzi, E.S., Klein, L., Chen, Z., Berzins, S.P., Turley, S.J., et al. (2002).** Projection of an immunological self shadow within the thymus by the aire protein. *Science* **298**: 1395-1401.
- Babu, S.R., Bao, F., Roberts, C.M., Martin, A.K., Gowan, K., Eisenbarth, G.S. & Fain, P.R. (2003).** Caspase 7 is a positional candidate gene for IDDM 17 in a Bedouin Arab family. *Ann N Y Acad Sci* **1005**: 340-343.
- Bach, J.F. (1994).** Insulin-dependent diabetes mellitus as an autoimmune disease. *Endocr Rev* **15**: 516-542.
- Bachmaier, K., Krawczyk, C., Kozieradzki, I., Kong, Y.Y., Sasaki, T., Oliveira-dos-Santos, A., et al. (2000).** Negative regulation of lymphocyte activation and autoimmunity by the molecular adaptor Cbl-b. *Nature* **403**: 211-216.
- Baldeon, M. (2000).** Diabetes and Immunity. In *Nutrition and Immunity*. Gershwin ME, G.J., Keen CL, ed. Humana Press, Totowa, NJ,
- Baxter, A.G. & Cooke, A. (1993).** Complement lytic activity has no role in the pathogenesis of autoimmune diabetes in NOD mice. *Diabetes* **42**: 1574-1578.
- Bennett, S.T., Lucassen, A.M., Gough, S.C., Powell, E.E., Undlien, D.E., Pritchard, L.E., et al. (1995).** Susceptibility to human type 1 diabetes at IDDM2 is determined by tandem repeat variation at the insulin gene minisatellite locus. *Nat Genet* **9**: 284-292.
- Bennett, S.T., Wilson, A.J., Cucca, F., Nerup, J., Pociot, F., McKinney, P.A., Barnett, A.H., Bain, S.C. & Todd, J.A. (1996).** IDDM2-VNTR-encoded susceptibility to type 1 diabetes: dominant protection and parental transmission of alleles of the insulin gene-linked minisatellite locus. *J Autoimmun* **9**: 415-421.
- Benoist, C. & Mathis, D. (1997).** Cell death mediators in autoimmune diabetes--no shortage of suspects. *Cell* **89**: 1-3.
- Benson, G. (1999).** Tandem repeats finder: a program to analyze DNA sequences. *Nucleic Acids Res* **27**: 573-580.

- Brodnicki, T.C., McClive, P., Couper, S. & Morahan, G. (2000).** Localization of Idd11 using NOD congenic mouse strains: elimination of Slc9a1 as a candidate gene. *Immunogenetics* **51**: 37-41.
- Broman, K.W. (2003).** Mapping quantitative trait loci in the case of a spike in the phenotype distribution. *Genetics* **163**: 1169-1175.
- Broman, K.W., Wu, H., Sen, S. & Churchill, G.A. (2003).** R/qtl: QTL mapping in experimental crosses. *Bioinformatics* **19**: 889-890.
- Brown, M.G., Fulmek, S., Matsumoto, K., Cho, R., Lyons, P.A., Levy, E.R., Scalzo, A.A. & Yokoyama, W.M. (1997).** A 2-Mb YAC contig and physical map of the natural killer gene complex on mouse chromosome 6. *Genomics* **42**: 16-25.
- Butler, L., Guberski, D.L. & Like, A.A. (1990).** Changes in penetrance and onset of spontaneous diabetes in the BB/Wor rat. In *Frontier in Diabetes Research II. Lessons from Animal Diabetes*. Shafrir, E., ed. John Libbey, London.
- Chiang, Y.J., Kole, H.K., Brown, K., Naramura, M., Fukuhara, S., Hu, R.J., et al. (2000).** Cbl-b regulates the CD28 dependence of T-cell activation. *Nature* **403**: 216-220.
- Chomczynski, P. & Sacchi, N. (1987).** Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* **162**: 156-159.
- Christen, U. & von Herrath, M.G. (2002).** Transgenic animal models for type 1 diabetes: linking a tetracycline-inducible promoter with a virus-inducible mouse model. *Transgenic Res* **11**: 587-595.
- Churchill, G.A. & Doerge, R.W. (1994).** Empirical threshold values for quantitative trait mapping. *Genetics* **138**: 963-971.
- Colle, E., Guttman, R.D. & Seemayer, T. (1981).** Spontaneous diabetes mellitus syndrome in the rat. I. Association with the major histocompatibility complex. *J Exp Med* **154**: 1237-1242.
- Conaway, H.H., Brown, C.J., Sanders, L.L., Cernosek, S.F., Farris, H.E. & Roth, S.I. (1980).** Spontaneous diabetes mellitus in the New Zealand white rabbit: history, classification, and genetic analysis. *J Hered* **71**: 179-186.
- Concannon, P., Gogolin-Ewens, K.J., Hinds, D.A., Wapelhorst, B., Morrison, V.A., Stirling, B., et al. (1998).** A second-generation screen of the human genome for susceptibility to insulin-dependent diabetes mellitus. *Nat Genet* **19**: 292-296.
- Cook, H.T. & Cattell, V. (1996).** Role of nitric oxide in immune-mediated diseases. *Clin Sci (Lond)* **91**: 375-384.
- Cornall, R.J., Prins, J.B., Todd, J.A., Pressey, A., DeLarato, N.H., Wicker, L.S. & Peterson, L.B. (1991).** Type 1 diabetes in mice is linked to the interleukin-1 receptor and Lsh/Ity/Bcg genes on chromosome 1. *Nature* **353**: 262-265.
- Crisa, L., Mordes, J.P. & Rossini, A.A. (1992).** Autoimmune diabetes mellitus in the BB rat. *Diabetes Metab Rev* **8**: 4-37.

- Davies, J.L., Cucca, F., Goy, J.V., Atta, Z.A., Merriman, M.E., Wilson, A., Barnett, A.H., Bain, S.C. & Todd, J.A. (1996).** Saturation multipoint linkage mapping of chromosome 6q in type 1 diabetes. *Hum Mol Genet* **5**: 1071-1074.
- Davies, J.L., Kawaguchi, Y., Bennett, S.T., Copeman, J.B., Cordell, H.J., Pritchard, L.E., et al. (1994).** A genome-wide search for human type 1 diabetes susceptibility genes. *Nature* **371**: 130-136.
- Degnbol, B. & Green, A. (1978).** Diabetes mellitus among first- and second-degree relatives of early onset diabetics. *Ann Hum Genet* **42**: 25-47.
- Eaves, I.A., Wicker, L.S., Ghandour, G., Lyons, P.A., Peterson, L.B., Todd, J.A. & Glynne, R.J. (2002).** Combining mouse congenic strains and microarray gene expression analyses to study a complex trait: the NOD model of type 1 diabetes. *Genome Res* **12**: 232-243.
- Eisenbarth, G.S. (1986).** Type I diabetes mellitus. A chronic autoimmune disease. *N Engl J Med* **314**: 1360-1368.
- Eisenbarth, G.S. (1996).** *Type 1 Diabetes: Molecular, Cellular and Clinical Immunology*. <http://www.uchsc.edu/misc/diabetes/eisenbook.html>
- Elder, M.E. & Maclaren, N.K. (1983).** Identification of profound peripheral T lymphocyte immunodeficiencies in the spontaneously diabetic BB rat. *J Immunol* **130**: 1723-1731.
- Ellerman, K.E. & Like, A.A. (2000).** Susceptibility to diabetes is widely distributed in normal class IIu haplotype rats. *Diabetologia* **43**: 890-898.
- Ettinger, R.A., Liu, A.W., Nepom, G.T. & Kwok, W.W. (2000).** Beta 57-Asp plays an essential role in the unique SDS stability of HLA-DQA1*0102/DQB1*0602 alpha beta protein dimer, the class II MHC allele associated with protection from insulin-dependent diabetes mellitus. *J Immunol* **165**: 3232-3238.
- Fernandes-Alnemri, T., Takahashi, A., Armstrong, R., Krebs, J., Fritz, L., Tomaselli, K.J., et al. (1995).** Mch3, a novel human apoptotic cysteine protease highly related to CPP32. *Cancer Res* **55**: 6045-6052.
- Fitzgerald, K.A., O'Neill, L.A.J., Gearing, A.J.H. & Callard, R.E. (2001).** *The Cytokine Facts Book*. Academic Press, London.
- Flodstrom, M., Tyrberg, B., Eizirik, D.L. & Sandler, S. (1999).** Reduced sensitivity of inducible nitric oxide synthase-deficient mice to multiple low-dose streptozotocin-induced diabetes. *Diabetes* **48**: 706-713.
- Fowell, D. & Mason, D. (1993).** Evidence that the T cell repertoire of normal rats contains cells with the potential to cause diabetes. Characterization of the CD4⁺ T cell subset that inhibits this autoimmune potential. *J Exp Med* **177**: 627-636.
- Fujita, T.Y., R; Kusumoto, Y; Serizawa, Y; Makino, S; Tochino, Y (1982).** Lymphocytic insulinitis in a non-obese diabetic (NOD) strain of mice, an immunohistochemical and electron microscope investigation. *Biomed Res* **3**: 429-443.

- Fuks, A., Ono, S.J., Colle, E. & Guttman, R.D. (1990).** A single dose of the MHC-linked susceptibility determinant associated with the RT1u haplotype is permissive for insulin-dependent diabetes mellitus in the BB rat. *Exp Clin Immunogenet* **7**: 162-169.
- Ghosh, S., Palmer, S.M., Rodrigues, N.R., Cordell, H.J., Hearne, C.M., Cornall, R.J., et al. (1993).** Polygenic control of autoimmune diabetes in nonobese diabetic mice. *Nat Genet* **4**: 404-409.
- Greiner, D.L., Mordes, J.P., Handler, E.S., Angelillo, M., Nakamura, N. & Rossini, A.A. (1987).** Depletion of RT6.1+ T lymphocytes induces diabetes in resistant biobreeding/Worcester (BB/W) rats. *J Exp Med* **166**: 461-475.
- Günther, E., Kiesel, U., Kolb, H., Krawczak, M., Rothermel, E. & Wurst, W. (1991).** Genetic analysis of susceptibility to diabetes mellitus in F2-hybrids between diabetes-prone BB and various MHC-recombinant congenic rat strains. *J Autoimmun* **4**: 543-551.
- Guttman, R.D., Colle, E., Michel, F. & Seemayer, T. (1983).** Spontaneous diabetes mellitus syndrome in the rat. II. T lymphopenia and its association with clinical disease and pancreatic lymphocytic infiltration. *J Immunol* **130**: 1732-1735.
- Ha, H., Howard, C.A., Yeom, Y.I., Abe, K., Uehara, H., Artzt, K. & Bennett, D. (1991).** Several testis-expressed genes in the mouse t-complex have expression differences between wild-type and t-mutant mice. *Dev Genet* **12**: 318-332.
- Hall, R.J., Hollis-Moffatt, J.E., Merriman, M.E., Green, R.A., Baker, D. & Merriman, T.R. (2003).** An autoimmune diabetes locus (Idd21) on mouse chromosome 18. *Mamm Genome* **14**: 335-339.
- Hanenberg, H., Kolb-Bachofen, V., Kantwerk-Funke, G. & Kolb, H. (1989).** Macrophage infiltration precedes and is a prerequisite for lymphocytic insulinitis in pancreatic islets of pre-diabetic BB rats. *Diabetologia* **32**: 126-134.
- Hanninen, A., Jaakkola, I. & Jalkanen, S. (1998).** Mucosal addressin is required for the development of diabetes in nonobese diabetic mice. *J Immunol* **160**: 6018-6025.
- Hauner, H., von Ferber, L. & Koster, I. (1992).** Schätzung der Diabeteshäufigkeit in der Bundesrepublik Deutschland anhand von Krankenkassendaten. Sekundäranalyse einer repräsentativen Stichprobe AOK Versicherter der Stadt Bochum. *Dtsch Med Wochenschr* **117**: 645-650.
- Haycock, K.A., Roth, J., Gagnon, J., Finzer, W.F. & Soper, C. (1992).** *StatView: The Ultimate Integrated Data Analysis & Presentation System*. Abacus Concepts, Inc., Berkeley, California.
- Hedrich, H.J. (1990).** *Genetic monitoring of inbred strains of rats. A manual on colony management, basic monitoring techniques, and genetic variants of the laboratory rat*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
- Herr, M., Dudbridge, F., Zavattari, P., Cucca, F., Guja, C., March, R., et al. (2000).** Evaluation of fine mapping strategies for a multifactorial disease locus: systematic linkage and association analysis of IDDM1 in the HLA region on chromosome 6p21. *Hum Mol Genet* **9**: 1291-1301.

- Hill, N.J., Lyons, P.A., Armitage, N., Todd, J.A., Wicker, L.S. & Peterson, L.B. (2000).** NOD Idd5 locus controls insulinitis and diabetes and overlaps the orthologous CTLA4/IDDM12 and NRAMP1 loci in humans. *Diabetes* **49**: 1744-1747.
- Hori, S., Takahashi, T. & Sakaguchi, S. (2003).** Control of autoimmunity by naturally arising regulatory CD4+ T cells. *Adv Immunol* **81**: 331-371.
- Hornum, L., DeScipio, C., Markholst, H., Troutman, S.A., Novak, S., Leif, J., Greiner, D., Mordes, J.P. & Blankenhorn, E.P. (2004).** Comparative mapping of rat Iddm4 to segments on HSA7 and MMU6. *Mamm Genome* **15**: 53-61.
- Hornum, L., Romer, J. & Markholst, H. (2002).** The diabetes-prone BB rat carries a frameshift mutation in Ian4, a positional candidate of Iddm1. *Diabetes* **51**: 1972-1979.
- Hosszufalusi, N., Chan, E., Teruya, M., Takei, S., Granger, G. & Charles, M.A. (1993).** Quantitative phenotypic and functional analyses of islet immune cells before and after diabetes onset in the BB rat. *Diabetologia* **36**: 1146-1154.
- Hurt, P., Walter, L., Sudbrak, R., Klages, S., Muller, I., Shiina, T., et al. (2004).** The genomic sequence and comparative analysis of the rat major histocompatibility complex. *Genome Res* **14**: 631-639.
- Hürter, P. & Lange, K. (1997).** *Diabetes bei Kindern und Jugendlichen. Klinik, Therapie, Rehabilitation.* Springer Verlag, Heidelberg.
- Ikegami, H. & Makino, S. (2001).** The NOD Mouse and its Related Strains. In *Animal Models of Diabetes - A Primer*. Sima, A.A.F. & Shafrir, E., eds. Harwood Academic Publishers, London,
- Ikegami, H., Makino, S., Yamato, E., Kawaguchi, Y., Ueda, H., Sakamoto, T., Takekawa, K. & Ogihara, T. (1995).** Identification of a new susceptibility locus for insulin-dependent diabetes mellitus by ancestral haplotype congenic mapping. *J Clin Invest* **96**: 1936-1942.
- Jackson, R.A., Buse, J.B., Rifai, R., Pelletier, D., Milford, E.L., Carpenter, C.B., Eisenbarth, G.S. & Williams, R.M. (1984).** Two genes required for diabetes in BB rats. Evidence from cyclical intercrosses and backcrosses. *J Exp Med* **159**: 1629-1636.
- Jacob, H.J., Pettersson, A., Wilson, D., Mao, Y., Lernmark, A. & Lander, E.S. (1992).** Genetic dissection of autoimmune type I diabetes in the BB rat. *Nat Genet* **2**: 56-60.
- Joner, G. & Sovik, O. (1989).** Increasing incidence of diabetes mellitus in Norwegian children 0-14 years of age 1973-1982. *Diabetologia* **32**: 79-83.
- Jun, H.S. & Yoon, J.W. (2001).** The role of viruses in type I diabetes: two distinct cellular and molecular pathogenic mechanisms of virus-induced diabetes in animals. *Diabetologia* **44**: 271-285.
- Karjalainen, J., Salmela, P., Ilonen, J., Surcel, H.M. & Knip, M. (1989).** A comparison of childhood and adult type I diabetes mellitus. *N Engl J Med* **320**: 881-886.
- Karvonen, M., Viik-Kajander, M., Moltchanova, E., Libman, I., LaPorte, R. & Tuomilehto, J. (2000).** Incidence of childhood type 1 diabetes worldwide. Diabetes Mondiale (DiaMond) Project Group. *Diabetes Care* **23**: 1516-1526.

- Kawano, K., Hirashima, T., Mori, S., Saitoh, Y., Kurosumi, M. & Natori, T. (1991).** New inbred strain of Long-Evans Tokushima lean rats with IDDM without lymphopenia. *Diabetes* **40**: 1375-1381.
- Kerner, W., Fuchs, C., Redaelli, M., Böhm, B.O., Köbberling, J., Scherbaum, W.A., Tillil, H. (2001).** *Definition, Klassifikation und Diagnostik des Diabetes mellitus*. Deutsche Diabetes Gesellschaft e.V. (DDG), Bochum.
- Kikutani, H. & Makino, S. (1992).** The murine autoimmune diabetes model: NOD and related strains. *Adv Immunol* **51**: 285-322.
- Kishimoto, H. & Sprent, J. (2001).** A defect in central tolerance in NOD mice. *Nat Immunol* **2**: 1025-1031.
- Klaff, L.S., Koike, G., Jiang, J., Wang, Y., Bieg, S., Pettersson, A., Lander, E., Jacob, H. & Lernmark, A. (1999).** BB rat diabetes susceptibility and body weight regulation genes colocalize on chromosome 2. *Mamm Genome* **10**: 883-887.
- Kleemann, R., Rothe, H., Kolb-Bachofen, V., Xie, Q.W., Nathan, C., Martin, S. & Kolb, H. (1993).** Transcription and translation of inducible nitric oxide synthase in the pancreas of prediabetic BB rats. *FEBS Lett* **328**: 9-12.
- Klein, J. & Figueroa, F. (1986).** Evolution of the major histocompatibility complex. *Crit Rev Immunol* **6**: 295-386.
- Klötting, I., Kovacs, P. & Kuttler, B. (1997).** Phenotypic consequences after restoration of lymphopenia in the diabetes-prone BB/OK rat. *Biochem Biophys Res Commun* **239**: 106-110.
- Klötting, I., Schmidt, S. & Kovacs, P. (1998a).** Mapping of novel genes predisposing or protecting diabetes development in the BB/OK rat. *Biochem Biophys Res Commun* **245**: 483-486.
- Klötting, I., Vogt, L. & Serikawa, T. (1995).** Locus on chromosome 18 cosegregates with diabetes in the BB/OK rat subline. *Diabetes Metab* **21**: 338-344.
- Klötting, I.I., van den Brandt, J. & Kovacs, P. (1998b).** Quantitative trait loci for blood glucose confirm diabetes predisposing and protective genes, *Iddm4* and *Iddm5r*, in the spontaneously diabetic BB/OK rat. *Int J Mol Med* **2**: 597-601.
- Knip, M. (2002).** Natural course of preclinical type 1 diabetes. *Horm Res* **57 Suppl 1**: 6-11.
- Koevary, S., Rossini, A., Stoller, W., Chick, W. & Williams, R.M. (1983).** Passive transfer of diabetes in the BB/W rat. *Science* **220**: 727-728.
- Kolb, H. (1987).** Mouse models of insulin dependent diabetes: low-dose streptozocin-induced diabetes and nonobese diabetic (NOD) mice. *Diabetes Metab Rev* **3**: 751-778.
- Komeda, K., Noda, M., Terao, K., Kuzuya, N., Kanazawa, M. & Kanazawa, Y. (1998).** Establishment of two substrains, diabetes-prone and non-diabetic, from Long-Evans Tokushima Lean (LETL) rats. *Endocr J* **45**: 737-744.
- Krajewski, S., Krajewska, M. & Reed, J.C. (1996).** Immunohistochemical analysis of in vivo patterns of Bcl-2 expression, a proapoptotic member of the Bcl-2 protein family. *Cancer Res* **56**: 2849-2855.

- Kramer, J.W., Nottingham, S., Robinette, J., Lenz, G., Sylvester, S. & Dessouky, M.I. (1980).** Inherited, early onset, insulin-requiring diabetes mellitus of Keeshond dogs. *Diabetes* **29**: 558-565.
- Krolewski, A.S., Warram, J.H., Rand, L.I. & Kahn, C.R. (1987).** Epidemiologic approach to the etiology of type I diabetes mellitus and its complications. *N Engl J Med* **317**: 1390-1398.
- Kröncke, K.D., Fehsel, K. & Kolb-Bachofen, V. (1995).** Inducible nitric oxide synthase and its product nitric oxide, a small molecule with complex biological activities. *Biol Chem Hoppe Seyler* **376**: 327-343.
- Lader, E., Ha, H.S., O'Neill, M., Artzt, K. & Bennett, D. (1989).** tctex-1: a candidate gene family for a mouse t complex sterility locus. *Cell* **58**: 969-979.
- Lally, F.J. & Bone, A.J. (2003).** Animal models of type 1 diabetes. In *Textbook of Diabetes*. J.C., P. & G., W., eds. Blackwell Scientific Publications, Oxford,
- Lambracht-Washington, D. & Fischer Lindahl, K. (2002).** Does the rat have an H2-D orthologue next to Bat1? *Immunogenetics* **53**: 1039-1046.
- Lambracht-Washington, D., Shisa, H., Butcher, G.W. & Fischer Lindahl, K. (1998).** A polymorphic microsatellite marker in the rat major histocompatibility complex class I gene, RT1.M4, and a new recombinant RT1 haplotype, r39. *Immunogenetics* **48**: 420-421.
- Lamhamedi-Cherradi, S.E., Boulard, O., Gonzalez, C., Kassis, N., Damotte, D., Eloy, L., Fluteau, G., Levi-Strauss, M. & Garchon, H.J. (2001).** Further mapping of the Idd5.1 locus for autoimmune diabetes in NOD mice. *Diabetes* **50**: 2874-2878.
- Lampeter, E.F., McCann, S.R. & Kolb, H. (1998).** Transfer of diabetes type 1 by bone-marrow transplantation. *Lancet* **351**: 568-569.
- Lam-Tse, W.K., Lernmark, A. & Drexhage, H.A. (2002).** Animal models of endocrine/organ-specific autoimmune diseases: do they really help us to understand human autoimmunity? *Springer Semin Immunopathol* **24**: 297-321.
- Lander, E.S. & Botstein, D. (1989).** Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* **121**: 185-199.
- Laupacis, A., Stiller, C.R., Gardell, C., Keown, P., Dupre, J., Wallace, A.C. & Thibert, P. (1983).** Cyclosporin prevents diabetes in BB Wistar rats. *Lancet* **1**: 10-12.
- Lenzen, S., Tiedge, M., Elsner, M., Lortz, S., Weiss, H., Jorns, A., et al. (2001).** The LEW.1AR1/Ztm-iddm rat: a new model of spontaneous insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetologia* **44**: 1189-1196.
- Leroux, L., Desbois, P., Lamotte, L., Duvillie, B., Cordonnier, N., Jackerott, M., Jami, J., Bucchini, D. & Joshi, R.L. (2001).** Compensatory responses in mice carrying a null mutation for Ins1 or Ins2. *Diabetes* **50 Suppl 1**: S150-153.
- Like, A.A., Anthony, M., Guberski, D.L. & Rossini, A.A. (1983).** Spontaneous diabetes mellitus in the BB/W rat. Effects of glucocorticoids, cyclosporin-A, and antiserum to rat lymphocytes. *Diabetes* **32**: 326-330.

- Like, A.A., Kislauskis, E., Williams, R.R. & Rossini, A.A. (1982).** Neonatal thymectomy prevents spontaneous diabetes mellitus in the BB/W rat. *Science* **216**: 644-646.
- Like, A.A., Rossini, A.A., Guberski, D.L., Appel, M.C. & Williams, R.M. (1979).** Spontaneous diabetes mellitus: reversal and prevention in the BB/W rat with antiserum to rat lymphocytes. *Science* **206**: 1421-1423.
- Like, A.A., Weringer, E.J., Holdash, A., McGill, P., Atkinson, D. & Rossini, A.A. (1985).** Adoptive transfer of autoimmune diabetes mellitus in biobreeding/Worcester (BB/W) inbred and hybrid rats. *J Immunol* **134**: 1583-1587.
- Liu, B. (1998).** *Statistical Genomics, Linkage, Mapping, and QTL Analysis*. CRC Press, New York.
- Liu, D., Darville, M. & Eizirik, D.L. (2001).** Double-stranded ribonucleic acid (RNA) induces beta-cell Fas messenger RNA expression and increases cytokine-induced beta-cell apoptosis. *Endocrinology* **142**: 2593-2599.
- Luo, D.F., Bui, M.M., Muir, A., Maclaren, N.K., Thomson, G. & She, J.X. (1995).** Affected-sib-pair mapping of a novel susceptibility gene to insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM8) on chromosome 6q25-q27. *Am J Hum Genet* **57**: 911-919.
- Luo, D.F., Buzzetti, R., Rotter, J.I., Maclaren, N.K., Raffel, L.J., Nistico, L., et al. (1996).** Confirmation of three susceptibility genes to insulin-dependent diabetes mellitus: IDDM4, IDDM5 and IDDM8. *Hum Mol Genet* **5**: 693-698.
- Lyons, P.A., Hancock, W.W., Denny, P., Lord, C.J., Hill, N.J., Armitage, N., et al. (2000).** The NOD Idd9 genetic interval influences the pathogenicity of insulinitis and contains molecular variants of Cd30, Tnfr2, and Cd137. *Immunity* **13**: 107-115.
- MacMurray, A.J., Moralejo, D.H., Kwitek, A.E., Rutledge, E.A., Van Yserloo, B., Gohlke, P., et al. (2002).** Lymphopenia in the BB rat model of type 1 diabetes is due to a mutation in a novel immune-associated nucleotide (Ian)-related gene. *Genome Res* **12**: 1029-1039.
- Makino, S., Hayashi, Y., Muraoka, Y. & Tochino, Y. (1985).** Establishment of the nonobese-diabetic (NOD) mouse. In *Current topics in clinical and experimental aspects of diabetes mellitus*. Sakamoto, T., Min, H.K. & Baba, S., eds. Elsevier Science Publisher, London,
- Makino, S., Kunimoto, K., Muraoka, Y., Mizushima, Y., Katagiri, K. & Tochino, Y. (1980).** Breeding of a non-obese, diabetic strain of mice. *Jikken Dobutsu* **29**: 1-13.
- Mandrup-Poulsen, T. (2001).** beta-cell apoptosis: stimuli and signaling. *Diabetes* **50 Suppl 1**: S58-63.
- Marliss, E.B., Nakhooda, A.F. & Poussier, P. (1983).** Clinical forms and natural history of the diabetic syndrome and insulin and glucagon secretion in the BB rat. *Metabolism* **32**: 11-17.
- Martin, A.M., Blankenhorn, E.P., Maxson, M.N., Zhao, M., Leif, J., Mordes, J.P. & Greiner, D.L. (1999a).** Non-major histocompatibility complex-linked diabetes susceptibility

loci on chromosomes 4 and 13 in a backcross of the DP-BB/Wor rat to the WF rat. *Diabetes* **48**: 50-58.

Martin, A.M., Maxson, M.N., Leif, J., Mordes, J.P., Greiner, D.L. & Blankenhorn, E.P. (1999b). Diabetes-prone and diabetes-resistant BB rats share a common major diabetes susceptibility locus, iddm4: additional evidence for a "universal autoimmunity locus" on rat chromosome 4. *Diabetes* **48**: 2138-2144.

McAleer, M.A., Reifsnyder, P., Palmer, S.M., Prochazka, M., Love, J.M., Copeman, J.B., et al. (1995). Crosses of NOD mice with the related NON strain. A polygenic model for IDDM. *Diabetes* **44**: 1186-1195.

Meier, H. & Yerganian, G.A. (1959). Spontaneous hereditary diabetes mellitus in Chinese hamster. I. Pathological findings. *Proc Soc Exp Biol Med* **100**: 810.

Mein, C.A., Esposito, L., Dunn, M.G., Johnson, G.C., Timms, A.E., Goy, J.V., et al. (1998). A search for type 1 diabetes susceptibility genes in families from the United Kingdom. *Nat Genet* **19**: 297-300.

Melanitou, E., Joly, F., Lathrop, M., Boitard, C. & Avner, P. (1998). Evidence for the presence of insulin-dependent diabetes-associated alleles on the distal part of mouse chromosome 6. *Genome Res* **8**: 608-620.

Mojcik, C.F., Greiner, D.L., Medlock, E.S., Komschlies, K.L. & Goldschneider, I. (1988). Characterization of RT6 bearing rat lymphocytes. I. Ontogeny of the RT6+ subset. *Cell Immunol* **114**: 336-346.

Mooij, P., de Wit, H.J. & Drexhage, H.A. (1993). An excess of dietary iodine accelerates the development of a thyroid-associated lymphoid tissue in autoimmune prone BB rats. *Clin Immunol Immunopathol* **69**: 189-198.

Morahan, G., McClive, P., Huang, D., Little, P. & Baxter, A. (1994). Genetic and physiological association of diabetes susceptibility with raised Na⁺/H⁺ exchange activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* **91**: 5898-5902.

Mordes, J.P., Bortell, R., Groen, H., Guberski, D., Rossini, A.A. & Greiner, D.L. (2001). Autoimmune Diabetes Mellitus in the BB Rat. In *Animal Models of Diabetes - A Primer*. Sima, A.A.F. & Shafrir, E., eds. Harwood Academic Publishers, London,

Mordes, J.P., Gallina, D.L., Handler, E.S., Greiner, D.L., Nakamura, N., Pelletier, A. & Rossini, A.A. (1987). Transfusions enriched for W3/25+ helper/inducer T lymphocytes prevent spontaneous diabetes in the BB/W rat. *Diabetologia* **30**: 22-26.

Mori, K., Mori, M., Stone, S., Braverman, L.E. & DeVito, W.J. (1998). Increased expression of tumor necrosis factor-alpha and decreased expression of thyroglobulin and thyroid peroxidase mRNA levels in the thyroids of iodide-treated BB/Wor rats. *Eur J Endocrinol* **139**: 539-545.

Mori, M., Ishizaki, K., Serikawa, T. & Yamada, J. (1992). Localization of the rat insulin I gene (INS1) to chromosome 1q55 by fluorescence in situ hybridization. *Cytogenet Cell Genet* **59**: 31-33.

- Moriyama, H., Wen, L., Abiru, N., Liu, E., Yu, L., Miao, D., Gianani, R., Wong, F.S. & Eisenbarth, G.S. (2002).** Induction and acceleration of insulinitis/diabetes in mice with a viral mimic (polyinosinic-polycytidylic acid) and an insulin self-peptide. *Proc Natl Acad Sci U S A* **99**: 5539-5544.
- Muller, P.Y., Janovjak, H., Miserez, A.R. & Dobbie, Z. (2002).** Processing of gene expression data generated by quantitative real-time RT-PCR. *Biotechniques* **32**: 1372-1374, 1376, 1378-1379.
- Munger, B.L. & Lang, C.M. (1973).** Spontaneous diabetes mellitus in guinea pigs: the acute cytopathology of the islets of Langerhans. *Lab Invest* **29**: 685-702.
- Nagamine, K., Peterson, P., Scott, H.S., Kudoh, J., Minoshima, S., Heino, M., et al. (1997).** Positional cloning of the APECED gene. *Nat Genet* **17**: 393-398.
- Naji, A., Silvers, W.K., Bellgrau, D. & Barker, C.F. (1981).** Spontaneous diabetes in rats: destruction of islets is prevented by immunological tolerance. *Science* **213**: 1390-1392.
- Naji, A., Silvers, W.K., Plotkin, S.A., Dafoe, D. & Barker, C.F. (1979).** Successful islet transplantation in spontaneous diabetes. *Surgery* **86**: 218-226.
- Nakhoda, A.F., Like, A.A., Chappel, C.I., Murray, F.T. & Marliss, E.B. (1977).** The spontaneously diabetic Wistar rat. Metabolic and morphologic studies. *Diabetes* **26**: 100-112.
- Nerup, J., Mandrup-Poulsen, T., Helqvist, S., Andersen, H.U., Pociot, F., Reimers, J.I., et al. (1994).** On the pathogenesis of IDDM. *Diabetologia* **37 Suppl 2**: S82-89.
- Nerup, J., Platz, P., Andersen, O.O., Christy, M., Lyngsoe, J., Poulsen, J.E., et al. (1974).** HL-A antigens and diabetes mellitus. *Lancet* **2**: 864-866.
- Noble, J.A., Valdes, A.M., Cook, M., Klitz, W., Thomson, G. & Erlich, H.A. (1996).** The role of HLA class II genes in insulin-dependent diabetes mellitus: molecular analysis of 180 Caucasian, multiplex families. *Am J Hum Genet* **59**: 1134-1148.
- Ogawa, M.M., T; Hasegawa, T; Kanaya, F; Tochino, Y; Uda, H (1985).** The inhibitory effect of neonatal thymectomy on the incidence of insulinitis in non-obese diabetic mice. *Biomed Res* **6**: 103-105.
- Olmos, P., A'Hern, R., Heaton, D.A., Millward, B.A., Risley, D., Pyke, D.A. & Leslie, R.D. (1988).** The significance of the concordance rate for type 1 (insulin-dependent) diabetes in identical twins. *Diabetologia* **31**: 747-750.
- Pabst, O., Forster, R., Lipp, M., Engel, H. & Arnold, H.H. (2000a).** NKX2.3 is required for MAdCAM-1 expression and homing of lymphocytes in spleen and mucosa-associated lymphoid tissue. *Embo J* **19**: 2015-2023.
- Pabst, O., Herbrand, H., Takuma, N. & Arnold, H.H. (2000b).** NKX2 gene expression in neuroectoderm but not in mesendodermally derived structures depends on sonic hedgehog in mouse embryos. *Dev Genes Evol* **210**: 47-50.
- Pabst, O., Schneider, A., Brand, T. & Arnold, H.H. (1997).** The mouse Nkx2-3 homeodomain gene is expressed in gut mesenchyme during pre- and postnatal mouse development. *Dev Dyn* **209**: 29-35.

- Pabst, O., Zweigerdt, R. & Arnold, H.H. (1999).** Targeted disruption of the homeobox transcription factor Nkx2-3 in mice results in postnatal lethality and abnormal development of small intestine and spleen. *Development* **126**: 2215-2225.
- Pandarpurkar, M., Wilson-Fritch, L., Corvera, S., Markholst, H., Hornum, L., Greiner, D.L., Mordes, J.P., Rossini, A.A. & Bortell, R. (2003).** Ian4 is required for mitochondrial integrity and T cell survival. *Proc Natl Acad Sci U S A* **100**: 10382-10387.
- Pickup, J.C. & Williams, G. (2003).** *Textbook of Diabetes 1*. Blackwell, Oxford.
- Pociot, F. & McDermott, M.F. (2002).** Genetics of type 1 diabetes mellitus. *Genes Immun* **3**: 235-249.
- Podolin, P.L., Denny, P., Armitage, N., Lord, C.J., Hill, N.J., Levy, E.R., et al. (1998).** Localization of two insulin-dependent diabetes (Idd) genes to the Idd10 region on mouse chromosome 3. *Mamm Genome* **9**: 283-286.
- Podolin, P.L., Denny, P., Lord, C.J., Hill, N.J., Todd, J.A., Peterson, L.B., Wicker, L.S. & Lyons, P.A. (1997).** Congenic mapping of the insulin-dependent diabetes (Idd) gene, Idd10, localizes two genes mediating the Idd10 effect and eliminates the candidate Fcgr1. *J Immunol* **159**: 1835-1843.
- Pontesilli, O., Carotenuto, P., Gazda, L.S., Pratt, P.F. & Prowse, S.J. (1987).** Circulating lymphocyte populations and autoantibodies in non-obese diabetic (NOD) mice: a longitudinal study. *Clin Exp Immunol* **70**: 84-93.
- Powrie, F. & Mason, D. (1990).** OX-22high CD4+ T cells induce wasting disease with multiple organ pathology: prevention by the OX-22low subset. *J Exp Med* **172**: 1701-1708.
- Prins, J.H., L; den Bieman, M; van Zutphen, B (2001).** Genetic variation within and between lines of diabetes-prone and non-diabetes-prone BB rats: Allele distribution of 8 protein markers. *Lab Anim* **25**: 207-211.
- Prochazka, M., Leiter, E.H., Serreze, D.V. & Coleman, D.L. (1987).** Three recessive loci required for insulin-dependent diabetes in nonobese diabetic mice. *Science* **237**: 286-289.
- Prochazka, M.L., PH; Serreze, D; Coleman, D; Leiter, EH (1986).** Genetic control of insulin-dependent diabetes in non-obese diabetic (NOD) mice. *Mouse News Lett* **75**:
- Rabinovitch, A., Suarez-Pinzon, W.L., Sorensen, O. & Bleackley, R.C. (1996).** Inducible nitric oxide synthase (iNOS) in pancreatic islets of nonobese diabetic mice: identification of iNOS- expressing cells and relationships to cytokines expressed in the islets. *Endocrinology* **137**: 2093-2099.
- Ramanathan, S. & Poussier, P. (2001).** BB rat lyp mutation and Type 1 diabetes. *Immunol Rev* **184**: 161-171.
- Reimers, J.I., Rasmussen, A.K., Karlsen, A.E., Bjerre, U., Liang, H., Morin, O., et al. (1996).** Interleukin-1 beta inhibits rat thyroid cell function in vivo and in vitro by an NO-independent mechanism and induces hypothyroidism and accelerated thyroiditis in diabetes-prone BB rats. *J Endocrinol* **151**: 147-157.
- Risch, N. (1987).** Assessing the role of HLA-linked and unlinked determinants of disease. *Am J Hum Genet* **40**: 1-14.

- Roncarolo, M.G. & Levings, M.K. (2000).** The role of different subsets of T regulatory cells in controlling autoimmunity. *Curr Opin Immunol* **12**: 676-683.
- Rossini, A.A., Faustman, D., Woda, B.A., Like, A.A., Szymanski, I. & Mordes, J.P. (1984a).** Lymphocyte transfusions prevent diabetes in the Bio-Breeding/Worcester rat. *J Clin Invest* **74**: 39-46.
- Rossini, A.A., Mordes, J.P., Pelletier, A.M. & Like, A.A. (1983).** Transfusions of whole blood prevent spontaneous diabetes mellitus in the BB/W rat. *Science* **219**: 975-977.
- Rossini, A.A., Slavin, S., Woda, B.A., Geisberg, M., Like, A.A. & Mordes, J.P. (1984b).** Total lymphoid irradiation prevents diabetes mellitus in the Bio-Breeding/Worcester (BB/W) rat. *Diabetes* **33**: 543-547.
- Rothe, H., Faust, A., Schade, U., Kleemann, R., Bosse, G., Hibino, T., Martin, S. & Kolb, H. (1994).** Cyclophosphamide treatment of female non-obese diabetic mice causes enhanced expression of inducible nitric oxide synthase and interferon-gamma, but not of interleukin-4. *Diabetologia* **37**: 1154-1158.
- Rozen, S. & Skaletsky, H.J. (2000).** Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. In *Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology*. Krawetz, S. & Misener, S., eds. Humana Press, Totowa,
- Sakaguchi, S. (2000).** Animal models of autoimmunity and their relevance to human diseases. *Curr Opin Immunol* **12**: 684-690.
- Sakaguchi, S., Fukuma, K., Kuribayashi, K. & Masuda, T. (1985).** Organ-specific autoimmune diseases induced in mice by elimination of T cell subset. I. Evidence for the active participation of T cells in natural self-tolerance; deficit of a T cell subset as a possible cause of autoimmune disease. *J Exp Med* **161**: 72-87.
- Sakaguchi, S. & Sakaguchi, N. (1994).** Thymus, T cells and autoimmunity: various causes but a common mechanism of autoimmune disease. In *Autoimmunity: Physiology and Disease*. Coutinho, A. & Kazatchkine, M., eds. Wiley-Liss, New York,
- Sakaguchi, S., Sakaguchi, N., Asano, M., Itoh, M. & Toda, M. (1995).** Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol* **155**: 1151-1164.
- Sakaguchi, S., Toda, M., Asano, M., Itoh, M., Morse, S.S. & Sakaguchi, N. (1996).** T cell-mediated maintenance of natural self-tolerance: its breakdown as a possible cause of various autoimmune diseases. *J Autoimmun* **9**: 211-220.
- Sanjeevi, C.B. (2000).** HLA-DQ6-mediated protection in IDDM. *Hum Immunol* **61**: 148-153.
- Sasaki, T., Kotera, J., Yuasa, K. & Omori, K. (2000).** Identification of human PDE7B, a cAMP-specific phosphodiesterase. *Biochem Biophys Res Commun* **271**: 575-583.
- Sato, A.K., Sturniolo, T., Sinigaglia, F. & Stern, L.J. (1999).** Substitution of aspartic acid at beta57 with alanine alters MHC class II peptide binding activity but not protein stability: HLA-DQ (alpha1*0201, beta1*0302) and (alpha1*0201, beta1*0303). *Hum Immunol* **60**: 1227-1236.

- Serreze, D.V. (1993).** Autoimmune diabetes results from genetic defects manifest by antigen presenting cells. *Faseb J* **7**: 1092-1096.
- Serreze, D.V., Bridgett, M., Chapman, H.D., Chen, E., Richard, S.D. & Leiter, E.H. (1998).** Subcongenic analysis of the Idd13 locus in NOD/Lt mice: evidence for several susceptibility genes including a possible diabetogenic role for beta 2-microglobulin. *J Immunol* **160**: 1472-1478.
- Serreze, D.V., Hamaguchi, K. & Leiter, E.H. (1989).** Immunostimulation circumvents diabetes in NOD/Lt mice. *J Autoimmun* **2**: 759-776.
- Serreze, D.V., Prochazka, M., Reifsnnyder, P.C., Bridgett, M.M. & Leiter, E.H. (1994).** Use of recombinant congenic and congenic strains of NOD mice to identify a new insulin-dependent diabetes resistance gene. *J Exp Med* **180**: 1553-1558.
- Shi, J.D., Wang, C.Y., Marron, M.P., Ruan, Q.G., Huang, Y.Q., Detter, J.C. & She, J.X. (1999).** Chromosomal localization and complete genomic sequence of the murine autoimmune regulator gene (Aire). *Autoimmunity* **31**: 47-53.
- Siegmund, T., Armitage, N., Wicker, L.S., Peterson, L.B., Todd, J.A. & Lyons, P.A. (2000).** Analysis of the mouse CD30 gene: a candidate for the NOD mouse type 1 diabetes locus Idd9.2. *Diabetes* **49**: 1612-1616.
- Smith, H., Lou, Y.H., Lacy, P. & Tung, K.S. (1992).** Tolerance mechanism in experimental ovarian and gastric autoimmune diseases. *J Immunol* **149**: 2212-2218.
- Sobel, D.O., Ewel, C.H., Zeligs, B., Abbassi, V., Rossio, J. & Bellanti, J.A. (1994).** Poly I:C induction of alpha-interferon in the diabetes-prone BB and normal Wistar rats. Dose-response relationships. *Diabetes* **43**: 518-522.
- Sobel, D.O., Newsome, J., Ewel, C.H., Bellanti, J.A., Abbassi, V., Creswell, K. & Blair, O. (1992).** Poly I:C induces development of diabetes mellitus in BB rat. *Diabetes* **41**: 515-520.
- Stark, O.G., E; Kohoutova, M; Vojcik, L (1977).** Genetic recombination in the major histocompatibility complex (H-1, Ag-B) of the rat. *Immunogenetics* 183-187.
- Stead, J.D., Buard, J., Todd, J.A. & Jeffreys, A.J. (2000).** Influence of allele lineage on the role of the insulin minisatellite in susceptibility to type 1 diabetes. *Hum Mol Genet* **9**: 2929-2935.
- Stephens, L.A., Barclay, A.N. & Mason, D. (2004).** Phenotypic characterization of regulatory CD4+CD25+ T cells in rats. *Int Immunol* **16**: 365-375.
- Sugihara, S., Izumi, Y., Yoshioka, T., Yagi, H., Tsujimura, T., Tarutani, O., et al. (1988).** Autoimmune thyroiditis induced in mice depleted of particular T cell subsets. I. Requirement of Lyt-1 dull L3T4 bright normal T cells for the induction of thyroiditis. *J Immunol* **141**: 105-113.
- Sussel, L., Kalamaras, J., Hartigan-O'Connor, D.J., Meneses, J.J., Pedersen, R.A., Rubenstein, J.L. & German, M.S. (1998).** Mice lacking the homeodomain transcription factor Nkx2.2 have diabetes due to arrested differentiation of pancreatic beta cells. *Development* **125**: 2213-2221.

- Takamura, T., Kato, I., Kimura, N., Nakazawa, T., Yonekura, H., Takasawa, S. & Okamoto, H. (1998).** Transgenic mice overexpressing type 2 nitric-oxide synthase in pancreatic beta cells develop insulin-dependent diabetes without insulinitis. *J Biol Chem* **273**: 2493-2496.
- Tarlinton, D., Light, A., Metcalf, D., Harvey, R.P. & Robb, L. (2003).** Architectural defects in the spleens of Nkx2-3-deficient mice are intrinsic and associated with defects in both B cell maturation and T cell-dependent immune responses. *J Immunol* **170**: 4002-4010.
- Teruya, M., Takei, S., Forrest, L.E., Grunewald, A., Chan, E.K. & Charles, M.A. (1993).** Pancreatic islet function in nondiabetic and diabetic BB rats. *Diabetes* **42**: 1310-1317.
- Thorsby, E. & Ronningen, K.S. (1992).** Role of HLA genes in predisposition to develop insulin-dependent diabetes mellitus. *Ann Med* **24**: 523-531.
- Tiedge, M., Lortz, S., Drinkgern, J. & Lenzen, S. (1997).** Relation between antioxidant enzyme gene expression and antioxidative defense status of insulin-producing cells. *Diabetes* **46**: 1733-1742.
- Tiedge, M., Lortz, S., Munday, R. & Lenzen, S. (1998).** Complementary action of antioxidant enzymes in the protection of bioengineered insulin-producing RINm5F cells against the toxicity of reactive oxygen species. *Diabetes* **47**: 1578-1585.
- Tochino, Y. (1987).** The NOD mouse as a model of type I diabetes. *Crit Rev Immunol* **8**: 49-81.
- Todd, J.A., Aitman, T.J., Cornall, R.J., Ghosh, S., Hall, J.R., Hearne, C.M., et al. (1991).** Genetic analysis of autoimmune type 1 diabetes mellitus in mice. *Nature* **351**: 542-547.
- Tough, D.F., Borrow, P. & Sprent, J. (1996).** Induction of bystander T cell proliferation by viruses and type I interferon in vivo. *Science* **272**: 1947-1950.
- Vafiadis, P., Bennett, S.T., Todd, J.A., Nadeau, J., Grabs, R., Goodyer, C.G., Wickramasinghe, S., Colle, E. & Polychronakos, C. (1997).** Insulin expression in human thymus is modulated by INS VNTR alleles at the IDDM2 locus. *Nat Genet* **15**: 289-292.
- Verge, C.F., Vardi, P., Babu, S., Bao, F., Erlich, H.A., Bugawan, T., et al. (1998).** Evidence for oligogenic inheritance of type 1 diabetes in a large Bedouin Arab family. *J Clin Invest* **102**: 1569-1575.
- Waid, D.M., Vaitaitis, G.M. & Wagner, D.H., Jr. (2004).** Peripheral CD4^{lo}CD40⁺ auto-aggressive T cell expansion during insulin-dependent diabetes mellitus. *Eur J Immunol* **34**: 1488-1497.
- Wang, C.C., Biben, C., Robb, L., Nassir, F., Barnett, L., Davidson, N.O., Koentgen, F., Tarlinton, D. & Harvey, R.P. (2000).** Homeodomain factor Nkx2-3 controls regional expression of leukocyte homing coreceptor MAdCAM-1 in specialized endothelial cells of the viscera. *Dev Biol* **224**: 152-167.
- WHO (1965).** Diabetes mellitus. Report of a WHO expert committee. *World Health Organ Tech Rep Ser* **310**: 1-44.
- WHO (1990).** WHO Multinational Project for Childhood Diabetes. WHO Diamond Project Group. *Diabetes Care* **13**: 1062-1068.

- Wicker, L.S., Todd, J.A. & Peterson, L.B. (1995).** Genetic control of autoimmune diabetes in the NOD mouse. *Annu Rev Immunol* **13**: 179-200.
- Xu, S. & Atchley, W.R. (1996).** Mapping quantitative trait loci for complex binary diseases using line crosses. *Genetics* **143**: 1417-1424.
- Yokoi, N., Kanazawa, M., Kitada, K., Tanaka, A., Kanazawa, Y., Suda, S., Ito, H., Serikawa, T. & Komeda, K. (1997).** A non-MHC locus essential for autoimmune type I diabetes in the Komeda Diabetes-Prone rat. *J Clin Invest* **100**: 2015-2021.
- Yokoi, N., Komeda, K., Wang, H.Y., Yano, H., Kitada, K., Saitoh, Y., et al. (2002).** Cblb is a major susceptibility gene for rat type 1 diabetes mellitus. *Nat Genet* **31**: 391-394.
- Yokoi, N., Namae, M., Fuse, M., Wang, H.Y., Hirata, T., Seino, S. & Komeda, K. (2003).** Establishment and characterization of the Komeda diabetes-prone rat as a segregating inbred strain. *Exp Anim* **52**: 295-301.
- Zimdahl, H., Nyakatura, G., Brandt, P., Schulz, H., Hummel, O., Fartmann, B., et al. (2004).** A SNP Map of the Rat Genome Generated from cDNA Sequences. *Science* **303**: 807.
- Zimmet, P., Alberti, K.G. & Shaw, J. (2001).** Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature* **414**: 782-787.

Danksagung

Herrn PD Dr. Markus Tiedge danke ich für die Überlassung des Themas, seine Hilfe bei der Bearbeitung und seine Diskussionsbereitschaft für alle Belange der Arbeit.

Herrn Dr. Dirk Wedekind danke ich für seine grosse Hilfe bei der Bearbeitung, sein Interesse und seine unermüdliche Diskussionsbereitschaft.

Herrn Prof. Dr. Sigurd Lenzen und Herrn Prof. Dr. Hans-Jürgen Hedrich danke ich für die Möglichkeit, diese Arbeit in ihren Instituten anfertigen zu können, ihr Interesse an ihrem Fortgang und ihre Diskussionsbereitschaft.

Herrn Prof. Dr. Walter Müller danke ich für die Übernahme des Co-Referats und die vielen hilfreichen Ratschläge zum Promotionsverfahren.

Den Mitarbeitern, Doktoranden und Gästen der Institute für Versuchstierkunde und Klinische Biochemie danke ich für ihre freundschaftliche Aufnahme und die ständige Hilfsbereitschaft während der Durchführung der Arbeit. Mein besonderer Dank gilt Sieglinde Egthessadi, Matthias Meyer, Sandra Pryzklenk und Ina Trotz aus dem Institut für Versuchstierkunde, sowie Anke Hager, Dagmar Lischke und Martin Wirth aus dem Institut für Klinische Biochemie.

Herrn Dr. Matthias Elsner und Herrn Dr. Stephan Lortz möchte ich danken für ihre nicht endend wollende Geduld bei allen Fragen zur Durchführung und Erstellung der Dissertation.

Frau Prof. Dr. Anne Jörns danke ich für die freundliche Überlassung von histologischen Aufnahmen von Gewebeschnitten der LEW.1AR1-*iddm* Ratte.

Frau PD Dr. Andrea Kindler-Röhrborn und Herrn Dr. Bernd Kölsch danke ich für die Einführung in die computergestützte Genanalyse und die Erstellung von physikalischen Genkarten.

Frau PD Dr. Marie-Luise Enss danke ich für die wundervolle Betreuung des Graduiertenkollegs 705.

Herrn André Bleich, Ph.D. danke ich für seine stete Hilfsbereitschaft beim Lösen von statistischen und anderen Fragen, und ebenso Herrn Dr. Wojciech Chwalisz für seine Einführungen zur Generierung von genassoziierten Primern.

Frau Dr. Kerstin Raber danke ich für das Korrekturlesen der Arbeit.

Ein besonderes Dankeschön geht an meinen Freund Kersten, der mit viel Geduld und Disziplin meine Hochs und Tiefs ausgehalten hat und immer mit Rat und Tat (und extrem viel Computerkenntnissen) an meiner Seite war.

Meinen Eltern danke ich für ihre beispiellose Unterstützung in finanzieller wie auch in jeglicher anderer Hinsicht. Ohne Euch wäre das alles niemals möglich gewesen. DANKE!

Lebenslauf

Persönliche Angaben:

Name: Heike Weiss
Geburtsdatum: 14. Mai 1975
Geburtsort: Hanau
Staatsangehörigkeit: deutsch

Schulbildung:

1981 – 1985 Grundschule, Gebeschusschule Hanau
1985 – 1987 Realschule, priv. Mädchenrealschule St. Josef in Hanau
1987 – 1994 Gymnasium, Karl-Rehbein-Schule in Hanau
Abschluss mit der Allgemeinen Hochschulreife

Praktikum:

Sep. 1994 – Feb. 1995 ländlich hauswirtschaftliches Grundpraktikum, Lehranstalt für Ernährung und Hauswirtschaft – Selikum, Neuss

Studium:

1995 – 2000 Studium an der Justus-Liebig-Universität in Giessen
Studiengang: Haushalts- und Ernährungswissenschaften
Abschluss: Diplom

seit Apr. 2001 Promotion innerhalb des Graduiertenkollegs 705 an der Medizinischen Hochschule Hannover
Durchführung der Doktorarbeit an den Instituten für Klinische Biochemie und Versuchstierkunde der Medizinischen Hochschule Hannover

Hannover, 29. Juni 2004

Hiermit versichere ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig und unter der Angabe aller Hilfsmittel verfasst habe. Die vorliegende Dissertation ist nicht als Diplomarbeit oder vergleichbare Arbeit verwendet worden.

Hannover, 3. August 2004

Heike Weiss

	Diabetes ↓	<i>D1Rat248</i>	<i>D1Mgh16</i>	<i>D1Mgh17</i>	<i>D1Rat326</i>	<i>D1Rat186</i>	<i>D1Ztm8</i>	<i>D1Rat150</i>	<i>D1Ztm9</i>	<i>D1Rat7</i>	<i>D1Ztm10</i>	<i>D1Rat250</i>
	RNO →	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Tier	cM →	0	0	5.5	5.6	11.3	11.4	12.5	13.3	13.8	14.6	15.7
1	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
2	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
3	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
4	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
5	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
6	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
7	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
8	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
9	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H
10	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
11	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
12	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
13	1	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L
14	0	H	H	H	H	H	H	L	H	H	H	H
15	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
16	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
17	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
18	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
19	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
20	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
21	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
22	0	H	H	H	H	L	H	H	H	H	H	H
23	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
24	0	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H	L
25	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
26	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	L
27	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
28	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
29	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
30	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
31	0	H	L	H	H	L	L	L	L	L	L	L
32	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
33	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
34	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
35	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
36	0	L	L	L	L	H	L	L	L	L	L	L
37	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
38	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
39	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
40	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	-	L
41	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
42	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
43	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
44	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
45	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
46	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
47	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
48	0	H	H	H	H	H	L	H	L	L	H	H
49	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	-	L
50	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	<i>D1Rat248</i>	<i>D1Mgh16</i>	<i>D1Mgh17</i>	<i>D1Rat326</i>	<i>D1Rat186</i>	<i>D1Ztm8</i>	<i>D1Rat150</i>	<i>D1Ztm9</i>	<i>D1Rat7</i>	<i>D1Ztm10</i>	<i>D1Rat250</i>
	RNO →	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Tier	cM →	0	0	5.5	5.6	11.3	11.4	12.5	13.3	13.8	14.6	15.7
51	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
52	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
53	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	-	L
54	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	-	L
55	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	-	H
56	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	-	H
57	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	-	L
58	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	-	H
59	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
60	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	-	L
61	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
62	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	H
63	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
64	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	-	H
65	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	-	L
66	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	-	H
67	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	-	L
68	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
69	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
70	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
71	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
72	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	-	H
73	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
74	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
75	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
76	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
77	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
78	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
79	0	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L	H
80	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	-	H
81	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
82	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
83	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
84	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
85	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
86	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
87	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
88	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
89	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
90	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
91	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
92	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
93	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
94	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
95	0	L	L	H	L	H	H	H	H	H	H	H
96	0	H	H	H	H	H	L	-	L	H	H	H
97	0	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
98	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
99	0	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
100	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	<i>D1Rat248</i>	<i>D1Mgh16</i>	<i>D1Mgh17</i>	<i>D1Rat326</i>	<i>D1Rat186</i>	<i>D1Ztm8</i>	<i>D1Rat150</i>	<i>D1Ztm9</i>	<i>D1Rat7</i>	<i>D1Ztm10</i>	<i>D1Rat250</i>
	RNO →	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Tier	cM →	0	0	5.5	5.6	11.3	11.4	12.5	13.3	13.8	14.6	15.7
101	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
102	0	H	H	L	H	L	L	L	L	L	L	L
103	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
104	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
105	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
106	0	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L	H
107	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
108	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
109	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
110	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
111	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
112	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
113	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
114	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
115	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
116	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
117	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
118	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
119	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
120	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
121	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
122	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
123	0	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
124	0	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
125	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
126	0	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
127	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
128	0	-	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
129	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
130	0	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L
131	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
132	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
133	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
134	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
135	0	L	L	-	L	L	L	L	L	L	L	L
136	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
137	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
138	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
139	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
140	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
141	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
142	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
143	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
144	0	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L
145	0	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
146	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
147	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
148	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
149	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
150	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	<i>D1Rat248</i>	<i>D1Mgh16</i>	<i>D1Mgh17</i>	<i>D1Rat326</i>	<i>D1Rat186</i>	<i>D1Ztm8</i>	<i>D1Rat150</i>	<i>D1Ztm9</i>	<i>D1Rat7</i>	<i>D1Ztm10</i>	<i>D1Rat250</i>
	RNO →	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Tier	cM →	0	0	5.5	5.6	11.3	11.4	12.5	13.3	13.8	14.6	15.7
151	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
152	0	H	H	H	H	H	H	H	L	H	H	H
153	0	H	H	H	H	H	H	H	L	H	H	H
154	0	H	H	H	H	H	H	H	-	H	H	H
155	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
156	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
157	0	L	-	L	L	L	L	L	L	L	L	L
158	0	L	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L
159	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
160	1	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
161	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
162	0	H	H	H	H	L	H	H	H	H	H	H
163	0	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L	H
164	1	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L
165	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
166	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
167	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
168	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
169	0	-	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
170	0	H	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H
171	1	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
172	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
173	0	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
174	0	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
175	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
176	0	H	L	H	-	L	L	L	L	L	L	H
177	0	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
178	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L
179	0	H	L	H	H	H	H	-	H	H	H	H
180	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
181	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
182	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
183	1	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
184	0	H	L	H	H	L	L	L	L	L	L	H
185	0	H	L	H	H	H	H	H	L	H	H	H
186	0	H	L	H	H	H	H	H	L	H	H	H
187	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
188	1	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L
189	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
190	0	H	H	H	H	L	H	H	H	H	H	H
191	0	H	H	H	H	H	H	H	-	H	H	H
192	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
193	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	-	L
194	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	-	L
195	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	-	L
196	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	-	L
197	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	-	H
198	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	-	H
199	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	-	L
200	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	-	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	<i>D1Rat248</i>	<i>D1Mgh16</i>	<i>D1Mgh17</i>	<i>D1Rat326</i>	<i>D1Rat186</i>	<i>D1Ztm8</i>	<i>D1Rat150</i>	<i>D1Ztm9</i>	<i>D1Rat7</i>	<i>D1Ztm10</i>	<i>D1Rat250</i>
	RNO →	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Tier	cM →	0	0	5.5	5.6	11.3	11.4	12.5	13.3	13.8	14.6	15.7
201	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	-	L
202	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	-	L
203	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	-	L
204	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	-	L
205	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	-	H
206	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	-	L
207	0	H	H	H	H	H	H	H	-	H	-	H
208	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	-	H
209	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	-	H
210	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	-	H
211	0	H	H	H	H	H	H	L	H	H	-	H
212	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	-	H
213	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	-	L
214	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	-	H
215	0	L	L	-	L	L	L	L	L	L	-	L
216	0	H	H	-	H	H	H	H	H	H	-	H
217	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	-	H
218	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	-	H

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D1Rat148	D1Rat229	D1Zm7	D1Mit10	D1Mit1	D1Rat224	D1Rat27	D1Rat38	D1Rat41	D1Mit2	D1Rat210	D1Rat132
	RNO →	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Tier	cM →	20.8	42.6	46.5	52.7	59.2	71.6	75	93.1	95.1	101.2	107.2	114.6
1	0	L	L	L	H	H	L	L	H	H	H	H	H
2	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
3	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
4	0	L	L	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L
5	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
6	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H
7	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
8	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
9	0	H	H	H	-	H	H	H	L	L	L	L	L
10	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H
11	0	L	H	H	H	H	H	H	L	L	L	H	H
12	0	H	H	H	L	H	L	L	L	L	L	L	H
13	1	L	L	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L
14	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
15	1	L	L	L	L	H	L	H	H	H	H	H	H
16	0	L	H	H	H	H	L	H	L	L	L	L	L
17	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
18	0	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L
19	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
20	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
21	0	H	H	H	H	H	H	H	-	L	L	L	L
22	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
23	0	L	L	L	H	L	L	H	L	L	L	H	H
24	0	L	H	H	L	H	H	H	L	L	L	L	L
25	0	H	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H
26	0	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L	H	H
27	0	L	L	L	H	L	L	L	H	H	H	H	H
28	0	L	L	H	L	L	L	L	H	L	L	L	L
29	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L
30	0	L	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L
31	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H
32	0	L	L	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L
33	0	H	H	H	L	H	L	L	L	L	L	H	H
34	0	L	L	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L
35	0	L	L	L	H	L	L	L	H	H	H	H	H
36	0	L	H	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H
37	0	H	H	H	L	H	L	L	L	L	L	-	L
38	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
39	0	L	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L
40	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
41	0	L	H	H	H	H	H	H	L	L	L	H	H
42	0	H	H	H	L	H	H	H	L	L	L	L	L
43	0	H	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H
44	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
45	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
46	0	H	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H
47	0	H	H	H	-	H	H	H	L	L	L	L	L
48	0	H	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H
49	0	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H
50	0	L	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H	-

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D1Rat148	D1Rat229	D1Zm7	D1Mit10	D1Mit1	D1Rat224	D1Rat27	D1Rat38	D1Rat41	D1Mit2	D1Rat210	D1Rat132
	RNO →	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Tier	cM →	20.8	42.6	46.5	52.7	59.2	71.6	75	93.1	95.1	101.2	107.2	114.6
51	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	L	L	L
52	1	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H
53	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
54	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
55	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H
56	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
57	0	L	L	L	-	H	H	H	H	H	H	H	H
58	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
59	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
60	0	L	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L
61	0	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H
62	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
63	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H
64	0	H	H	H	-	H	L	L	L	L	L	L	L
65	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
66	0	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L	H	L
67	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H
68	0	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H
69	0	L	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
70	1	L	L	L	H	H	H	H	L	L	L	H	L
71	0	L	H	H	L	H	H	H	H	H	H	L	H
72	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L
73	0	H	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H
74	0	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
75	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
76	0	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
77	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
78	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
79	0	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	L
80	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
81	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
82	0	H	H	H	H	H	L	H	L	L	L	L	L
83	0	H	H	H	H	H	L	H	H	H	H	H	H
84	0	L	H	H	H	H	H	H	L	L	H	L	L
85	0	H	H	H	L	H	L	L	H	H	H	H	H
86	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
87	0	H	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
88	0	H	H	-	H	H	H	H	H	H	H	H	L
89	0	H	L	H	L	H	L	L	L	L	L	L	L
90	0	H	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L	H
91	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
92	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
93	0	L	L	L	L	L	-	L	L	L	L	L	L
94	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
95	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L
96	0	L	H	H	-	H	H	H	H	H	L	H	H
97	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L	-
98	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H	L	H
99	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	H	H
100	0	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D1Rat148	D1Rat229	D1Zm7	D1Mit10	D1Mit1	D1Rat224	D1Rat27	D1Rat38	D1Rat41	D1Mit2	D1Rat210	D1Rat132
	RNO →	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Tier	cM →	20.8	42.6	46.5	52.7	59.2	71.6	75	93.1	95.1	101.2	107.2	114.6
101	0	H	H	H	-	H	H	H	L	L	L	L	L
102	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H
103	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
104	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	H	H
105	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L
106	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
107	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
108	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
109	1	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
110	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
111	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	L	H	H
112	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
113	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H
114	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L
115	0	H	H	H	L	H	H	H	H	H	H	H	L
116	0	L	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
117	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	L	H	L
118	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
119	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
120	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
121	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
122	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
123	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L	L
124	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	H	H
125	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
126	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L	H
127	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
128	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H
129	0	L	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L
130	0	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H
131	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
132	0	H	L	L	H	L	L	L	H	H	H	H	H
133	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
134	0	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H
135	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L
136	0	H	H	H	H	H	L	L	L	L	H	L	L
137	0	L	L	L	H	H	H	H	L	L	H	L	L
138	0	H	L	L	H	H	L	H	H	H	H	H	H
139	0	-	L	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L
140	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
141	0	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L	H
142	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L	L
143	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
144	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L	L
145	0	H	H	H	-	H	H	H	H	H	H	H	H
146	0	L	L	L	L	L	H	H	H	H	L	H	H
147	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L
148	1	L	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H	L
149	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
150	0	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D1Rat148	D1Rat229	D1Zm7	D1Mit10	D1Mit1	D1Rat224	D1Rat27	D1Rat38	D1Rat41	D1Mit2	D1Rat210	D1Rat132
	RNO →	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Tier	cM →	20.8	42.6	46.5	52.7	59.2	71.6	75	93.1	95.1	101.2	107.2	114.6
151	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
152	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
153	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
154	0	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L
155	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
156	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H
157	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	-	H
158	0	L	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H	L
159	0	L	H	H	H	H	L	L	L	H	L	L	L
160	1	H	L	L	-	L	H	H	H	H	H	H	H
161	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L
162	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
163	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
164	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
165	0	H	H	H	H	H	H	H	H	-	H	H	L
166	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L
167	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
168	0	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	L
169	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
170	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
171	1	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L
172	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
173	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L
174	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
175	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H
176	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
177	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
178	0	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H
179	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L
180	0	H	H	H	-	H	H	H	L	L	L	L	L
181	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	H	H
182	0	H	H	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H
183	1	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H
184	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	L	H	H
185	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
186	0	H	H	H	L	H	H	H	L	L	L	L	L
187	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L
188	1	L	L	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L
189	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H
190	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
191	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L
192	1	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H
193	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	-
194	0	H	H	L	H	-	H	H	L	L	L	L	-
195	0	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	-
196	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	L	-
197	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	-
198	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	H
199	0	L	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
200	0	L	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D1Rat148	D1Rat229	D1Zm7	D1Mit10	D1Mit1	D1Rat224	D1Rat27	D1Rat38	D1Rat41	D1Mit2	D1Rat210	D1Rat132
	RNO →	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Tier	cM →	20.8	42.6	46.5	52.7	59.2	71.6	75	93.1	95.1	101.2	107.2	114.6
201	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L
202	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H
203	0	L	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
204	0	L	H	L	H	H	L	L	L	L	L	H	L
205	0	H	L	H	L	L	L	L	H	H	H	L	H
206	0	L	L	H	H	L	L	L	H	H	H	H	H
207	0	H	H	-	H	H	H	H	L	L	L	H	L
208	0	H	H	L	H	H	L	L	L	L	H	H	L
209	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	H	L
210	0	H	H	L	H	H	H	-	H	H	H	L	H
211	0	H	H	L	L	H	L	L	L	L	L	H	H
212	0	H	L	L	L	H	L	L	L	L	L	H	L
213	0	L	H	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H
214	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	H	L
215	0	L	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
216	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	-
217	0	H	H	H	H	H	L	L	H	H	H	H	-
218	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D1Mit4	D1Rat68	D1Rat295	D1Rat496	D1Zm1	D1Rat79	D1Rat235	D1Zm2	D1Mgh12	D1Rat309	D1Rat307	D1Rat452
	RNO →	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Tier	cM →	118.5	127.7	136.4	156	162.1	162.8	162.9	163.6	163.7	164.7	164.8	166.3
1	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
2	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
3	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
4	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
5	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
6	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
7	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
8	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
9	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
10	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
11	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
12	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
13	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
14	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
15	1	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
16	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
17	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
18	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
19	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
20	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
21	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
22	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
23	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
24	0	L	L	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L
25	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
26	0	H	H	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L
27	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
28	0	L	L	L	H	H	L	H	H	L	H	L	L
29	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
30	0	L	L	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L
31	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
32	0	L	L	L	L	H	L	L	H	L	L	L	L
33	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
34	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
35	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
36	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
37	0	L	L	L	-	H	H	H	H	H	H	H	H
38	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
39	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
40	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
41	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
42	0	L	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
43	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
44	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
45	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
46	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
47	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
48	0	L	L	L	L	H	L	L	H	L	L	L	L
49	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
50	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D1Mit4	D1Rat68	D1Rat295	D1Rat496	D1Zm1	D1Rat79	D1Rat235	D1Zm2	D1Mgh12	D1Rat309	D1Rat307	D1Rat452
	RNO →	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Tier	cM →	118.5	127.7	136.4	156	162.1	162.8	162.9	163.6	163.7	164.7	164.8	166.3
51	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
52	1	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
53	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
54	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
55	0	H	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
56	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
57	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
58	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
59	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
60	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
61	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
62	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
63	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
64	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
65	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
66	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
67	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
68	0	H	H	L	L	H	L	L	L	L	L	L	L
69	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
70	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
71	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
72	0	L	L	L	L	H	L	L	L	L	L	L	L
73	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
74	0	L	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
75	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
76	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
77	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
78	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
79	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
80	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
81	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
82	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
83	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
84	0	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
85	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
86	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
87	0	L	L	H	H	L	H	H	L	L	L	L	L
88	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
89	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
90	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
91	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
92	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
93	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
94	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
95	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
96	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
97	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
98	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
99	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
100	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D1Mit4	D1Rat68	D1Rat295	D1Rat496	D1Zm1	D1Rat79	D1Rat235	D1Zm2	D1Mgh12	D1Rat309	D1Rat307	D1Rat452
	RNO →	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Tier	cM →	118.5	127.7	136.4	156	162.1	162.8	162.9	163.6	163.7	164.7	164.8	166.3
101	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
102	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
103	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
104	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
105	0	L	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
106	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
107	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	-
108	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
109	1	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
110	0	L	L	L	H	H	-	H	H	H	H	H	-
111	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
112	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
113	0	H	H	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H
114	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
115	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
116	0	L	L	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H
117	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H
118	0	L	L	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L
119	0	L	L	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H
120	0	H	H	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H
121	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
122	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
123	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
124	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
125	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
126	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
127	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
128	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
129	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
130	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
131	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
132	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
133	0	L	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
134	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
135	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
136	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
137	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
138	0	H	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
139	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
140	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
141	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
142	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
143	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
144	0	L	L	L	L	L	-	L	L	L	L	H	H
145	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	-
146	0	H	H	L	L	H	-	L	H	H	H	H	H
147	0	L	L	L	L	L	-	L	L	L	L	L	L
148	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
149	0	H	H	H	L	L	-	L	L	L	L	L	L
150	0	L	L	L	H	H	-	H	H	H	H	H	H

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D1Mit4	D1Rat68	D1Rat295	D1Rat496	D1Zm1	D1Rat79	D1Rat235	D1Zm2	D1Mgh12	D1Rat309	D1Rat307	D1Rat452
	RNO →	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Tier	cM →	118.5	127.7	136.4	156	162.1	162.8	162.9	163.6	163.7	164.7	164.8	166.3
151	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
152	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
153	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
154	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
155	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
156	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
157	0	H	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
158	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
159	0	L	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
160	1	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
161	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
162	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
163	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
164	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
165	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
166	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
167	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
168	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
169	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
170	0	L	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L
171	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
172	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
173	0	L	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
174	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
175	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
176	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
177	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
178	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
179	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
180	0	L	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
181	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
182	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
183	1	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
184	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
185	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
186	0	L	-	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H
187	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
188	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
189	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
190	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
191	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
192	1	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
193	0	L	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
194	0	L	-	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
195	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
196	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
197	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
198	0	H	H	H	H	L	H	L	L	L	L	L	L
199	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
200	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	<i>D1Mit4</i>	<i>D1Rat68</i>	<i>D1Rat295</i>	<i>D1Rat496</i>	<i>D1Zm1</i>	<i>D1Rat79</i>	<i>D1Rat235</i>	<i>D1Zm2</i>	<i>D1Mgh12</i>	<i>D1Rat309</i>	<i>D1Rat307</i>	<i>D1Rat452</i>
	RNO →	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Tier	cM →	118.5	127.7	136.4	156	162.1	162.8	162.9	163.6	163.7	164.7	164.8	166.3
201	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
202	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
203	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
204	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
205	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
206	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
207	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
208	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
209	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
210	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
211	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
212	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
213	0	H	H	H	H	H	H	-	H	H	H	H	H
214	0	L	L	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L
215	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
216	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
217	0	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L
218	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	<i>D1Rat156</i>	<i>D1Mgh14</i>	<i>D1Rat126</i>	<i>D1Rat225</i>	<i>D1Zm4</i>	<i>D1Zm5</i>	<i>D1Zm6</i>	<i>D1Zm3</i>	<i>D2Rat201</i>	<i>D2Rat202</i>	<i>D2Müt17</i>	<i>D2Rat115</i>
	RNO →	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2
Tier	cM →	167.1	170.8	170.9	171	171.4	171.5	171.6	172.6	20	23	37.6	52
1	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
2	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
3	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
4	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
5	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	L	L
6	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L
7	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
8	0	H	H	H	H	H	H	H	L	H	H	L	L
9	0	H	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
10	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H
11	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
12	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H	H
13	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L
14	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	L
15	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
16	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L
17	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
18	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	L	L
19	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
20	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	L	L
21	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	L	L
22	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
23	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
24	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
25	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L
26	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
27	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
28	0	L	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
29	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L
30	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
31	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
32	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	-
33	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
34	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	L	L
35	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	H
36	0	L	L	L	L	L	-	L	L	H	H	L	H
37	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H	H
38	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L
39	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
40	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H
41	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L
42	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H
43	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
44	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
45	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
46	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	L
47	0	L	L	L	L	L	L	-	L	L	L	H	L
48	0	H	L	L	L	L	L	L	L	H	H	L	L
49	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	L	L
50	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	H	H

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D1Rat156	D1Mgh14	D1Rat126	D1Rat225	D1Zm4	D1Zm5	D1Zm6	D1Zm3	D2Rat201	D2Rat202	D2Müt17	D2Rat115
	RNO →	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2
Tier	cM →	167.1	170.8	170.9	171	171.4	171.5	171.6	172.6	20	23	37.6	52
51	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H	H
52	1	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
53	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H
54	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
55	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
56	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
57	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L
58	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H	L
59	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L
60	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
61	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
62	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
63	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
64	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
65	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
66	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	L	L
67	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	L	L
68	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
69	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
70	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H
71	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L
72	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	L
73	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L
74	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
75	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L
76	0	L	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L
77	0	-	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H	L
78	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
79	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L
80	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L
81	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
82	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H	H
83	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
84	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	H
85	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
86	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
87	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	-
88	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L
89	0	L	L	L	L	L	L	-	L	H	L	L	L
90	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
91	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
92	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
93	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
94	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
95	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
96	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
97	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H
98	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H	L
99	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
100	0	-	L	L	L	L	L	L	-	L	L	L	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	<i>D1Rat156</i>	<i>D1Mgh14</i>	<i>D1Rat126</i>	<i>D1Rat225</i>	<i>D1Zm4</i>	<i>D1Zm5</i>	<i>D1Zm6</i>	<i>D1Zm3</i>	<i>D2Rat201</i>	<i>D2Rat202</i>	<i>D2Müt17</i>	<i>D2Rat115</i>
	RNO →	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2
Tier	cM →	167.1	170.8	170.9	171	171.4	171.5	171.6	172.6	20	23	37.6	52
101	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
102	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L	L	L
103	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
104	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
105	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
106	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L	L	H
107	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	L	L
108	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
109	1	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
110	0	H	H	H	H	H	H	H	H	-	H	H	H
111	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
112	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	L	L
113	0	H	H	H	H	H	H	H	H	-	L	L	L
114	0	H	H	H	H	H	H	H	H	-	H	H	H
115	0	L	L	L	L	L	L	L	L	-	H	H	H
116	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L
117	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
118	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
119	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
120	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
121	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
122	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
123	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H
124	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
125	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
126	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
127	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
128	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	H
129	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	L	L
130	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
131	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
132	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
133	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H
134	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
135	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
136	0	L	L	L	L	L	L	L	H	L	L	H	H
137	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
138	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
139	0	L	L	L	L	L	L	H	L	H	H	H	H
140	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	L	-
141	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	H
142	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
143	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
144	0	H	H	H	H	L	H	H	H	L	L	H	H
145	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
146	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H	H
147	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
148	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
149	0	L	L	L	L	L	L	L	-	L	L	L	L
150	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D1Rat156	D1Mgh14	D1Rat126	D1Rat225	D1Zm4	D1Zm5	D1Zm6	D1Zm3	D2Rat201	D2Rat202	D2Müt17	D2Rat115
	RNO →	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2
Tier	cM →	167.1	170.8	170.9	171	171.4	171.5	171.6	172.6	20	23	37.6	52
151	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
152	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
153	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
154	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H	H
155	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	H
156	0	L	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
157	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
158	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L
159	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
160	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
161	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
162	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	H
163	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
164	1	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
165	0	L	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
166	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H	H
167	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H
168	0	L	L	L	L	L	L	L	-	L	L	L	L
169	0	-	H	H	H	H	H	H	-	L	L	L	L
170	0	-	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
171	1	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L	L	L
172	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
173	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
174	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L	L	L
175	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
176	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
177	0	H	H	H	H	H	H	H	-	H	H	H	H
178	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
179	0	L	L	L	L	L	L	L	-	L	L	H	H
180	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	L	L
181	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
182	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
183	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H
184	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
185	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
186	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
187	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
188	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
189	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
190	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
191	0	H	H	H	H	H	L	H	H	L	L	L	L
192	1	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	L	L
193	0	L	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
194	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H
195	0	H	L	L	L	H	H	H	H	L	L	L	H
196	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
197	0	H	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
198	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
199	0	L	L	L	L	L	L	L	-	H	H	H	H
200	0	H	H	H	H	-	-	-	H	L	L	L	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	<i>D1Rat156</i>	<i>D1Mgh14</i>	<i>D1Rat126</i>	<i>D1Rat225</i>	<i>D1Zm4</i>	<i>D1Zm5</i>	<i>D1Zm6</i>	<i>D1Zm3</i>	<i>D2Rat201</i>	<i>D2Rat202</i>	<i>D2Müt17</i>	<i>D2Rat115</i>
	RNO →	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2
Tier	cM →	167.1	170.8	170.9	171	171.4	171.5	171.6	172.6	20	23	37.6	52
201	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H	H
202	0	H	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
203	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H	H
204	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H	H
205	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
206	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
207	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
208	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H	H
209	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
210	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
211	0	L	L	L	L	L	-	L	L	H	H	L	L
212	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	L	L
213	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
214	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
215	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
216	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	H	H	H
217	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
218	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D2Mgh9	D2Wox36	D2Rat245	D3Rat47	D3Mit4	D3Rat93	D3Mit12	D3Rat213	D3Rat114	D3Mgh1	D3Zm2	D4Wox32
	RNO →	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	4
Tier	cM →	70	78.1	97	16	27.8	43	54	68	76	86	130	4
1	0	H	H	H	L	L	L	L	H	L	H	L	H
2	0	H	H	L	L	L	L	L	H	L	L	L	H
3	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
4	0	H	H	H	L	L	L	L	H	H	H	H	L
5	0	L	L	L	L	L	H	H	L	L	L	L	L
6	0	L	L	L	L	L	H	L	L	H	H	L	L
7	0	L	L	L	H	L	H	L	L	L	H	L	H
8	0	H	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
9	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
10	0	H	H	H	H	H	L	H	H	H	L	H	L
11	0	H	H	L	L	L	L	L	H	H	H	H	L
12	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H	H
13	1	L	L	H	L	L	H	H	L	L	L	L	L
14	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	L	H	L
15	1	H	H	H	H	H	L	H	H	H	H	H	H
16	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
17	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	L
18	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
19	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	-	H	H
20	0	L	L	H	L	L	H	H	L	L	L	L	H
21	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	L
22	0	H	H	H	H	H	H	H	H	-	L	H	L
23	0	L	L	H	L	L	L	L	H	-	H	L	L
24	0	H	H	H	L	H	L	L	H	H	L	H	H
25	0	L	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L	H
26	0	H	H	L	L	L	H	H	L	L	L	L	H
27	0	H	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	L
28	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
29	0	L	L	L	H	H	H	H	L	L	L	H	H
30	0	L	L	H	L	H	H	H	H	H	H	H	L
31	0	H	H	H	L	L	H	L	L	L	L	L	H
32	0	L	L	H	L	H	L	H	H	-	H	H	H
33	0	L	L	L	L	H	L	H	H	H	H	H	L
34	0	L	L	L	L	L	L	L	H	-	H	L	L
35	0	L	H	H	L	H	H	H	H	H	H	H	L
36	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
37	0	H	H	H	L	L	H	H	L	L	L	L	H
38	0	L	L	H	H	L	H	L	L	L	L	L	H
39	0	L	L	L	H	L	L	L	L	L	H	L	H
40	1	H	H	L	L	H	L	L	H	H	H	H	L
41	0	L	L	L	L	L	H	H	L	L	L	L	H
42	0	H	L	L	H	L	H	L	L	L	L	L	L
43	0	L	L	L	H	L	H	L	L	L	L	L	H
44	0	L	L	L	H	L	L	L	L	L	H	L	H
45	0	H	H	H	L	H	L	H	H	H	H	H	L
46	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	L	H	H
47	0	H	H	H	H	H	H	H	H	-	H	H	H
48	0	L	H	L	H	L	H	L	L	L	L	L	L
49	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
50	0	L	L	L	H	L	H	L	L	L	L	L	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D2Mgh9	D2Wox36	D2Rat245	D3Rat47	D3Mit4	D3Rat93	D3Mit12	D3Rat213	D3Rat114	D3Mgh1	D3Zm2	D4Wox32
	RNO →	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	4
Tier	cM →	70	78.1	97	16	27.8	43	54	68	76	86	130	4
51	0	L	L	H	H	H	H	H	L	L	L	H	L
52	1	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
53	0	H	H	H	L	L	L	L	H	H	H	H	H
54	0	H	H	H	H	L	H	L	L	L	H	L	L
55	0	H	H	H	L	H	H	H	-	H	H	H	H
56	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
57	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
58	0	L	L	H	L	L	L	L	L	L	H	L	L
59	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
60	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
61	0	H	H	L	H	H	H	H	H	H	L	H	H
62	0	H	H	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H
63	0	L	H	H	H	L	H	L	L	L	L	L	L
64	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H
65	0	H	H	H	L	H	H	H	H	H	H	H	L
66	0	L	L	L	L	H	H	H	L	L	L	H	H
67	0	L	H	L	L	L	L	L	H	H	H	H	L
68	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
69	0	H	H	H	L	H	L	H	H	H	H	H	H
70	1	H	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H	L
71	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L	L	L
72	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
73	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
74	0	H	H	H	L	H	L	L	H	-	H	H	H
75	1	H	H	L	L	H	L	L	H	-	L	L	L
76	0	L	L	L	H	H	H	H	H	-	H	H	L
77	0	H	H	L	H	H	H	H	H	-	L	H	H
78	0	H	H	H	H	H	H	H	H	-	H	H	H
79	0	L	L	H	L	H	L	H	H	-	H	H	H
80	0	H	H	H	H	H	H	H	H	-	H	H	H
81	0	H	H	L	L	L	L	L	L	-	L	L	H
82	0	H	H	H	L	H	H	H	H	-	H	H	L
83	0	L	L	H	H	L	H	H	L	L	L	L	H
84	0	H	H	L	L	H	L	H	H	-	H	H	L
85	0	H	H	L	L	L	L	L	H	-	H	L	L
86	0	H	H	H	L	H	H	H	H	-	H	H	L
87	0	L	L	H	L	H	L	H	H	-	H	H	L
88	0	L	L	L	L	H	L	L	H	H	H	H	L
89	0	L	L	L	L	H	H	H	H	-	H	H	H
90	0	H	H	H	H	H	H	H	H	-	L	H	H
91	0	H	H	H	L	H	L	H	H	-	H	H	L
92	0	H	H	L	H	H	H	H	H	-	H	H	L
93	0	H	H	H	L	L	L	L	H	-	H	H	H
94	0	H	L	L	L	L	L	L	L	-	L	L	H
95	0	L	L	L	L	H	H	H	H	-	H	H	H
96	0	H	H	H	L	H	L	L	H	H	H	H	L
97	0	L	L	H	H	H	L	L	L	L	L	L	H
98	0	H	H	L	H	H	H	H	L	L	L	L	H
99	0	H	H	H	H	L	H	L	L	L	L	L	L
100	0	L	L	H	L	H	H	H	H	H	L	H	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D2Mgh9	D2Wox36	D2Rat245	D3Rat47	D3Mit4	D3Rat93	D3Mit12	D3Rat213	D3Rat114	D3Mgh1	D3Zm2	D4Wox32
	RNO →	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	4
Tier	cM →	70	78.1	97	16	27.8	43	54	68	76	86	130	4
101	0	H	H	L	H	L	H	L	L	L	L	L	L
102	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
103	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H
104	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	H	H
105	0	L	L	L	H	L	H	L	L	L	L	L	L
106	0	H	H	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H
107	0	L	L	L	H	L	L	L	L	L	L	L	H
108	0	L	L	L	L	H	L	H	H	H	H	H	H
109	1	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
110	0	H	H	H	L	L	L	L	H	H	H	L	L
111	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
112	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
113	0	L	L	L	L	L	H	H	L	L	L	L	H
114	0	H	H	H	H	L	H	L	L	L	L	L	H
115	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	L	H	L
116	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	H	L
117	0	L	H	H	H	L	L	H	L	L	L	L	H
118	0	L	L	L	H	H	H	H	L	L	L	H	H
119	0	L	L	L	H	H	L	H	H	H	H	H	L
120	0	H	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L	H
121	0	L	L	L	H	H	H	H	H	-	H	H	H
122	0	H	H	H	L	H	L	H	H	L	L	H	L
123	0	L	L	L	H	H	H	H	L	H	H	L	L
124	0	L	L	L	L	L	H	L	H	H	H	H	L
125	0	H	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	L
126	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
127	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
128	0	H	H	L	L	H	H	H	H	H	H	H	L
129	0	H	H	H	L	H	L	L	H	H	H	H	H
130	0	L	H	H	H	L	H	H	L	L	L	L	H
131	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	H	L	L
132	0	H	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	L
133	0	H	H	H	H	L	H	L	L	L	L	L	H
134	0	L	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
135	0	L	L	H	L	H	H	H	L	L	L	H	L
136	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
137	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
138	0	H	L	H	L	H	L	H	H	H	H	L	H
139	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
140	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
141	0	L	L	L	H	L	L	L	H	H	H	L	L
142	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	L
143	0	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	H
144	0	H	H	L	H	L	H	L	L	L	L	L	H
145	0	L	L	L	H	H	H	H	L	L	L	H	H
146	0	H	H	H	-	H	H	H	H	H	H	H	L
147	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
148	1	H	H	L	H	H	H	H	H	H	L	H	H
149	0	L	H	H	L	H	L	H	H	H	H	H	H
150	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D2Mgh9	D2Wox36	D2Rat245	D3Rat47	D3Mit4	D3Rat93	D3Mit12	D3Rat213	D3Rat114	D3Mgh1	D3Zm2	D4Wox32
	RNO →	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	4
Tier	cM →	70	78.1	97	16	27.8	43	54	68	76	86	130	4
151	0	H	H	L	L	H	L	H	H	H	H	H	H
152	0	H	H	H	H	L	H	L	L	L	L	L	L
153	0	L	H	H	H	L	H	H	L	L	L	L	H
154	0	H	H	H	L	H	L	L	H	H	H	H	L
155	0	H	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	L
156	0	L	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H	L
157	0	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
158	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
159	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	L
160	1	L	L	L	H	L	L	L	L	L	L	L	H
161	0	H	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	L
162	0	H	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H	L
163	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
164	1	H	L	L	H	L	H	H	L	L	L	L	L
165	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L	L
166	0	L	L	L	H	H	L	H	H	H	H	H	H
167	0	H	H	H	H	L	H	L	L	L	H	L	H
168	0	L	L	H	L	H	L	H	H	H	H	H	H
169	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
170	0	L	L	L	H	H	L	H	H	H	H	H	L
171	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H
172	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	L	L
173	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
174	0	L	L	L	H	L	H	L	L	L	L	L	H
175	0	L	L	H	H	L	H	L	L	L	H	L	H
176	0	L	L	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L
177	0	H	H	H	L	H	L	H	H	H	H	H	L
178	0	H	H	L	L	H	H	H	L	H	H	H	L
179	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
180	0	L	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L	H
181	0	L	L	L	H	H	L	H	H	H	H	H	L
182	0	H	H	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H
183	1	H	H	L	H	L	H	H	L	L	L	L	L
184	0	H	H	H	L	H	H	H	L	L	L	H	H
185	0	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L
186	0	H	L	L	H	H	L	H	H	H	H	H	L
187	0	L	L	L	L	H	-	L	H	H	H	H	H
188	1	L	H	H	L	H	-	H	H	H	H	L	H
189	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
190	0	L	L	H	H	L	H	L	L	L	L	L	L
191	0	L	L	L	L	L	L	L	-	L	L	H	L
192	1	L	L	L	H	H	H	H	L	L	L	H	L
193	0	L	L	L	H	L	H	H	L	L	L	L	H
194	0	L	L	L	H	L	H	L	L	L	L	L	H
195	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
196	0	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L
197	0	L	L	L	H	H	L	L	H	H	H	H	H
198	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
199	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
200	0	H	H	L	H	L	L	L	L	L	H	L	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D2Mgh9	D2Wox36	D2Rat245	D3Rat47	D3Mit4	D3Rat93	D3Mit12	D3Rat213	D3Rat114	D3Mgh1	D3Zm2	D4Wox32
	RNO →	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	4
Tier	cM →	70	78.1	97	16	27.8	43	54	68	76	86	130	4
201	0	H	H	L	H	L	H	L	L	L	L	L	H
202	0	H	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H	L
203	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
204	0	H	H	L	L	H	L	L	H	H	H	H	H
205	0	H	H	L	L	L	L	L	H	H	H	L	L
206	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	L	H	H
207	0	H	H	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L
208	0	L	H	L	H	H	L	H	L	L	L	L	L
209	0	H	H	L	L	H	L	H	H	H	H	H	H
210	0	H	H	H	L	H	L	H	H	H	H	H	H
211	0	L	H	L	H	L	H	L	L	L	L	L	H
212	0	L	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
213	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H	H
214	0	H	H	H	H	L	H	L	L	L	L	L	H
215	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	H
216	0	H	L	H	H	L	H	L	L	L	H	L	L
217	0	H	L	H	L	H	H	H	H	H	L	H	L
218	0	H	L	H	L	H	L	H	H	H	H	H	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D4Rat13	D4Rat33	D4Mgh11	D5Mgh1	D5Mcw	D5Rat126	D5Mit10	D5Rat60	D6Pas1	D6Rat143	D6Mit8	D6Mit10
	RNO →	4	4	4	5	5	5	5	5	6	6	6	6
Tier	cM →	24.9	41	87.2	0	5	16	36.2	58	0	32	55.6	64
1	0	H	H	H	L	L	L	L	L	H	H	H	H
2	0	L	L	L	H	H	H	H	L	H	H	H	H
3	0	H	L	L	H	H	H	L	L	H	L	L	L
4	0	L	L	L	L	H	L	H	H	H	H	L	L
5	0	L	L	L	H	L	H	L	L	L	L	L	L
6	0	L	H	L	H	H	H	H	H	H	L	L	H
7	0	L	L	H	L	H	L	L	H	L	L	H	L
8	0	H	L	L	L	L	L	L	L	H	L	H	L
9	0	L	L	L	L	H	H	H	H	L	L	L	H
10	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
11	0	L	H	H	L	L	L	L	L	L	H	H	H
12	0	L	H	H	L	L	H	H	L	L	L	H	L
13	1	L	L	H	H	L	H	H	L	L	H	H	H
14	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H
15	1	H	H	H	L	H	L	L	H	L	H	H	L
16	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	H
17	0	L	H	L	H	H	H	H	L	H	L	H	L
18	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
19	0	H	H	L	H	H	H	H	H	H	H	L	H
20	0	L	L	H	H	L	H	L	L	L	L	L	L
21	0	L	H	H	H	L	H	H	L	L	L	L	H
22	0	H	H	H	H	H	L	L	L	H	H	L	H
23	0	L	L	H	L	H	L	L	L	H	H	L	L
24	0	H	H	H	L	L	L	L	-	L	L	H	H
25	0	H	H	L	L	H	L	L	H	H	H	H	H
26	0	H	H	L	L	L	L	H	H	H	H	H	L
27	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L
28	0	L	L	H	H	H	H	H	H	L	H	H	H
29	0	H	H	L	H	H	H	H	H	H	H	L	L
30	0	L	L	H	L	L	L	L	L	L	L	H	H
31	0	H	H	L	H	H	H	H	H	H	L	L	L
32	0	H	H	L	H	H	H	L	L	L	L	H	H
33	0	L	H	L	H	L	H	L	L	H	L	L	H
34	0	L	H	H	L	H	H	H	H	L	L	L	U
35	0	L	L	L	H	L	H	H	L	H	H	H	H
36	0	L	H	H	L	L	L	L	-	H	H	H	L
37	0	H	H	L	L	H	L	L	H	L	L	L	L
38	0	H	H	H	L	H	L	L	H	H	H	L	L
39	0	H	L	L	H	H	H	H	H	L	L	L	H
40	1	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
41	0	H	H	L	L	H	H	H	H	H	L	L	L
42	0	H	H	L	H	L	H	H	L	L	L	L	H
43	0	H	H	H	L	H	L	L	L	L	L	H	H
44	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
45	0	L	L	H	H	L	H	L	L	L	H	H	L
46	0	H	H	L	H	L	H	H	L	H	H	H	L
47	0	H	H	L	L	H	L	L	L	H	H	H	H
48	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
49	0	H	H	L	L	H	L	H	H	H	H	L	L
50	0	H	-	H	H	L	H	L	L	H	H	H	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D4Rat13	D4Rat33	D4Mgh11	D5Mgh1	D5Mcw	D5Rat126	D5Mit10	D5Rat60	D6Pas1	D6Rat143	D6Mit8	D6Mit10
	RNO →	4	4	4	5	5	5	5	5	6	6	6	6
Tier	cM →	24.9	41	87.2	0	5	16	36.2	58	0	32	55.6	64
51	0	H	-	H	L	L	L	L	L	H	H	H	L
52	1	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
53	0	H	-	H	L	H	L	H	H	L	L	L	L
54	0	L	L	H	L	H	H	H	H	H	L	L	H
55	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	L
56	0	H	H	L	H	L	H	L	L	L	H	H	L
57	0	H	L	H	H	H	-	H	-	H	-	H	H
58	0	L	L	H	L	L	-	L	-	L	L	H	H
59	0	H	H	H	L	H	L	H	H	H	L	L	H
60	0	H	H	H	H	L	-	L	L	L	L	H	L
61	0	H	H	H	H	L	H	H	L	H	H	L	L
62	0	H	L	L	H	L	H	H	L	H	H	H	L
63	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
64	0	H	H	L	H	H	-	H	H	L	L	L	L
65	0	L	H	L	H	L	H	H	L	H	L	L	H
66	0	H	L	L	H	L	H	H	L	L	L	H	H
67	0	L	L	H	L	H	L	H	-	H	H	H	H
68	0	L	L	L	L	L	L	L	-	H	H	H	L
69	0	H	H	H	L	L	L	L	H	H	H	H	L
70	1	L	L	L	H	L	H	H	L	H	H	H	L
71	0	H	H	H	L	L	H	H	H	H	L	L	H
72	0	L	H	L	L	L	L	L	-	L	L	L	L
73	0	L	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H	H
74	0	L	L	H	L	L	L	L	-	H	H	L	H
75	1	L	L	L	H	L	L	H	L	L	L	H	L
76	0	L	L	L	H	L	-	H	H	H	H	H	H
77	0	L	H	H	H	H	L	L	H	L	L	H	L
78	0	H	H	L	L	H	H	H	H	H	H	L	L
79	0	H	L	L	L	H	L	H	H	L	L	L	L
80	0	H	H	L	L	H	-	L	H	L	L	L	L
81	0	H	H	L	L	H	H	H	H	L	H	L	L
82	0	L	L	H	L	L	L	H	-	L	H	L	L
83	0	H	L	L	H	H	H	H	H	L	L	H	H
84	0	H	L	H	L	H	L	L	L	H	H	H	H
85	0	L	L	L	L	H	L	L	L	L	H	H	H
86	0	L	H	H	H	L	H	L	H	H	L	H	L
87	0	L	L	L	H	L	-	L	L	L	L	L	L
88	0	L	H	L	L	H	L	H	H	H	H	L	L
89	0	H	L	L	H	L	H	H	L	L	-	H	L
90	0	H	H	H	L	L	L	L	-	H	H	L	L
91	0	L	L	H	L	L	H	H	L	H	H	L	H
92	0	L	L	L	H	H	-	L	-	L	H	H	H
93	0	H	H	H	H	L	H	L	L	L	-	H	L
94	0	H	H	L	H	H	-	H	-	L	L	H	L
95	0	H	H	H	H	L	H	L	L	L	H	L	L
96	0	L	L	H	H	L	-	H	L	L	H	L	L
97	0	H	H	H	L	L	-	L	H	L	L	H	L
98	0	H	H	H	H	L	-	H	H	H	L	L	L
99	0	L	L	H	L	H	H	H	L	L	H	L	L
100	0	L	L	L	H	H	H	H	H	L	H	H	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D4Rat13	D4Rat33	D4Mgh11	D5Mgh1	D5Mcw	D5Rat126	D5Mit10	D5Rat60	D6Pas1	D6Rat143	D6Mit8	D6Mit10
	RNO →	4	4	4	5	5	5	5	5	6	6	6	6
Tier	cM →	24.9	41	87.2	0	5	16	36.2	58	0	32	55.6	64
101	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	L
102	0	L	L	L	H	H	H	H	H	L	L	L	H
103	0	L	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	H
104	0	H	H	L	H	L	H	H	L	L	L	L	H
105	0	H	H	H	L	H	H	H	H	L	L	L	H
106	0	L	L	H	L	L	L	L	L	H	H	H	L
107	0	H	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
108	0	L	L	L	L	H	L	H	H	H	H	H	L
109	1	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L	H
110	0	L	L	L	H	H	L	L	H	L	L	L	H
111	0	L	L	H	H	L	H	H	H	H	H	H	L
112	0	H	H	L	H	H	H	H	H	H	H	L	H
113	0	H	H	H	L	L	-	L	L	H	H	L	H
114	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	L	L	H
115	0	L	L	H	H	L	L	L	L	L	L	H	H
116	0	H	H	L	L	H	L	L	L	L	L	L	H
117	0	H	H	L	H	H	-	L	H	H	H	H	L
118	0	H	H	H	L	L	H	H	H	H	H	L	L
119	0	L	H	L	H	H	H	H	H	L	H	H	L
120	0	L	L	H	L	H	L	L	L	L	H	L	L
121	0	H	H	L	L	L	H	H	L	L	L	L	H
122	0	L	L	L	L	H	-	H	H	L	L	L	H
123	0	L	L	H	L	L	H	L	L	L	L	H	L
124	0	L	L	L	H	L	L	L	L	H	H	L	H
125	0	L	H	H	L	L	-	L	L	L	L	H	L
126	0	H	H	H	H	H	-	H	H	H	H	L	H
127	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L
128	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L
129	0	H	H	H	L	H	-	L	H	H	H	L	L
130	0	H	L	H	L	H	-	H	H	H	L	H	L
131	0	L	L	L	L	H	L	L	L	H	H	H	H
132	0	L	L	L	H	L	-	H	L	H	H	H	H
133	0	H	H	L	L	L	-	L	L	L	L	L	H
134	0	L	L	H	L	H	L	L	L	H	H	H	L
135	0	H	H	L	H	L	-	H	H	L	H	H	H
136	0	H	H	L	H	H	H	H	H	L	L	H	L
137	0	L	L	H	L	H	L	L	H	H	H	H	L
138	0	H	H	L	L	H	H	L	H	L	L	L	H
139	0	L	L	L	L	L	-	L	L	L	L	L	H
140	0	L	L	L	H	L	H	L	L	H	H	L	H
141	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
142	0	L	H	L	L	H	-	H	H	H	H	H	H
143	0	H	L	H	L	H	L	H	H	L	L	L	H
144	0	H	L	H	H	H	-	H	H	H	H	H	L
145	0	H	L	H	L	H	L	H	H	H	L	H	L
146	0	H	H	L	L	H	-	H	H	L	L	L	L
147	0	L	H	L	H	L	H	H	H	L	L	L	L
148	1	H	H	L	L	H	L	L	L	H	H	H	L
149	0	H	H	L	L	L	L	L	H	H	H	H	L
150	0	L	L	L	L	H	L	L	L	H	H	H	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D4Rat13	D4Rat33	D4Mgh11	D5Mgh1	D5Mcw	D5Rat126	D5Mit10	D5Rat60	D6Pas1	D6Rat143	D6Mit8	D6Mit10
	RNO →	4	4	4	5	5	5	5	5	6	6	6	6
Tier	cM →	24.9	41	87.2	0	5	16	36.2	58	0	32	55.6	64
151	0	H	H	L	H	H	H	H	H	H	H	L	L
152	0	H	H	L	L	L	L	L	L	H	H	L	H
153	0	H	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	L
154	0	L	H	L	H	L	H	H	L	H	H	L	H
155	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
156	0	L	L	H	H	H	L	L	L	H	L	L	H
157	0	H	H	L	H	L	H	H	L	L	L	H	L
158	0	L	L	H	L	H	L	L	L	L	L	H	H
159	0	L	L	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
160	1	H	L	H	L	L	-	L	L	H	H	L	L
161	0	L	L	L	H	H	L	L	H	H	H	H	H
162	0	H	H	H	L	H	L	H	H	L	L	H	H
163	0	L	L	L	L	H	-	L	H	L	L	H	H
164	1	L	L	L	L	H	-	H	H	L	H	H	L
165	0	L	L	H	L	H	L	L	L	H	H	H	L
166	0	H	H	L	H	H	H	H	H	L	L	L	H
167	0	L	L	L	L	L	L	H	L	H	H	L	H
168	0	H	H	H	L	L	-	L	L	L	L	L	L
169	0	H	H	H	L	H	L	L	H	H	H	H	H
170	0	H	H	L	H	H	H	H	L	H	H	L	L
171	1	H	H	L	H	L	-	H	L	H	H	H	H
172	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
173	0	H	H	L	L	H	-	H	H	L	L	L	H
174	0	H	H	L	L	H	L	H	H	H	L	H	L
175	0	L	L	L	H	L	H	H	L	H	H	H	L
176	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L
177	0	L	L	H	H	H	H	L	L	H	H	L	L
178	0	L	H	H	H	H	H	L	L	H	L	H	H
179	0	H	L	L	H	L	L	L	L	L	L	H	H
180	0	H	H	L	H	L	-	H	H	H	H	H	H
181	0	H	H	L	L	H	H	H	H	L	H	H	L
182	0	H	H	H	L	H	L	L	H	H	L	L	H
183	1	H	H	H	H	L	H	H	L	H	L	L	L
184	0	H	H	H	L	H	H	L	H	H	H	H	L
185	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
186	0	L	L	H	H	L	H	L	L	H	L	H	H
187	0	H	H	L	L	H	H	H	H	H	L	H	H
188	1	L	L	H	L	L	-	L	L	L	L	H	H
189	0	H	H	H	L	H	-	H	H	L	H	H	L
190	0	L	H	L	L	H	H	H	H	H	L	H	H
191	0	H	H	L	L	L	-	L	L	H	L	H	H
192	1	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	L	L
193	0	H	H	L	L	H	-	L	H	L	H	H	L
194	0	H	H	H	L	L	-	H	L	H	H	L	H
195	0	L	H	H	L	L	-	L	L	H	L	L	L
196	0	L	H	L	L	L	-	L	L	L	H	H	H
197	0	H	L	H	L	L	-	L	L	L	H	H	L
198	0	H	H	H	H	L	-	H	L	H	H	L	L
199	0	L	L	H	L	H	-	H	H	L	H	L	L
200	0	H	H	H	H	L	-	L	L	L	L	L	H

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D4Rat13	D4Rat33	D4Mgh11	D5Mgh1	D5Mcw	D5Rat126	D5Mit10	D5Rat60	D6Pas1	D6Rat143	D6Mit8	D6Mit10
	RNO →	4	4	4	5	5	5	5	5	6	6	6	6
Tier	cM →	24.9	41	87.2	0	5	16	36.2	58	0	32	55.6	64
201	0	H	H	L	H	L	-	L	L	H	H	H	H
202	0	H	H	H	L	L	-	L	L	H	H	H	H
203	0	L	L	L	L	H	-	H	L	L	L	H	L
204	0	H	L	H	H	H	-	H	H	L	H	H	H
205	0	L	H	H	H	H	-	H	H	L	H	L	L
206	0	H	H	H	H	H	-	H	H	L	H	L	L
207	0	L	H	H	H	H	-	L	L	L	L	L	H
208	0	L	L	L	L	H	-	H	L	H	L	H	H
209	0	H	H	L	H	H	-	L	H	L	L	H	L
210	0	H	L	L	H	H	-	L	H	L	-	L	L
211	0	L	L	L	L	L	-	L	L	H	H	H	L
212	0	H	H	L	H	H	-	H	H	L	H	L	H
213	0	H	H	L	L	H	-	H	H	L	H	H	H
214	0	H	L	H	H	L	-	L	L	L	H	H	H
215	0	H	H	H	H	H	-	H	H	L	L	L	L
216	0	L	L	H	H	L	-	H	L	H	H	H	L
217	0	H	H	L	H	H	-	H	H	L	L	H	L
218	0	H	H	L	L	H	-	H	H	H	H	L	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D6Rat109	D7Mgh9	D7Mit7	D7Mit6	D7Rat100	D7Mit8	D8Mit5	D8Rat77	D8Mit2	D8Mgh4	D8Mgh1	D9Mit6	D9Rat30
	RNO →	6	7	7	7	7	7	8	8	8	8	8	9	9
Tier	cM →	85	4	28	42	57	82	0	0	29	47	74	3	21
1	0	H	L	L	H	H	H	H	H	L	H	H	H	L
2	0	H	H	H	H	L	L	L	L	H	L	H	L	H
3	0	L	H	L	H	H	H	L	H	H	L	L	L	L
4	0	L	H	H	H	H	H	L	H	L	L	H	L	L
5	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
6	0	H	H	H	H	H	L	H	L	H	H	H	L	L
7	0	L	H	H	H	L	H	L	L	L	L	H	H	H
8	0	L	L	L	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L
9	0	H	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H
10	0	L	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L
11	0	H	H	H	L	L	L	L	L	H	H	H	L	L
12	0	L	H	H	L	L	L	L	H	L	H	H	H	L
13	1	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L
14	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
15	1	L	H	L	L	L	L	H	H	H	L	L	H	H
16	0	H	H	H	H	H	H	L	L	L	H	L	H	L
17	0	L	L	L	H	H	H	H	H	L	L	H	L	L
18	0	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H	L	L
19	0	H	H	H	H	H	L	L	L	L	H	H	H	H
20	0	L	L	L	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L
21	0	H	L	L	H	L	L	H	H	H	L	L	H	H
22	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
23	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
24	0	H	H	L	H	L	L	H	H	H	L	H	L	L
25	0	H	H	H	H	L	H	L	H	L	H	H	H	H
26	0	L	L	L	L	L	H	L	H	L	H	H	L	H
27	0	H	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H
28	0	L	H	H	H	H	L	H	H	H	H	H	H	H
29	0	H	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H
30	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
31	0	H	L	H	H	H	H	L	L	L	H	H	H	H
32	0	-	H	H	H	H	H	H	H	H	L	H	H	H
33	0	L	L	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L
34	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	L
35	0	L	H	H	H	H	H	L	L	H	H	L	L	L
36	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	L	H	H
37	0	L	H	H	L	H	H	H	L	H	H	H	H	L
38	0	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L	H	H
39	0	L	H	H	H	L	H	H	L	H	H	L	H	H
40	1	H	L	L	H	H	H	L	H	H	H	L	L	L
41	0	H	H	H	H	L	L	L	L	H	L	L	H	H
42	0	H	H	H	H	L	L	H	H	H	H	H	L	L
43	0	H	L	H	H	H	H	L	L	L	L	L	H	H
44	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
45	0	L	L	L	L	L	L	H	H	H	L	L	L	H
46	0	L	H	L	L	H	H	L	L	L	L	L	L	L
47	0	H	H	H	H	H	H	L	L	H	L	L	H	H
48	0	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H
49	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H
50	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	L	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D6Rat109	D7Mgh9	D7Mit7	D7Mit6	D7Rat100	D7Mit8	D8Mit5	D8Rat77	D8Mit2	D8Mgh4	D8Mgh1	D9Mit6	D9Rat30
	RNO →	6	7	7	7	7	7	8	8	8	8	8	9	9
Tier	cM →	85	4	28	42	57	82	0	0	29	47	74	3	21
51	0	L	H	H	H	L	H	L	L	L	L	H	H	H
52	1	H	L	L	L	L	H	L	L	L	L	L	L	L
53	0	L	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	H	H
54	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	H	H	L	L
55	0	L	H	H	H	L	L	L	L	L	H	H	L	L
56	0	L	H	L	L	H	H	L	L	L	L	H	L	L
57	0	H	L	L	L	L	H	H	L	H	H	H	H	H
58	0	H	L	L	L	H	H	L	L	L	L	L	H	H
59	0	H	L	L	L	L	H	L	L	H	H	H	L	L
60	0	L	H	H	H	L	L	H	H	H	H	H	H	H
61	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
62	0	L	L	L	L	L	L	H	H	L	L	L	L	L
63	0	H	H	L	L	L	L	H	H	L	L	H	L	L
64	0	L	L	L	H	H	L	H	H	L	L	L	L	L
65	0	H	L	L	L	H	L	L	H	L	L	L	L	L
66	0	H	L	L	H	H	H	L	L	H	H	H	H	H
67	0	H	L	H	H	H	L	L	H	L	L	L	H	H
68	0	L	H	H	H	H	L	L	H	L	L	L	L	L
69	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
70	1	L	L	L	L	L	H	L	L	H	H	L	H	L
71	0	H	L	H	H	L	L	L	L	L	L	L	H	L
72	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H
73	0	H	L	L	L	L	L	L	H	L	L	H	H	H
74	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	H	H	L	L
75	1	L	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L
76	0	H	H	H	L	H	L	L	H	L	L	L	H	H
77	0	L	L	H	H	L	L	H	H	L	H	H	L	L
78	0	H	H	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H
79	0	L	H	H	H	H	H	L	L	H	H	L	H	H
80	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L	L
81	0	L	H	L	L	H	H	H	H	H	H	L	L	L
82	0	L	L	L	L	H	H	H	H	L	L	L	L	L
83	0	H	H	H	H	H	H	L	H	L	H	H	H	H
84	0	H	L	L	L	H	L	L	L	L	L	L	H	L
85	0	H	L	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L
86	0	H	H	H	H	L	H	H	L	H	H	H	H	H
87	0	L	H	H	H	L	L	H	H	L	L	L	L	L
88	0	L	H	L	L	H	H	L	L	L	L	H	H	H
89	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
90	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L
91	0	H	L	L	H	H	L	L	L	L	L	H	H	H
92	0	H	H	H	H	H	H	L	H	L	H	H	H	H
93	0	L	H	L	L	H	H	L	L	L	L	H	H	L
94	0	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H	L	L
95	0	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H	L	L
96	0	L	L	L	L	H	L	H	H	H	H	H	H	H
97	0	H	L	H	H	H	H	L	-	L	L	L	H	L
98	0	H	L	H	H	H	H	H	-	H	H	H	L	L
99	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
100	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	H	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D6Rat109	D7Mgh9	D7Mit7	D7Mit6	D7Rat100	D7Mit8	D8Mit5	D8Rat77	D8Mit2	D8Mgh4	D8Mgh1	D9Mit6	D9Rat30
	RNO →	6	7	7	7	7	7	8	8	8	8	8	9	9
Tier	cM →	85	4	28	42	57	82	0	0	29	47	74	3	21
101	0	L	L	L	L	L	H	H	H	L	L	H	H	H
102	0	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H
103	0	L	L	L	H	H	L	H	H	H	L	L	L	L
104	0	H	L	H	H	H	H	L	L	L	L	L	H	H
105	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
106	0	H	H	H	L	H	H	L	L	H	H	L	L	H
107	0	L	L	L	H	H	L	H	L	H	H	H	L	L
108	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L	L
109	1	L	L	L	H	H	L	L	H	L	L	L	H	L
110	0	H	L	L	H	H	H	H	H	L	L	L	H	H
111	0	L	L	L	H	H	L	H	L	L	L	L	L	L
112	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L
113	0	H	L	L	L	L	L	H	-	H	L	H	H	H
114	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	H	H
115	0	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L
116	0	L	H	H	H	H	L	L	H	L	H	L	L	L
117	0	L	H	H	H	L	L	L	H	L	L	L	L	L
118	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H	L	L
119	0	H	L	L	L	L	L	H	H	L	L	H	H	H
120	0	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H
121	0	H	L	L	H	H	L	H	L	H	H	H	L	L
122	0	L	L	L	L	L	L	L	-	L	H	H	H	H
123	0	L	L	H	H	H	H	L	L	L	H	H	L	L
124	0	H	L	L	L	H	H	H	L	H	H	L	H	L
125	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
126	0	L	L	L	H	H	H	L	-	L	L	L	H	H
127	0	H	L	H	H	L	L	H	H	H	H	H	L	L
128	0	L	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L	H	H
129	0	L	H	H	H	H	H	H	-	L	L	H	L	L
130	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L
131	0	H	L	L	L	H	H	H	H	H	H	L	L	L
132	0	H	H	H	H	L	L	H	-	H	H	H	H	H
133	0	L	H	L	L	L	L	H	-	L	L	H	L	L
134	0	H	L	L	L	H	H	H	L	H	H	L	H	H
135	0	L	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L	H	H
136	0	L	L	L	L	-	L	H	H	L	H	H	H	H
137	0	H	L	H	L	L	H	H	L	H	L	L	L	L
138	0	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	-
139	0	H	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H
140	0	H	H	H	H	H	H	L	H	L	L	H	L	L
141	0	L	H	H	H	H	L	H	H	H	H	H	L	L
142	0	H	H	L	L	L	L	H	H	H	H	L	L	L
143	0	H	L	L	L	H	L	L	H	L	L	H	L	L
144	0	L	L	L	H	H	H	L	-	L	L	L	H	H
145	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	L
146	0	L	L	L	L	L	H	L	L	H	H	H	L	H
147	0	L	L	L	L	H	L	H	H	L	L	L	L	-
148	1	L	L	L	H	H	H	H	H	L	L	L	H	H
149	0	L	L	L	L	H	L	H	H	H	H	H	L	L
150	0	H	L	L	H	H	L	H	H	L	L	L	L	H

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D6Rat109	D7Mgh9	D7Mit7	D7Mit6	D7Rat100	D7Mit8	D8Mit5	D8Rat77	D8Mit2	D8Mgh4	D8Mgh1	D9Mit6	D9Rat30
	RNO →	6	7	7	7	7	7	8	8	8	8	8	9	9
Tier	cM →	85	4	28	42	57	82	0	0	29	47	74	3	21
151	0	H	L	L	H	H	L	H	L	H	H	H	L	H
152	0	H	L	L	L	-	L	L	H	L	L	L	H	H
153	0	H	H	L	L	L	L	H	L	H	H	L	L	L
154	0	L	L	L	L	H	L	H	L	H	L	L	L	H
155	0	H	L	L	L	H	H	H	H	H	H	L	H	-
156	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	L	H	-
157	0	H	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L
158	0	H	L	L	L	L	L	H	H	H	L	L	H	L
159	0	L	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H	H	H
160	1	L	L	H	H	H	L	H	L	H	H	L	L	L
161	0	L	H	H	H	L	H	L	L	H	L	L	L	H
162	0	H	L	H	H	L	L	L	L	L	L	L	H	H
163	0	H	H	H	H	L	H	L	H	L	L	L	L	L
164	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
165	0	L	H	H	L	L	L	L	H	L	L	L	H	L
166	0	L	L	L	L	L	H	L	H	H	H	L	L	L
167	0	L	L	H	H	L	H	H	H	H	H	H	H	L
168	0	L	L	H	H	L	H	L	L	L	L	L	H	L
169	0	H	H	H	H	L	H	L	L	L	H	H	H	H
170	0	L	L	H	H	H	H	L	L	L	L	H	H	L
171	1	L	L	L	L	H	L	H	-	H	H	H	L	H
172	0	L	H	L	L	L	H	H	L	H	L	L	L	H
173	0	L	L	L	L	H	L	H	L	H	H	L	L	L
174	0	H	L	L	L	H	L	H	L	L	L	L	L	L
175	0	H	L	L	L	L	H	H	L	H	H	L	L	H
176	0	H	H	H	H	H	L	H	L	H	L	H	L	H
177	0	L	L	L	H	L	L	L	H	L	L	H	H	H
178	0	H	H	H	L	L	L	H	L	H	H	L	L	L
179	0	H	L	L	L	H	H	H	H	H	L	L	H	L
180	0	H	H	L	L	H	H	H	L	H	L	L	L	H
181	0	H	H	H	H	L	H	L	-	L	L	H	H	H
182	0	H	L	L	L	H	H	H	-	H	H	L	L	L
183	1	H	L	L	L	L	H	H	L	H	H	H	H	H
184	0	H	H	H	H	H	L	L	-	L	L	H	L	L
185	0	-	L	L	L	L	L	L	L	H	H	L	L	H
186	0	-	L	L	L	H	L	L	L	L	L	L	H	L
187	0	-	L	H	H	L	H	L	H	H	H	H	H	H
188	1	-	H	L	L	L	L	L	H	L	H	H	H	L
189	0	-	H	H	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H
190	0	-	L	L	L	L	L	L	H	L	L	L	H	L
191	0	-	L	H	H	L	H	L	L	L	L	H	L	H
192	1	-	H	L	L	L	L	L	-	L	L	L	L	L
193	0	L	H	H	H	H	H	H	L	H	L	L	H	L
194	0	H	L	L	L	L	L	H	H	H	L	L	H	H
195	0	L	L	L	H	L	L	H	H	H	H	L	H	H
196	0	H	H	H	H	L	L	H	L	H	H	L	H	H
197	0	L	H	H	L	H	H	H	H	L	H	H	L	H
198	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L
199	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
200	0	H	H	H	H	L	L	L	H	L	L	L	H	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	<i>D6Rat109</i>	<i>D7Mgh9</i>	<i>D7Mit7</i>	<i>D7Mit6</i>	<i>D7Rat100</i>	<i>D7Mit8</i>	<i>D8Mit5</i>	<i>D8Rat77</i>	<i>D8Mit2</i>	<i>D8Mgh4</i>	<i>D8Mgh1</i>	<i>D9Mit6</i>	<i>D9Rat30</i>
	RNO →	6	7	7	7	7	7	8	8	8	8	8	9	9
Tier	cM →	85	4	28	42	57	82	0	0	29	47	74	3	21
201	0	H	L	L	L	L	L	L	H	L	L	L	H	H
202	0	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L	H	H
203	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	L	L	H	H
204	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L	H
205	0	L	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	H	L
206	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	L	L
207	0	H	L	L	L	H	H	H	H	H	H	L	L	L
208	0	H	H	H	H	L	L	H	H	H	H	H	H	H
209	0	L	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L	H	H
210	0	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H
211	0	L	L	L	H	H	L	L	L	H	L	L	L	L
212	0	H	H	H	H	L	L	H	H	H	L	L	H	H
213	0	H	H	H	L	H	H	L	L	L	L	L	H	H
214	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	H	H	L	L
215	0	L	H	L	L	H	H	L	L	L	H	L	H	L
216	0	L	L	L	L	L	H	L	L	L	L	L	H	H
217	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L
218	0	L	H	H	L	H	L	H	H	L	L	L	H	H

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D9Rat17	D9Mit2	D9Rat106	D9Mgh5	D10Rat183	D10Mgh10	D10Mgh6	D10Mgh5	D10Mgh4	D10Rat2	D11Rat27
	RNO →	9	9	9	9	10	10	10	10	10	10	11
Tier	cM →	42	45	58	72	8	34	46	64	73	94	3
1	0	L	L	L	H	H	H	H	L	L	L	L
2	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	H
3	0	L	L	L	L	H	H	L	L	L	L	L
4	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
5	0	L	L	L	L	L	H	H	L	L	L	L
6	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H
7	0	H	H	L	-	H	H	H	H	H	H	L
8	0	H	H	H	L	H	H	H	L	L	L	H
9	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H
10	0	L	L	L	L	H	H	H	H	L	L	H
11	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H
12	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	L	H
13	1	L	L	L	L	H	H	H	H	H	L	H
14	0	L	H	H	L	H	H	H	H	L	L	H
15	1	H	H	H	H	L	L	L	L	H	H	L
16	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H
17	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
18	0	L	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L
19	0	H	H	H	H	L	H	H	H	H	H	L
20	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
21	0	L	L	L	H	L	L	L	L	L	L	L
22	0	H	H	H	L	H	L	L	L	H	H	L
23	0	H	H	L	H	L	L	L	L	L	L	H
24	0	L	H	H	L	H	H	H	L	-	L	L
25	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
26	0	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H	L
27	0	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L	H
28	0	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L	H
29	0	L	L	H	H	L	L	L	L	L	L	H
30	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
31	0	H	H	H	H	L	L	H	H	H	H	H
32	0	L	L	L	H	L	H	H	H	L	L	L
33	0	H	H	H	L	L	H	H	L	L	L	H
34	0	L	L	L	H	L	L	L	H	H	H	L
35	0	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H
36	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
37	0	L	L	-	H	H	L	L	L	L	L	L
38	0	H	H	H	H	H	L	L	H	L	L	H
39	0	H	H	H	H	L	L	H	H	L	L	H
40	1	L	L	L	L	L	H	H	H	H	L	L
41	0	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L	H
42	0	L	L	L	L	H	L	L	L	L	L	H
43	0	H	H	H	H	L	L	H	L	L	L	L
44	0	H	H	H	H	L	L	L	L	L	H	H
45	0	H	H	H	L	L	H	H	H	H	H	L
46	0	H	H	H	L	H	L	L	H	H	H	L
47	0	L	L	H	H	L	H	H	H	H	H	L
48	0	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L
49	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
50	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D9Rat17	D9Mit2	D9Rat106	D9Mgh5	D10Rat183	D10Mgh10	D10Mgh6	D10Mgh5	D10Mgh4	D10Rat2	D11Rat27
	RNO →	9	9	9	9	10	10	10	10	10	10	11
Tier	cM →	42	45	58	72	8	34	46	64	73	94	3
51	0	H	H	H	H	L	L	H	L	L	L	L
52	1	L	L	L	L	H	H	H	H	H	L	L
53	0	H	H	H	H	H	H	L	H	L	L	H
54	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	L
55	0	L	H	H	L	L	L	L	H	L	L	L
56	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
57	0	H	H	H	H	L	L	H	H	H	H	L
58	0	H	H	-	H	L	L	L	H	H	-	H
59	0	L	L	H	L	H	H	L	L	L	L	H
60	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H
61	0	L	L	L	L	H	L	L	L	L	L	H
62	0	H	H	H	L	L	H	L	L	L	L	L
63	0	H	H	H	L	H	H	L	L	-	L	H
64	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H
65	0	L	L	L	L	H	L	L	L	L	L	H
66	0	H	H	L	H	L	H	H	H	H	H	L
67	0	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L
68	0	H	H	H	L	H	H	L	L	L	L	H
69	0	L	L	L	H	L	L	L	L	L	L	L
70	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L
71	0	L	L	L	H	L	L	L	L	L	L	H
72	0	H	H	-	H	L	H	L	L	L	L	L
73	0	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L	H
74	0	H	H	H	L	L	L	L	H	H	H	H
75	1	L	H	L	H	L	L	L	H	L	L	L
76	0	H	L	L	H	H	H	H	H	H	L	H
77	0	H	H	H	L	H	L	H	H	H	H	L
78	0	H	H	H	H	L	H	H	H	L	L	H
79	0	H	H	H	H	L	L	L	H	L	L	L
80	0	L	L	L	L	H	H	H	H	L	L	L
81	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
82	0	L	L	L	L	L	L	L	H	L	L	H
83	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
84	0	L	H	L	H	L	H	H	H	L	L	H
85	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
86	0	H	H	H	H	H	L	H	H	H	H	H
87	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
88	0	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L
89	0	H	H	H	L	L	H	L	L	L	L	-
90	0	H	H	H	L	H	L	L	L	H	H	-
91	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	-
92	0	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L	-
93	0	L	L	H	H	H	H	H	L	L	L	-
94	0	L	L	H	L	L	L	L	L	L	L	-
95	0	L	L	H	L	H	L	L	L	H	L	-
96	0	L	H	L	H	-	L	L	L	-	L	H
97	0	L	L	H	L	-	H	L	L	H	L	H
98	0	L	L	L	L	-	L	H	L	-	L	H
99	0	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H
100	0	L	L	H	H	H	H	H	H	L	L	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier
 RNO = Chromosom
 cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM
 L = homozygot für Lewis
 H = heterozygot

	Diabetes ↓	D9Rat17	D9Mit2	D9Rat106	D9Mgh5	D10Rat183	D10Mgh10	D10Mgh6	D10Mgh5	D10Mgh4	D10Rat2	D11Rat27
	RNO →	9	9	9	9	10	10	10	10	10	10	11
Tier	cM →	42	45	58	72	8	34	46	64	73	94	3
101	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	L	L
102	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H
103	0	L	L	L	L	H	H	L	L	L	L	L
104	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	H
105	0	-	H	H	L	L	L	L	H	H	H	L
106	0	H	H	H	L	H	L	L	H	H	H	L
107	0	L	L	H	L	H	H	H	H	H	H	H
108	0	L	L	L	L	H	H	L	L	L	L	L
109	1	L	L	L	H	L	L	H	H	H	H	H
110	0	L	L	L	H	L	L	L	L	L	L	H
111	0	L	L	L	L	H	L	L	L	L	L	L
112	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	L
113	0	H	H	L	H	-	H	H	H	-	H	L
114	0	H	H	L	H	L	L	L	L	L	L	L
115	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L
116	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L
117	0	L	L	H	L	-	H	L	L	-	L	H
118	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	H
119	0	H	H	H	H	H	L	L	H	H	H	H
120	0	H	H	L	H	L	L	L	L	L	H	H
121	0	L	L	L	L	H	L	L	H	H	H	H
122	0	H	H	H	H	-	L	L	H	-	H	L
123	0	L	L	L	L	H	H	L	L	L	L	L
124	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H
125	0	L	L	L	H	L	L	L	L	-	L	H
126	0	H	H	H	H	-	L	L	L	-	H	H
127	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
128	0	H	H	-	H	H	H	H	H	H	-	L
129	0	L	L	L	L	-	L	L	H	-	H	H
130	0	H	H	H	L	H	L	L	L	H	H	H
131	0	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H
132	0	L	L	L	H	-	L	L	H	-	L	H
133	0	L	L	L	L	-	L	L	L	-	L	H
134	0	H	H	L	L	H	L	L	L	L	L	H
135	0	H	H	L	H	L	L	H	H	H	H	L
136	0	L	L	L	H	L	L	L	H	L	L	H
137	0	H	H	L	L	L	H	H	L	L	L	L
138	0	L	L	L	H	L	L	L	H	L	L	H
139	0	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L	H
140	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	L	L
141	0	H	H	H	L	H	H	H	H	H	H	H
142	0	L	L	L	L	-	H	H	H	L	L	H
143	0	H	H	H	L	H	H	H	H	L	L	L
144	0	L	L	L	H	-	H	H	H	-	L	H
145	0	L	L	H	H	L	L	L	L	L	L	L
146	0	L	L	H	L	-	L	L	L	-	L	L
147	0	H	H	H	L	H	H	H	L	L	L	H
148	1	L	L	L	H	L	L	L	L	L	L	L
149	0	L	H	H	L	H	L	L	L	L	H	L
150	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	H

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier
 RNO = Chromosom
 cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM
 L = homozygot für Lewis
 H = heterozygot

	Diabetes ↓	D9Rat17	D9Mit2	D9Rat106	D9Mgh5	D10Rat183	D10Mgh10	D10Mgh6	D10Mgh5	D10Mgh4	D10Rat2	D11Rat27
	RNO →	9	9	9	9	10	10	10	10	10	10	11
Tier	cM →	42	45	58	72	8	34	46	64	73	94	3
151	0	L	L	L	L	H	L	L	L	H	H	L
152	0	H	L	H	H	H	H	H	H	L	L	L
153	0	L	L	L	L	H	H	L	L	L	L	L
154	0	H	H	H	L	L	L	L	L	-	L	L
155	0	H	H	L	H	H	H	H	H	H	H	L
156	0	H	H	H	H	L	H	L	H	H	H	L
157	0	H	H	H	L	H	H	H	H	H	H	L
158	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
159	0	H	H	H	H	L	L	H	L	L	L	L
160	1	H	H	H	L	-	H	L	H	-	H	H
161	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L
162	0	H	H	H	H	L	H	H	H	H	H	H
163	0	H	H	H	L	-	L	L	L	-	L	L
164	1	H	H	H	H	-	L	L	H	-	L	H
165	0	H	H	H	H	H	L	L	H	L	L	H
166	0	H	H	H	L	H	H	H	H	H	H	L
167	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	L
168	0	H	H	L	H	-	L	H	L	-	L	H
169	0	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L	-
170	0	H	H	H	H	L	L	L	L	L	H	H
171	1	L	L	H	L	-	L	L	L	-	L	L
172	0	H	H	L	H	H	H	H	H	H	H	L
173	0	L	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L
174	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H
175	0	L	L	H	L	H	H	H	H	H	L	H
176	0	L	L	H	L	H	H	L	H	H	H	L
177	0	L	L	H	H	L	L	L	L	-	L	H
178	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
179	0	L	L	L	L	H	H	H	L	-	L	-
180	0	H	H	H	H	-	H	H	H	H	H	L
181	0	L	L	L	L	L	L	L	H	-	H	H
182	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
183	1	L	L	L	L	L	L	L	L	-	L	H
184	0	H	L	H	H	-	H	H	H	-	H	L
185	0	H	L	H	L	H	H	L	L	-	H	H
186	0	L	H	H	L	L	L	L	L	L	L	H
187	0	L	L	L	H	H	L	L	L	L	L	L
188	1	H	H	H	H	-	L	H	H	-	H	L
189	0	L	H	L	H	-	H	H	H	-	H	L
190	0	L	L	L	H	L	L	L	L	-	L	H
191	0	H	H	H	H	-	L	L	L	-	L	H
192	1	L	L	H	H	L	H	H	H	H	L	H
193	0	L	L	L	L	<i>H</i>	L	L	L	L	L	H
194	0	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L
195	0	L	L	L	H	L	L	L	L	L	H	L
196	0	H	H	H	H	<i>L</i>	L	L	L	L	L	L
197	0	H	H	L	H	H	H	H	H	L	L	L
198	0	H	H	H	L	H	L	L	L	L	L	H
199	0	L	L	L	L	<i>H</i>	L	L	L	L	L	L
200	0	L	L	L	L	<i>H</i>	H	L	L	L	L	H

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D9Rat17	D9Mit2	D9Rat106	D9Mgh5	D10Rat183	D10Mgh10	D10Mgh6	D10Mgh5	D10Mgh4	D10Rat2	D11Rat27
	RNO →	9	9	9	9	10	10	10	10	10	10	11
Tier	cM →	42	45	58	72	8	34	46	64	73	94	3
201	0	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L
202	0	H	H	H	H	H	H	L	L	L	H	H
203	0	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L	H
204	0	L	L	L	H	H	H	L	L	H	H	L
205	0	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L
206	0	L	L	L	H	H	H	H	L	L	L	L
207	0	H	H	H	L	H	L	L	H	H	H	H
208	0	L	L	L	H	H	H	L	H	H	H	H
209	0	L	L	L	H	L	L	L	H	H	H	L
210	0	L	L	H	H	L	L	L	L	L	L	H
211	0	L	L	H	L	L	H	H	H	H	L	L
212	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
213	0	H	L	L	H	L	L	H	H	H	H	H
214	0	L	L	L	L	H	H	L	H	H	H	L
215	0	L	L	L	H	L	L	L	L	L	L	H
216	0	H	H	H	H	L	H	H	H	H	H	L
217	0	L	H	H	H	H	L	L	H	H	H	H
218	0	L	L	L	H	H	H	H	L	L	L	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D11Rat76	D11Rat24	D11Rat93	D11Rat46	D11Mgh3	D12Wox6	D12Rat68	D12Mit2	D12Rat36	D13Mgh1	D13Rat32
	RNO →	11	11	11	11	11	12	12	12	12	13	13
Tier	cM →	6	13	30	36	49	10	22	23	42	2	31
1	0	L	L	H	H	H	L	L	L	L	H	L
2	0	H	H	L	L	L	H	H	H	H	H	L
3	0	H	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H
4	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L	L
5	0	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L
6	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
7	0	H	L	H	H	H	H	H	H	H	L	L
8	0	H	H	H	H	H	L	L	L	L	H	H
9	0	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L	H
10	0	H	H	H	H	H	L	L	L	L	H	L
11	0	H	H	L	L	L	H	H	H	L	L	H
12	0	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L	H
13	1	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H
14	0	L	H	H	L	H	H	H	H	L	L	L
15	1	L	L	H	H	H	L	L	L	H	H	H
16	0	H	H	H	L	H	L	L	L	L	L	L
17	0	L	L	H	H	H	H	H	H	L	H	H
18	0	H	L	L	H	L	H	H	H	H	L	L
19	0	H	L	L	L	L	H	H	H	H	L	H
20	0	L	L	L	L	L	H	H	H	L	L	H
21	0	H	L	L	L	-	L	L	L	H	H	H
22	0	L	L	H	H	-	H	-	H	H	L	L
23	0	H	H	H	H	H	L	H	H	H	L	L
24	0	L	L	L	L	L	H	H	H	L	L	L
25	0	L	L	H	H	H	L	L	L	H	H	H
26	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
27	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	H
28	0	H	H	L	L	L	H	H	H	H	L	L
29	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	H
30	0	H	H	L	L	L	L	L	L	H	H	H
31	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L
32	0	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H	L
33	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
34	0	L	-	L	L	L	H	H	H	H	L	L
35	0	H	-	L	L	L	L	H	H	H	L	H
36	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H
37	0	L	-	H	H	H	L	L	L	L	H	L
38	0	H	-	H	H	H	H	-	L	L	H	H
39	0	H	-	H	H	H	H	H	H	H	L	L
40	1	H	L	L	L	L	H	H	H	H	H	L
41	0	H	H	H	H	H	L	L	L	L	H	L
42	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
43	0	L	L	L	H	L	H	H	H	H	H	L
44	0	H	H	L	L	L	H	H	H	H	H	H
45	0	L	-	H	H	H	H	H	H	L	H	H
46	0	L	-	L	L	L	L	L	L	L	H	H
47	0	L	-	H	H	H	H	H	H	H	L	L
48	0	L	L	L	L	L	H	L	L	L	L	H
49	0	H	L	L	H	L	L	H	H	H	L	L
50	0	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L	H

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D11Rat76	D11Rat24	D11Rat93	D11Rat46	D11Mgh3	D12Wox6	D12Rat68	D12Mit2	D12Rat36	D13Mgh1	D13Rat32
	RNO →	11	11	11	11	11	12	12	12	12	13	13
Tier	cM →	6	13	30	36	49	10	22	23	42	2	31
51	0	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L	H
52	1	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
53	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	H
54	0	L	L	L	L	L	H	L	L	L	L	H
55	0	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H
56	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	H
57	0	L	L	L	L	L	L	L	H	L	H	L
58	0	H	-	H	-	H	L	L	H	L	L	H
59	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
60	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	H	H
61	0	H	-	L	H	L	H	L	L	L	L	H
62	0	L	-	L	L	L	H	H	H	H	L	H
63	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
64	0	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L
65	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
66	0	L	L	L	L	L	L	H	L	L	L	L
67	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
68	0	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L
69	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
70	1	L	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L
71	0	H	H	L	L	L	H	H	L	L	L	H
72	0	L	-	H	-	H	L	L	L	L	H	H
73	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
74	0	H	H	L	L	L	L	L	L	H	H	H
75	1	L	L	L	L	L	L	H	L	H	L	L
76	0	H	H	L	L	L	L	H	H	H	L	L
77	0	L	H	L	L	L	L	H	H	H	H	H
78	0	H	H	H	H	H	L	H	H	H	H	H
79	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	L
80	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
81	0	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H	L
82	0	L	H	L	L	L	L	L	L	L	H	H
83	0	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H
84	0	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L
85	0	H	H	L	L	L	L	L	L	H	L	L
86	0	L	L	H	H	H	L	L	L	H	L	L
87	0	L	L	L	H	L	L	H	H	H	H	L
88	0	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H
89	0	L	L	H	H	H	H	L	L	L	L	L
90	0	L	H	L	L	L	L	H	L	H	H	H
91	0	L	L	H	H	H	L	L	L	L	L	L
92	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	H
93	0	L	L	L	H	L	L	L	L	L	L	L
94	0	H	H	L	L	L	L	H	L	L	H	H
95	0	L	L	L	H	L	L	L	L	L	L	H
96	0	H	H	H	-	H	L	L	L	L	H	H
97	0	H	-	H	H	H	L	H	H	H	L	L
98	0	H	-	L	L	L	L	L	L	L	L	L
99	0	H	-	H	H	H	L	H	H	L	L	H
100	0	L	-	L	L	L	L	L	L	L	L	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D11Rat76	D11Rat24	D11Rat93	D11Rat46	D11Mgh3	D12Wox6	D12Rat68	D12Mit2	D12Rat36	D13Mgh1	D13Rat32
	RNO →	11	11	11	11	11	12	12	12	12	13	13
Tier	cM →	6	13	30	36	49	10	22	23	42	2	31
101	0	L	-	H	H	H	H	H	H	L	H	L
102	0	H	-	H	H	-	L	H	H	H	L	H
103	0	L	-	L	L	L	L	H	H	H	H	H
104	0	H	-	H	L	H	H	H	H	H	H	-
105	0	L	-	L	H	L	H	H	H	H	L	H
106	0	L	-	L	L	L	L	H	H	H	H	L
107	0	H	-	L	L	L	H	H	H	L	L	L
108	0	L	-	L	L	L	L	H	L	L	L	L
109	1	H	-	L	L	L	L	H	H	H	L	L
110	0	H	-	L	L	L	L	H	H	L	L	L
111	0	L	-	H	H	H	L	H	H	H	L	L
112	0	L	-	H	H	H	L	L	L	L	L	L
113	0	L	-	H	H	H	H	H	L	L	H	H
114	0	L	-	L	L	L	L	L	L	L	L	L
115	0	L	-	L	L	L	L	H	H	H	H	L
116	0	L	-	L	L	L	L	H	H	H	H	H
117	0	H	-	H	H	H	L	H	H	H	L	L
118	0	H	-	L	L	L	L	L	L	L	L	H
119	0	H	-	L	L	L	L	L	L	H	L	H
120	0	H	-	L	L	L	L	L	L	L	H	H
121	0	H	-	H	H	H	L	L	L	H	L	L
122	0	L	-	H	H	H	L	L	L	L	H	L
123	0	L	-	H	H	H	L	L	L	L	L	L
124	0	H	-	H	H	H	L	L	H	L	L	H
125	0	H	-	L	L	L	L	L	H	H	H	H
126	0	H	-	H	L	H	L	L	H	H	L	L
127	0	L	-	L	L	L	L	H	H	H	L	L
128	0	L	-	H	-	H	L	L	L	L	L	L
129	0	H	-	H	H	H	L	H	H	H	L	L
130	0	H	-	H	H	H	L	L	L	L	H	H
131	0	H	-	L	L	L	L	H	H	H	L	L
132	0	H	-	H	H	H	L	L	L	L	H	L
133	0	H	-	H	L	H	L	L	L	H	L	L
134	0	H	-	H	H	H	L	L	L	H	L	L
135	0	L	-	L	L	L	L	L	H	L	H	H
136	0	H	-	H	H	H	L	H	H	H	H	L
137	0	L	-	L	L	L	H	H	H	H	L	H
138	0	H	-	H	H	H	L	L	L	L	H	L
139	0	H	-	H	H	H	L	L	L	H	H	H
140	0	H	-	H	H	H	L	H	H	H	H	H
141	0	H	-	L	L	L	H	H	H	L	L	L
142	0	H	-	H	H	H	H	H	H	H	H	L
143	0	L	-	L	L	L	L	L	H	L	H	H
144	0	H	-	L	L	L	L	L	L	L	H	H
145	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H
146	0	L	L	L	L	L	H	L	L	L	L	L
147	0	L	L	L	L	L	H	H	L	L	H	L
148	1	L	L	H	H	H	L	H	H	H	H	H
149	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
150	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D11Rat76	D11Rat24	D11Rat93	D11Rat46	D11Mgh3	D12Wox6	D12Rat68	D12Mit2	D12Rat36	D13Mgh1	D13Rat32
	RNO →	11	11	11	11	11	12	12	12	12	13	13
Tier	cM →	6	13	30	36	49	10	22	23	42	2	31
151	0	L	H	H	H	H	L	L	L	L	H	H
152	0	L	L	L	L	L	H	H	H	H	L	L
153	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L
154	0	L	L	H	H	H	L	L	L	L	H	H
155	0	L	L	H	H	H	L	H	H	H	H	L
156	0	L	L	L	L	L	H	H	H	H	L	L
157	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
158	0	L	L	H	H	H	H	H	H	L	H	H
159	0	L	L	L	L	L	H	H	H	H	L	H
160	1	H	H	L	-	L	H	H	H	H	L	H
161	0	L	L	H	H	H	L	L	L	L	L	L
162	0	H	H	L	L	L	L	L	L	H	H	H
163	0	L	L	L	H	L	H	H	H	H	L	L
164	1	H	H	H	H	H	L	L	L	L	H	H
165	0	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L	H
166	0	H	H	L	L	L	H	H	H	H	L	L
167	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	L
168	0	H	H	H	H	H	L	L	L	L	H	H
169	0	H	H	H	L	H	L	L	L	L	H	H
170	0	H	H	H	H	H	L	L	L	H	L	L
171	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
172	0	L	L	H	H	H	L	L	L	H	H	H
173	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	L	L
174	0	H	H	H	L	H	H	H	H	L	L	L
175	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L
176	0	L	L	H	H	H	L	L	L	L	L	L
177	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	H	L
178	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	L	L
179	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
180	0	L	L	H	H	H	L	L	L	H	H	H
181	0	H	H	H	H	H	L	L	L	L	H	L
182	0	H	H	H	L	H	H	H	H	L	H	H
183	1	H	H	H	L	H	H	H	L	H	L	L
184	0	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L	H
185	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H
186	0	H	H	L	L	L	H	H	H	L	H	H
187	0	L	L	H	H	H	L	L	L	L	H	L
188	1	L	L	L	L	L	H	H	H	H	L	H
189	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H
190	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L
191	0	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H
192	1	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L
193	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L
194	0	L	L	H	L	L	H	H	H	H	H	H
195	0	L	L	L	L	L	H	H	H	H	L	L
196	0	L	L	L	L	L	H	H	H	L	L	H
197	0	L	L	L	L	L	H	H	H	L	L	L
198	0	H	H	H	L	H	L	L	L	L	H	L
199	0	L	L	H	H	H	L	H	H	H	H	H
200	0	H	H	L	L	L	L	L	L	H	H	H

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	<i>D11Rat76</i>	<i>D11Rat24</i>	<i>D11Rat93</i>	<i>D11Rat46</i>	<i>D11Mgh3</i>	<i>D12Wox6</i>	<i>D12Rat68</i>	<i>D12Mit2</i>	<i>D12Rat36</i>	<i>D13Mgh1</i>	<i>D13Rat32</i>
	RNO →	11	11	11	11	11	12	12	12	12	13	13
Tier	cM →	6	13	30	36	49	10	22	23	42	2	31
201	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L	H
202	0	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L	H
203	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H
204	0	L	L	L	L	L	H	H	H	H	L	L
205	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L	L
206	0	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H	L
207	0	H	-	L	L	L	L	L	L	L	L	L
208	0	H	H	L	L	L	H	H	H	H	L	H
209	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
210	0	H	H	L	L	L	H	H	H	L	H	H
211	0	L	L	H	H	H	L	L	L	H	L	L
212	0	L	-	H	H	H	H	H	H	H	L	H
213	0	H	H	H	L	H	H	L	L	L	H	L
214	0	L	L	L	L	L	L	L	L	-	H	H
215	0	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L
216	0	L	L	-	L	L	L	H	H	H	H	H
217	0	H	H	-	L	H	H	H	H	H	H	L
218	0	L	L	H	H	H	L	H	H	H	H	H

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D13Rat152	D13Arb11	D14Rat5	D14Mit2	D14Rat13	D14Mit8	D14Mit4	D15Mit2	D15Mgh7	D15Mgh2	D 15 Mgh4
	RNO →	13	13	14	14	14	14	14	15	15	15	15
Tier	cM →	41	42	6	7	24	38	40	12	15	20	31
1	0	L	L	H	H	H	H	H	L	L	H	H
2	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	L	L
3	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
4	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	H	H
5	0	H	H	H	H	H	L	L	H	H	L	L
6	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
7	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	L
8	0	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L
9	0	H	H	L	L	L	L	L	H	H	H	H
10	0	L	L	L	L	H	H	H	L	L	L	L
11	0	H	H	H	L	L	L	L	H	H	H	H
12	0	H	H	L	L	L	L	L	H	H	H	H
13	1	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
14	0	L	L	H	H	L	L	L	H	H	H	H
15	1	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
16	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	L
17	0	H	H	L	L	L	L	L	H	H	H	L
18	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
19	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
20	0	H	H	L	L	L	L	L	H	H	H	H
21	0	H	H	L	L	H	H	H	L	L	L	L
22	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	H
23	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
24	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	L	L
25	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L
26	0	L	H	L	H	L	L	L	H	H	H	H
27	0	H	H	L	L	L	H	L	L	L	L	L
28	0	L	L	L	L	L	H	H	L	L	L	L
29	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
30	0	H	H	L	L	L	L	L	H	H	L	L
31	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
32	0	L	L	L	L	L	H	H	L	L	L	H
33	0	H	H	L	L	L	L	L	H	H	H	H
34	0	H	H	L	L	L	L	L	H	H	H	L
35	0	H	H	L	L	L	H	H	L	L	L	L
36	0	H	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H
37	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
38	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H	L
39	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L
40	1	L	L	L	L	L	H	H	L	L	L	L
41	0	L	L	H	H	H	H	H	L	H	H	H
42	0	L	L	H	H	H	H	H	L	L	L	L
43	0	L	L	H	H	L	L	L	H	H	H	H
44	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H	H
45	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
46	0	H	H	L	L	H	H	H	L	L	L	H
47	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
48	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
49	0	H	H	L	L	L	L	L	H	H	L	L
50	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier
 RNO = Chromosom
 cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM
 L = homozygot für Lewis
 H = heterozygot

	Diabetes ↓	D13Rat152	D13Arb11	D14Rat5	D14Mit2	D14Rat13	D14Mit8	D14Mit4	D15Mit2	D15Mgh7	D15Mgh2	D 15 Mgh4
	RNO →	13	13	14	14	14	14	14	15	15	15	15
Tier	cM →	41	42	6	7	24	38	40	12	15	20	31
51	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H	H
52	1	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
53	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	L
54	0	L	L	H	H	H	H	H	L	L	L	H
55	0	H	H	H	H	L	L	L	H	H	H	H
56	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
57	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
58	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
59	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
60	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	L
61	0	L	L	H	H	H	H	H	L	L	L	H
62	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
63	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	L
64	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	H
65	0	H	H	L	H	H	H	H	L	L	L	L
66	0	H	H	L	L	H	H	H	L	L	L	L
67	0	L	L	H	H	H	H	H	L	L	L	L
68	0	L	L	H	H	H	H	H	L	L	L	L
69	0	H	H	L	L	L	L	L	H	H	L	L
70	1	L	L	H	H	H	H	H	H	H	L	L
71	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	L	L
72	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	H
73	0	L	L	L	L	H	H	H	L	L	L	H
74	0	L	L	H	L	H	H	H	H	H	H	H
75	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
76	0	L	L	H	H	H	H	H	L	L	H	H
77	0	L	L	H	H	H	H	H	L	L	L	L
78	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H	L
79	0	L	L	H	H	H	H	H	L	L	L	L
80	0	H	H	L	L	H	H	H	L	H	H	H
81	0	L	L	H	H	H	L	L	H	L	L	L
82	0	L	L	H	L	L	L	L	H	H	H	H
83	0	H	H	L	L	H	H	H	H	H	H	H
84	0	L	L	H	H	L	L	L	H	H	H	H
85	0	L	L	H	L	L	L	L	H	H	H	H
86	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
87	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
88	0	L	L	H	H	H	H	H	H	L	H	H
89	0	L	L	H	L	H	H	H	L	L	L	H
90	0	L	L	H	L	H	L	L	L	L	L	L
91	0	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L	L
92	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	H	H
93	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H
94	0	H	H	L	L	L	L	L	H	H	H	H
95	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	H
96	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
97	0	L	H	H	H	H	-	H	H	H	H	H
98	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
99	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
100	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D13Rat152	D13Arb11	D14Rat5	D14Mit2	D14Rat13	D14Mit8	D14Mit4	D15Mit2	D15Mgh7	D15Mgh2	D 15 Mgh4
	RNO →	13	13	14	14	14	14	14	15	15	15	15
Tier	cM →	41	42	6	7	24	38	40	12	15	20	31
101	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
102	0	H	H	H	H	H	H	L	-	L	H	H
103	0	H	H	L	L	H	H	H	L	L	L	L
104	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
105	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
106	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
107	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	L	L
108	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H
109	1	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
110	0	L	L	L	H	H	H	H	L	L	L	L
111	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	L
112	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	L
113	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	H
114	0	L	L	H	H	H	H	H	L	L	L	L
115	0	L	L	H	H	L	L	L	H	H	H	H
116	0	H	H	L	L	L	L	L	-	H	H	H
117	0	L	L	H	H	H	H	H	-	H	H	H
118	0	H	H	H	H	H	H	H	-	L	L	L
119	0	H	H	H	H	L	L	L	L	L	H	L
120	0	L	L	H	H	H	H	H	-	L	L	L
121	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H
122	0	L	L	H	H	H	H	H	L	L	H	H
123	0	L	L	H	H	H	L	L	L	L	L	L
124	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	H
125	0	H	H	H	H	L	L	L	H	H	L	L
126	0	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H	L
127	0	L	L	H	H	H	L	L	H	H	H	H
128	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
129	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
130	0	H	H	L	L	H	H	H	L	L	L	L
131	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H
132	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
133	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
134	0	L	L	L	L	H	H	H	L	L	L	H
135	0	H	H	L	L	L	L	L	H	H	H	H
136	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	L	L
137	0	H	H	L	H	H	H	H	L	L	L	L
138	0	L	L	L	L	L	H	H	H	H	L	H
139	0	H	H	L	H	H	-	H	H	H	H	H
140	0	H	H	L	L	L	H	H	H	H	H	H
141	0	L	L	H	H	H	H	H	L	L	L	L
142	0	L	L	H	H	L	H	L	L	L	L	H
143	0	H	H	H	L	H	H	H	H	H	L	L
144	0	H	H	H	L	L	L	L	L	H	L	H
145	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
146	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	L	L
147	0	L	L	H	L	L	H	L	L	L	L	L
148	1	H	H	H	H	H	L	H	L	L	L	L
149	0	L	L	L	L	L	H	L	H	H	H	H
150	0	L	L	H	H	H	H	H	L	L	L	H

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D13Rat152	D13Arb11	D14Rat5	D14Mit2	D14Rat13	D14Mit8	D14Mit4	D15Mit2	D15Mgh7	D15Mgh2	D 15 Mgh4
	RNO →	13	13	14	14	14	14	14	15	15	15	15
Tier	cM →	41	42	6	7	24	38	40	12	15	20	31
151	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
152	0	L	L	L	L	H	H	H	L	L	L	L
153	0	L	L	L	L	H	H	H	L	L	L	L
154	0	H	H	L	H	L	L	L	H	H	H	H
155	0	L	L	L	H	L	H	H	L	L	L	L
156	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L	H
157	0	H	L	H	H	H	L	H	L	L	L	L
158	0	H	H	L	L	L	L	L	H	H	H	L
159	0	H	H	L	L	L	L	H	H	H	H	H
160	1	H	H	L	L	L	L	H	H	H	H	H
161	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
162	0	H	H	H	H	H	L	H	H	H	H	H
163	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
164	1	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
165	0	H	H	L	L	L	L	L	H	H	H	H
166	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	L
167	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H
168	0	H	H	L	L	H	H	H	H	H	H	H
169	0	H	H	L	L	L	L	L	H	H	H	H
170	0	L	L	H	H	H	H	H	L	L	L	L
171	1	L	L	L	H	L	L	H	H	H	H	H
172	0	H	H	L	H	H	H	H	L	L	L	L
173	0	L	L	L	L	L	L	H	L	L	L	L
174	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
175	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
176	0	L	L	L	L	L	L	H	L	L	L	L
177	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
178	0	H	H	L	L	L	L	L	H	H	H	H
179	0	H	H	L	L	L	L	H	H	H	H	H
180	0	H	H	L	L	H	H	H	L	L	L	H
181	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
182	0	H	H	L	L	L	H	H	H	H	H	H
183	1	L	L	H	H	H	H	H	H	H	L	L
184	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
185	0	H	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H
186	0	L	H	H	H	H	H	H	L	L	H	H
187	0	L	L	L	L	L	H	H	L	L	L	L
188	1	H	H	L	L	L	L	L	H	H	H	H
189	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
190	0	L	-	L	L	L	L	H	L	L	L	L
191	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
192	1	L	L	H	H	H	H	H	L	L	L	L
193	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
194	0	L	H	L	L	L	H	H	H	H	H	H
195	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H
196	0	H	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H
197	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
198	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	L
199	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
200	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	<i>D13Rat152</i>	<i>D13Arb11</i>	<i>D14Rat5</i>	<i>D14Mit2</i>	<i>D14Rat13</i>	<i>D14Mit8</i>	<i>D14Mit4</i>	<i>D15Mit2</i>	<i>D15Mgh7</i>	<i>D15Mgh2</i>	<i>D 15 Mgh4</i>
	RNO →	13	13	14	14	14	14	14	15	15	15	15
Tier	cM →	41	42	6	7	24	38	40	12	15	20	31
201	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
202	0	H	L	H	H	H	H	H	H	H	L	L
203	0	H	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
204	0	L	L	H	H	L	L	L	L	L	L	L
205	0	L	H	H	H	-	H	H	L	L	H	H
206	0	L	H	H	L	L	H	L	H	H	H	H
207	0	L	L	H	H	L	L	L	H	H	H	L
208	0	H	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
209	0	L	L	H	H	L	L	L	H	H	H	H
210	0	H	H	L	L	H	L	H	L	L	H	H
211	0	L	L	L	L	L	H	L	H	H	H	H
212	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
213	0	L	L	H	H	H	-	H	L	H	H	H
214	0	H	H	L	L	L	L	H	L	L	L	H
215	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	L	L
216	0	H	H	H	L	L	L	L	H	H	H	H
217	0	L	L	H	L	H	L	H	L	L	L	L
218	0	H	H	H	L	L	H	H	H	H	H	-

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D15Mgh9	D15Rat101	D15Rat107	D15Rat106	D16Mit2	D16Mgh4	D16Rat96	D17Mgh2	D17Mgh5	D17Mit5	D18Rat32
	RNO →	15	15	15	15	16	16	16	17	17	17	18
Tier	cM →	53	54	65	65.1	1.2	9.5	50	17	30.3	48.5	0
1	0	H	H	H	H	L	L	H	H	H	H	H
2	0	L	L	L	L	L	H	L	L	L	L	L
3	0	L	L	L	L	H	H	L	H	L	H	H
4	0	H	H	H	H	L	H	H	L	H	H	H
5	0	L	L	L	L	H	H	H	L	L	L	L
6	0	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L	H
7	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	L
8	0	L	L	L	L	L	L	-	H	H	H	H
9	0	H	H	H	H	L	H	L	H	H	L	H
10	0	L	L	L	L	H	H	H	L	L	H	H
11	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
12	0	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L	H
13	1	L	L	L	L	H	H	H	L	L	L	H
14	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
15	1	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H
16	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	L
17	0	L	L	L	L	H	L	H	L	H	H	L
18	0	H	H	H	H	H	L	H	L	L	L	H
19	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
20	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
21	0	L	-	L	L	H	L	H	H	H	L	H
22	0	H	H	H	L	H	H	H	L	L	L	H
23	0	L	L	L	L	L	H	H	L	L	L	H
24	0	L	L	L	L	H	L	H	L	L	L	H
25	0	H	-	L	H	L	H	L	H	H	L	L
26	0	H	-	H	H	H	L	L	L	H	H	L
27	0	L	-	L	L	L	H	L	H	H	H	H
28	0	L	-	L	L	H	L	H	L	L	L	L
29	0	H	-	H	H	H	H	H	H	H	L	L
30	0	L	-	L	L	H	L	H	H	H	H	L
31	0	H	-	H	H	H	L	H	H	H	H	H
32	0	H	-	H	H	H	L	H	L	L	L	H
33	0	H	-	L	H	L	H	L	H	H	H	L
34	0	L	-	L	L	H	L	L	L	L	H	L
35	0	L	-	H	H	L	L	H	H	H	L	L
36	0	L	-	L	L	L	L	H	L	L	L	L
37	0	H	H	H	H	H	L	L	L	L	H	L
38	0	L	L	L	L	L	H	H	H	H	L	L
39	0	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H	L
40	1	L	L	L	L	H	H	L	L	L	L	L
41	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
42	0	L	L	L	L	L	H	L	H	H	H	H
43	0	H	H	L	H	L	L	L	L	L	L	L
44	0	H	H	L	H	L	L	L	L	L	L	L
45	0	H	H	H	H	L	H	L	L	L	L	L
46	0	H	H	H	H	L	L	H	L	L	L	H
47	0	L	L	L	L	L	L	H	L	L	L	L
48	0	H	H	H	H	L	L	L	H	L	L	H
49	0	L	L	L	L	H	H	H	H	L	L	H
50	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D15Mgh9	D15Rat101	D15Rat107	D15Rat106	D16Mit2	D16Mgh4	D16Rat96	D17Mgh2	D17Mgh5	D17Mit5	D18Rat32
	RNO →	15	15	15	15	16	16	16	17	17	17	18
Tier	cM →	53	54	65	65.1	1.2	9.5	50	17	30.3	48.5	0
51	0	H	H	H	H	L	H	H	H	H	L	L
52	1	L	L	L	L	H	L	H	H	L	L	H
53	0	L	L	L	L	H	H	L	H	H	H	H
54	0	H	H	-	H	L	L	L	H	H	H	H
55	0	L	L	L	L	H	L	H	H	H	H	H
56	0	H	H	H	H	H	L	H	H	L	L	H
57	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
58	0	L	-	L	L	L	L	L	L	H	H	H
59	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H
60	0	L	L	L	L	L	H	L	L	L	L	H
61	0	H	H	H	H	L	H	H	L	L	L	H
62	0	H	H	H	H	L	H	L	H	H	H	H
63	0	L	L	L	L	L	L	L	H	L	L	H
64	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	H
65	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	L	L
66	0	L	L	L	L	H	L	H	H	H	L	H
67	0	L	L	L	L	H	H	H	L	L	L	H
68	0	L	L	L	L	L	H	L	L	L	L	H
69	0	L	L	L	L	H	L	H	H	H	H	L
70	1	L	L	L	L	H	L	H	L	L	L	L
71	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	L
72	0	H	-	H	H	L	L	L	L	L	L	H
73	0	H	H	H	H	H	L	H	H	H	H	H
74	0	H	H	H	H	H	L	H	L	H	L	L
75	1	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	L
76	0	H	H	H	H	L	L	L	L	L	H	L
77	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	H	H
78	0	L	L	L	L	H	L	L	L	L	H	H
79	0	L	L	L	L	H	H	H	U	H	L	L
80	0	H	H	L	L	H	H	H	L	L	H	H
81	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
82	0	H	H	H	H	L	H	H	H	H	H	L
83	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
84	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
85	0	H	H	L	L	H	H	H	L	H	H	H
86	0	H	H	H	H	H	L	H	L	L	H	L
87	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H
88	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
89	0	H	H	H	H	H	L	H	L	H	H	L
90	0	H	L	L	L	L	H	L	L	H	H	H
91	0	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H
92	0	H	H	H	H	L	H	L	L	L	H	H
93	0	H	H	H	H	L	H	L	L	L	H	L
94	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
95	0	H	H	H	H	L	H	L	U	H	L	H
96	0	H	H	H	H	H	L	H	H	L	L	L
97	0	H	-	L	H	L	L	H	L	L	L	L
98	0	H	H	L	L	H	H	H	H	H	H	L
99	0	L	L	L	L	H	H	H	H	L	L	L
100	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D15Mgh9	D15Rat101	D15Rat107	D15Rat106	D16Mit2	D16Mgh4	D16Rat96	D17Mgh2	D17Mgh5	D17Mit5	D18Rat32
	RNO →	15	15	15	15	16	16	16	17	17	17	18
Tier	cM →	53	54	65	65.1	1.2	9.5	50	17	30.3	48.5	0
101	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H
102	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
103	0	L	L	H	H	L	L	H	H	L	L	L
104	0	L	L	H	H	H	H	H	H	L	L	L
105	0	L	L	L	L	H	H	H	H	L	L	H
106	0	H	H	H	H	L	L	L	H	H	H	L
107	0	L	L	L	L	H	H	H	L	L	L	H
108	0	H	H	H	H	H	H	H	L	H	H	L
109	1	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L
110	0	L	L	L	L	H	H	H	L	H	H	L
111	0	L	L	L	L	L	L	L	H	L	L	H
112	0	L	L	L	L	H	H	H	H	L	L	L
113	0	H	H	H	H	L	L	L	H	H	L	L
114	0	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	L
115	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H	H
116	0	H	H	H	H	H	H	L	H	L	H	H
117	0	H	H	L	L	L	L	L	L	H	H	L
118	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	L
119	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
120	0	H	H	H	H	L	L	L	H	H	L	L
121	0	H	H	H	H	H	H	H	L	H	H	H
122	0	H	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L
123	0	L	L	L	L	H	H	H	L	L	L	H
124	0	H	H	H	H	L	L	L	H	H	L	L
125	0	L	H	L	L	H	H	H	L	L	H	L
126	0	L	H	L	L	L	L	L	H	H	H	L
127	0	H	L	L	L	H	H	H	L	H	H	L
128	0	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
129	0	H	H	H	H	L	L	L	L	H	H	L
130	0	L	L	L	L	H	H	H	L	L	L	H
131	0	H	H	H	H	L	L	U	L	L	L	H
132	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
133	0	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L	H
134	0	H	H	H	H	L	L	H	H	H	L	L
135	0	H	H	H	H	H	L	H	H	H	L	L
136	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
137	0	L	L	H	H	L	L	L	L	L	H	H
138	0	H	L	H	H	H	L	L	L	L	L	H
139	0	H	H	H	H	H	L	L	L	H	H	H
140	0	H	H	H	H	H	H	H	L	H	H	H
141	0	L	L	L	L	H	H	H	L	L	L	H
142	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	H
143	0	L	L	L	L	H	H	H	L	L	H	L
144	0	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L	H
145	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	L
146	0	L	L	L	L	H	H	H	L	L	L	L
147	0	L	L	L	L	L	L	H	H	H	L	H
148	1	H	-	H	H	H	H	H	H	L	L	L
149	0	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L	H
150	0	H	H	H	H	L	L	H	H	H	H	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D15Mgh9	D15Rat101	D15Rat107	D15Rat106	D16Mit2	D16Mgh4	D16Rat96	D17Mgh2	D17Mgh5	D17Mit5	D18Rat32
	RNO →	15	15	15	15	16	16	16	17	17	17	18
Tier	cM →	53	54	65	65.1	1.2	9.5	50	17	30.3	48.5	0
151	0	L	L	L	L	L	L	L	H	L	L	H
152	0	H	H	H	H	L	L	L	L	H	H	L
153	0	L	L	L	L	H	H	H	L	L	L	L
154	0	H	H	H	H	H	H	H	L	H	H	L
155	0	L	L	H	H	L	L	L	H	H	L	L
156	0	H	H	H	H	L	L	L	H	H	L	H
157	0	L	H	H	H	H	H	H	L	U	H	H
158	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L
159	0	H	H	H	H	L	L	L	H	H	H	L
160	1	H	H	H	H	L	L	L	L	L	H	H
161	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	H	H
162	0	H	H	H	H	L	L	L	H	H	H	H
163	0	L	L	H	H	L	L	H	H	L	L	L
164	1	H	H	H	H	L	L	H	L	H	L	L
165	0	H	H	H	H	L	L	H	H	H	H	H
166	0	L	L	L	L	H	H	L	H	H	H	H
167	0	L	L	L	L	H	H	L	H	H	H	L
168	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	H
169	0	H	H	H	H	H	H	H	L	H	H	L
170	0	L	L	L	L	L	L	H	L	H	H	H
171	1	H	H	H	H	H	H	H	L	H	H	H
172	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L
173	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	L	H
174	0	H	H	H	H	L	L	L	H	L	L	H
175	0	L	L	L	L	L	L	U	L	L	L	H
176	0	L	L	L	L	L	H	H	L	H	H	H
177	0	L	L	L	L	H	H	H	H	L	L	L
178	0	H	H	H	H	L	L	L	H	H	H	H
179	0	H	H	H	H	L	L	L	L	L	L	H
180	0	H	H	H	H	L	L	L	H	H	H	H
181	0	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H	L
182	0	H	H	H	H	H	L	L	H	L	L	H
183	1	L	L	L	L	H	L	L	H	H	H	L
184	0	L	-	H	L	H	H	H	H	H	H	H
185	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H
186	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H	L
187	0	L	L	L	L	L	L	H	H	H	L	L
188	1	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
189	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	L
190	0	L	L	L	L	L	L	H	L	L	H	H
191	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
192	1	L	L	L	L	H	L	L	H	H	H	H
193	0	L	-	L	L	H	H	L	L	L	L	H
194	0	H	H	H	H	L	L	H	H	H	L	L
195	0	H	H	H	H	L	L	H	L	L	L	H
196	0	L	-	L	L	H	H	H	L	L	L	L
197	0	H	H	H	H	L	L	H	L	L	L	L
198	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	L
199	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L
200	0	L	-	L	L	H	H	H	L	L	L	H

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D15Mgh9	D15Rat101	D15Rat107	D15Rat106	D16Mit2	D16Mgh4	D16Rat96	D17Mgh2	D17Mgh5	D17Mit5	D18Rat32
	RNO →	15	15	15	15	16	16	16	17	17	17	18
Tier	cM →	53	54	65	65.1	1.2	9.5	50	17	30.3	48.5	0
201	0	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	L
202	0	L	-	L	L	H	H	H	L	L	L	L
203	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	H
204	0	H	-	H	H	L	L	H	L	L	L	H
205	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	H	L
206	0	H	H	L	L	L	H	H	L	L	H	H
207	0	L	L	L	L	H	H	L	L	L	H	L
208	0	H	-	H	H	H	H	H	L	H	H	L
209	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
210	0	H	H	L	L	H	H	H	H	H	H	L
211	0	H	H	H	H	L	L	H	L	L	H	H
212	0	L	L	L	L	H	H	L	L	L	L	L
213	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L
214	0	H	H	H	H	L	L	H	L	L	L	H
215	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
216	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
217	0	L	-	H	H	H	H	H	L	L	H	L
218	0	L	L	L	L	H	L	H	L	L	H	H

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D18Mit3	D18Mit8	D19Rat32	D19Mgh2	D19Rat46	D19Rat58	D19Rat99	D20Wox15	D20Mgh3	D20Rat2	D20Rat21
	RNO →	18	18	19	19	19	19	19	20	20	20	20
Tier	cM →	13.8	32.1	5	19	23.6	43.8	55	0	6.5	10.3	10.4
1	0	H	H	L	H	H	L	L	H	H	H	H
2	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
3	0	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
4	0	H	H	-	H	H	L	L	H	H	H	H
5	0	L	L	H	H	H	H	H	L	L	L	L
6	0	H	L	L	H	H	H	H	L	L	L	L
7	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
8	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
9	0	H	H	-	L	L	L	L	H	H	H	H
10	0	H	L	L	H	H	H	H	H	H	L	H
11	0	L	L	H	H	H	H	H	L	L	L	L
12	0	H	L	-	L	L	L	L	L	L	L	L
13	1	H	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
14	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
15	1	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
16	0	L	L	L	L	L	H	H	L	L	L	L
17	0	L	H	-	H	H	L	L	H	H	H	H
18	0	H	L	H	L	L	L	L	H	H	H	H
19	0	H	H	L	H	L	H	H	L	L	L	L
20	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	L	H
21	0	H	H	-	H	H	H	H	H	H	H	H
22	0	H	H	-	H	H	H	H	L	L	H	L
23	0	H	L	-	L	L	L	L	L	L	L	L
24	0	L	L	L	L	L	H	H	L	L	L	L
25	0	H	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H
26	0	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
27	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	L
28	0	L	L	L	H	L	H	H	H	H	H	H
29	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
30	0	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H
31	0	H	L	H	L	H	L	L	L	L	L	L
32	0	H	H	-	L	L	L	L	L	H	L	L
33	0	L	L	H	H	H	H	H	L	L	L	H
34	0	L	L	-	L	L	L	L	H	H	H	L
35	0	L	H	H	H	H	L	L	H	L	L	L
36	0	L	L	H	H	H	H	H	L	L	L	L
37	0	L	L	L	L	L	H	H	L	-	L	L
38	0	L	L	H	L	L	L	H	H	H	H	H
39	0	H	H	L	L	L	L	L	H	L	L	L
40	1	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L	L
41	0	H	H	H	H	H	L	L	L	L	H	H
42	0	H	L	L	L	L	L	L	H	H	L	L
43	0	L	H	L	H	L	H	H	H	H	H	L
44	0	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
45	0	L	L	L	L	L	H	H	L	L	L	L
46	0	H	H	L	L	L	L	L	H	H	H	H
47	0	L	L	-	L	L	L	L	H	H	H	H
48	0	H	L	H	H	H	H	H	H	H	L	H
49	0	H	H	H	H	H	H	H	-	L	H	L
50	0	L	L	H	H	H	H	H	-	L	L	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D18Mit3	D18Mit8	D19Rat32	D19Mgh2	D19Rat46	D19Rat58	D19Rat99	D20Wox15	D20Mgh3	D20Rat2	D20Rat21
	RNO →	18	18	19	19	19	19	19	20	20	20	20
Tier	cM →	13.8	32.1	5	19	23.6	43.8	55	0	6.5	10.3	10.4
51	0	L	H	H	H	H	H	H	-	L	L	L
52	1	H	H	L	H	H	H	H	-	L	L	L
53	0	H	H	H	H	H	H	H	-	L	L	L
54	0	H	L	H	H	H	L	L	-	H	H	H
55	0	H	L	H	H	H	H	H	-	H	H	H
56	0	L	L	-	L	L	L	L	-	L	L	L
57	0	L	L	L	H	H	H	H	-	H	H	H
58	0	L	L	H	H	H	H	H	-	H	H	H
59	0	H	H	H	L	L	L	L	-	L	L	L
60	0	H	L	-	H	H	H	H	-	H	H	H
61	0	H	H	L	L	L	L	L	-	L	L	L
62	0	H	H	H	H	H	H	H	-	H	H	H
63	0	H	H	H	L	L	L	L	-	H	H	H
64	0	H	H	L	L	L	H	H	-	H	H	H
65	0	L	L	L	H	H	L	L	-	H	H	H
66	0	H	H	-	H	H	H	H	-	L	L	H
67	0	L	L	-	L	L	L	L	-	L	L	L
68	0	H	H	H	H	H	L	L	-	-	H	H
69	0	L	L	-	H	H	H	H	-	L	L	L
70	1	L	L	L	H	H	L	L	-	L	L	L
71	0	L	L	-	H	H	H	H	-	L	L	L
72	0	L	L	-	H	H	L	L	-	L	L	L
73	0	H	L	L	H	L	L	L	-	H	H	H
74	0	L	L	L	L	L	L	L	-	L	L	H
75	1	L	L	H	L	L	H	H	-	L	L	L
76	0	L	L	-	L	L	L	L	-	H	H	H
77	0	L	L	-	H	L	L	L	-	H	H	H
78	0	H	L	-	L	L	H	H	-	H	H	H
79	0	L	L	L	L	L	H	H	-	L	L	L
80	0	H	H	-	L	L	H	H	-	-	L	L
81	0	H	H	-	H	H	H	H	-	-	L	L
82	0	L	L	-	L	L	H	H	-	L	L	L
83	0	H	H	-	H	L	H	H	-	H	H	H
84	0	L	L	-	H	H	H	H	-	L	L	L
85	0	H	H	-	L	L	H	H	-	L	L	L
86	0	L	L	-	L	H	L	L	-	-	L	L
87	0	H	L	-	L	L	L	L	-	-	L	L
88	0	H	H	-	H	H	H	H	-	L	L	L
89	0	L	H	-	L	L	L	L	-	L	L	L
90	0	H	L	-	L	L	L	L	-	H	H	H
91	0	H	H	-	H	H	L	L	-	H	H	H
92	0	H	L	-	L	L	L	L	-	H	H	H
93	0	L	L	-	H	H	L	L	-	H	H	H
94	0	L	L	-	H	H	L	L	-	L	L	L
95	0	L	L	-	H	H	H	H	-	H	H	L
96	0	L	L	-	H	H	H	H	-	L	L	H
97	0	H	L	H	L	L	L	L	-	-	L	H
98	0	H	L	H	H	L	L	L	-	-	H	H
99	0	L	L	-	L	L	L	L	-	H	H	H
100	0	L	L	L	L	L	H	H	-	H	H	H

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D18Mit3	D18Mit8	D19Rat32	D19Mgh2	D19Rat46	D19Rat58	D19Rat99	D20Wox15	D20Mgh3	D20Rat2	D20Rat21
	RNO →	18	18	19	19	19	19	19	20	20	20	20
Tier	cM →	13.8	32.1	5	19	23.6	43.8	55	0	6.5	10.3	10.4
101	0	H	H	H	H	H	H	H	-	L	L	L
102	0	L	H	H	H	H	L	L	-	H	H	H
103	0	L	H	H	L	L	L	L	-	H	H	H
104	0	H	H	H	H	H	H	H	-	H	H	H
105	0	H	H	H	L	L	L	L	-	L	L	L
106	0	H	H	L	L	L	H	H	-	H	H	H
107	0	H	H	L	H	L	H	H	-	H	H	H
108	0	L	L	L	L	L	L	L	-	L	L	L
109	1	L	L	H	H	H	H	H	-	L	L	L
110	0	L	H	H	H	H	H	H	-	H	H	H
111	0	H	L	H	H	H	H	H	-	L	L	L
112	0	L	L	H	H	H	L	L	-	H	L	L
113	0	L	H	L	H	L	H	H	-	L	L	L
114	0	L	H	H	H	H	H	H	-	L	L	L
115	0	H	H	L	L	L	H	H	-	L	L	L
116	0	H	H	L	L	L	L	L	-	H	H	H
117	0	L	L	H	H	H	H	H	-	L	L	L
118	0	L	L	L	H	L	L	L	-	H	L	L
119	0	H	H	-	H	L	L	L	-	H	L	L
120	0	H	L	-	H	L	L	L	-	H	L	L
121	0	H	H	-	L	L	L	L	-	H	H	H
122	0	L	L	H	L	L	L	L	-	L	L	L
123	0	L	L	L	L	L	H	H	-	H	H	H
124	0	H	H	L	H	L	L	L	-	L	L	L
125	0	L	L	-	L	L	L	L	-	H	H	H
126	0	L	H	-	H	L	L	L	-	L	L	L
127	0	L	L	L	L	L	L	L	-	L	L	L
128	0	H	H	H	L	L	H	H	-	H	H	H
129	0	H	H	H	H	H	H	H	-	-	H	H
130	0	H	H	L	L	L	L	L	-	-	H	H
131	0	H	H	L	L	L	L	L	-	-	H	H
132	0	L	L	L	H	L	L	L	-	-	L	L
133	0	H	H	L	L	L	L	L	-	-	H	H
134	0	L	H	L	L	L	H	H	-	-	H	H
135	0	H	H	L	L	L	L	L	-	-	H	H
136	0	H	L	H	L	H	L	L	-	-	H	L
137	0	H	L	H	H	H	H	H	-	-	L	L
138	0	H	L	L	L	L	H	H	-	-	L	H
139	0	H	H	H	H	H	H	H	-	-	H	H
140	0	H	L	H	H	H	L	L	-	-	H	H
141	0	H	H	L	L	L	H	H	-	L	L	L
142	0	H	H	L	L	L	L	L	-	H	H	H
143	0	L	H	L	L	L	L	L	-	L	L	L
144	0	H	H	H	H	H	L	L	-	H	L	L
145	0	L	L	-	L	L	H	H	-	H	H	H
146	0	H	H	H	H	H	L	L	-	H	H	H
147	0	L	L	L	L	L	L	L	-	L	L	L
148	1	H	H	-	L	L	L	L	-	L	L	L
149	0	L	L	L	H	H	H	H	-	-	L	L
150	0	H	L	H	H	H	H	H	-	L	L	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D18Mit3	D18Mit8	D19Rat32	D19Mgh2	D19Rat46	D19Rat58	D19Rat99	D20Wox15	D20Mgh3	D20Rat2	D20Rat21
	RNO →	18	18	19	19	19	19	19	20	20	20	20
Tier	cM →	13.8	32.1	5	19	23.6	43.8	55	0	6.5	10.3	10.4
151	0	L	L	L	L	L	L	L	-	H	H	H
152	0	L	L	L	H	H	H	H	-	H	H	H
153	0	L	L	H	L	H	L	L	-	L	L	L
154	0	L	L	L	L	L	H	H	-	H	H	L
155	0	H	H	L	L	L	L	L	-	H	H	H
156	0	H	H	H	H	L	L	L	-	L	L	L
157	0	H	H	H	L	H	L	L	-	H	H	H
158	0	L	H	L	L	L	L	L	-	H	L	H
159	0	L	L	L	L	L	L	L	-	L	L	L
160	1	L	L	-	L	L	L	L	-	L	L	L
161	0	H	H	-	H	H	H	H	-	L	L	L
162	0	L	L	-	H	H	L	L	-	L	L	L
163	0	H	H	-	H	L	H	H	-	L	L	L
164	1	H	H	-	L	L	L	L	-	L	L	L
165	0	L	H	H	H	H	L	L	-	L	L	L
166	0	L	H	-	H	H	H	H	-	H	H	H
167	0	H	L	-	H	H	L	L	-	H	H	H
168	0	H	L	L	H	L	H	H	-	H	H	H
169	0	H	H	H	H	H	L	L	-	L	L	L
170	0	H	H	L	H	H	H	H	-	L	H	H
171	1	H	H	L	H	H	H	H	-	L	L	L
172	0	H	H	H	H	H	L	L	-	L	L	L
173	0	L	L	H	H	H	H	H	-	L	L	L
174	0	L	L	L	L	L	L	L	-	L	L	L
175	0	L	L	H	H	H	L	L	-	H	H	H
176	0	L	H	-	H	H	H	H	-	L	L	L
177	0	H	L	L	L	L	L	L	-	L	L	L
178	0	L	L	H	H	H	H	H	-	L	L	L
179	0	H	H	L	H	H	H	H	-	L	L	L
180	0	L	L	-	L	L	L	L	-	H	H	H
181	0	H	L	-	L	L	H	H	-	L	L	L
182	0	L	L	L	H	H	H	H	-	L	L	L
183	1	H	H	H	H	H	H	H	-	L	L	L
184	0	L	H	H	H	H	H	H	-	L	L	L
185	0	H	H	-	L	L	L	L	-	L	L	L
186	0	L	L	-	H	H	L	L	-	L	L	L
187	0	H	H	-	H	L	H	H	-	H	H	H
188	1	L	H	-	H	H	H	H	-	-	L	L
189	0	L	L	-	L	L	H	H	-	L	L	L
190	0	L	L	-	H	H	H	H	-	H	H	H
191	0	L	H	-	L	L	H	H	-	L	L	L
192	1	H	H	-	L	L	H	H	-	H	H	H
193	0	H	H	-	H	H	H	H	H	L	L	L
194	0	L	L	-	H	H	H	H	H	L	L	L
195	0	H	L	-	H	H	H	H	H	L	L	L
196	0	L	H	-	L	L	L	L	H	L	L	L
197	0	H	H	-	L	L	L	L	H	H	H	H
198	0	L	L	-	L	L	L	L	L	L	L	L
199	0	L	L	-	L	L	L	L	H	H	H	H
200	0	H	L	-	H	H	H	H	H	H	H	H

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D18Mit3	D18Mit8	D19Rat32	D19Mgh2	D19Rat46	D19Rat58	D19Rat99	D20Wox15	D20Mgh3	D20Rat2	D20Rat21
	RNO →	18	18	19	19	19	19	19	20	20	20	20
Tier	cM →	13.8	32.1	5	19	23.6	43.8	55	0	6.5	10.3	10.4
201	0	L	L	-	L	L	L	L	H	L	H	H
202	0	L	L	-	L	L	L	L	H	H	H	H
203	0	H	L	-	H	H	H	H	L	L	L	L
204	0	H	H	-	L	L	L	L	L	L	H	L
205	0	H	H	-	U	H	H	H	H	H	H	H
206	0	H	L	-	L	L	L	L	L	L	L	L
207	0	L	L	-	L	L	L	L	-	H	H	H
208	0	L	H	L	H	L	L	L	H	H	H	H
209	0	L	H	L	L	L	L	L	L	H	H	H
210	0	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
211	0	H	H	-	L	L	H	H	H	H	H	H
212	0	L	L	L	H	H	H	H	H	H	H	H
213	0	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
214	0	H	H	L	L	L	L	L	H	H	H	H
215	0	H	H	H	L	L	L	L	H	H	H	H
216	0	L	L	L	H	H	H	H	H	-	H	H
217	0	L	L	L	L	L	L	L	H	-	L	H
218	0	H	L	-	H	H	L	L	H	H	H	H

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D20Bat1	D20Uia1	D20Rat17	D20Rat41	D20Zm2	D20Got4	D20Rat66	D20Rat47	D20Rat46	RT1-M4	D20Rat32
	RNO →	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Tier	cM →	10.5	11.9	13.2	13.3	13.4	13.8	13.9	14.5	14.6	16.3	17
1	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
2	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
3	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
4	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
5	0	L	L	L	H	L	L	L	L	L	L	L
6	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
7	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
8	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
9	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
10	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
11	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
12	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
13	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
14	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
15	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
16	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
17	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
18	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
19	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
20	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
21	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
22	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
23	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
24	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
25	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
26	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
27	0	L	L	L	H	L	L	L	L	L	L	L
28	0	-	L	H	H	H	L	H	H	H	H	H
29	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
30	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
31	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
32	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
33	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
34	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
35	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
36	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
37	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
38	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
39	0	L	L	L	L	L	L	L	H	L	L	L
40	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
41	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
42	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
43	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
44	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
45	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
46	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
47	0	H	H	H	H	H	H	H	H	L	H	H
48	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
49	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
50	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D20Bat1	D20Uia1	D20Rat17	D20Rat41	D20Zm2	D20Got4	D20Rat66	D20Rat47	D20Rat46	RT1-M4	D20Rat32
	RNO →	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Tier	cM →	10.5	11.9	13.2	13.3	13.4	13.8	13.9	14.5	14.6	16.3	17
51	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
52	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H
53	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
54	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
55	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
56	0	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
57	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
58	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
59	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
60	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
61	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
62	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
63	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
64	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
65	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
66	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
67	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
68	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
69	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
70	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
71	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
72	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
73	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
74	0	L	L	L	L	L	L	H	L	H	L	H
75	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
76	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
77	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	H
78	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
79	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
80	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
81	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
82	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
83	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
84	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
85	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
86	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
87	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
88	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
89	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
90	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
91	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
92	0	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
93	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
94	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
95	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
96	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
97	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	L
98	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	H
99	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
100	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D20Bat1	D20Uia1	D20Rat17	D20Rat41	D20Zm2	D20Got4	D20Rat66	D20Rat47	D20Rat46	RT1-M4	D20Rat32
	RNO →	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Tier	cM →	10.5	11.9	13.2	13.3	13.4	13.8	13.9	14.5	14.6	16.3	17
101	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
102	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
103	0	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
104	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
105	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
106	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L
107	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
108	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
109	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
110	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
111	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
112	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
113	0	L	H	L	H	H	L	L	L	L	L	H
114	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
115	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
116	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
117	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
118	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
119	0	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
120	0	H	L	L	L	L	H	L	L	L	L	L
121	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
122	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
123	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	H
124	0	L	L	L	L	-	L	L	L	L	H	L
125	0	H	H	H	H	-	H	H	H	H	H	H
126	0	L	H	-	L	-	L	L	L	L	L	L
127	0	L	L	L	L	-	L	L	L	L	L	L
128	0	L	L	L	L	-	L	L	H	H	H	L
129	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
130	0	H	L	H	H	H	H	H	H	H	H	H
131	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
132	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
133	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
134	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
135	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
136	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
137	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
138	0	H	H	H	H	L	H	L	H	H	H	L
139	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
140	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
141	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
142	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
143	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
144	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
145	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
146	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
147	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
148	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
149	0	L	-	-	L	L	L	L	L	L	L	L
150	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D20Bat1	D20Uia1	D20Rat17	D20Rat41	D20Zm2	D20Got4	D20Rat66	D20Rat47	D20Rat46	RT1-M4	D20Rat32
	RNO →	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Tier	cM →	10.5	11.9	13.2	13.3	13.4	13.8	13.9	14.5	14.6	16.3	17
151	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
152	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
153	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
154	0	H	H	H	H	H	H	H	L	L	L	H
155	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
156	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
157	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
158	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
159	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
160	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
161	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
162	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
163	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
164	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
165	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
166	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
167	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
168	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
169	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
170	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
171	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
172	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
173	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
174	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
175	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
176	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
177	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
178	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
179	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
180	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
181	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
182	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
183	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
184	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
185	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
186	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
187	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
188	1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
189	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
190	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
191	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
192	1	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
193	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
194	0	L	H	L	L	L	L	L	L	L	L	L
195	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
196	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
197	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
198	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
199	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
200	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D20Bat1	D20Uia1	D20Rat17	D20Rat41	D20Zim2	D20Got4	D20Rat66	D20Rat47	D20Rat46	RT1-M4	D20Rat32
	RNO →	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Tier	cM →	10.5	11.9	13.2	13.3	13.4	13.8	13.9	14.5	14.6	16.3	17
201	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
202	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
203	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
204	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
205	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
206	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
207	0	H	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H
208	0	L	-	H	H	H	H	H	H	H	L	H
209	0	H	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H
210	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
211	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
212	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
213	0	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
214	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
215	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	L	H
216	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
217	0	H	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H
218	0	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D20Rat48	D20Zm3	D20Rat67	D20Zm1	D20Rat54	D20Mgh1	D20Arb10
	RNO →	20	20	20	20	20	20	20
Tier	cM →	18	21.8	22.6	26.3	64.9	77.3	80.5
1	0	H	H	H	H	H	H	H
2	0	H	H	H	H	L	L	L
3	0	L	L	L	L	L	L	L
4	0	H	H	H	L	L	L	L
5	0	L	L	L	L	L	H	H
6	0	L	L	L	L	L	L	L
7	0	H	H	H	H	H	H	H
8	0	H	H	H	H	H	L	L
9	0	H	H	H	H	H	H	H
10	0	H	L	L	H	L	L	L
11	0	L	L	L	H	L	L	L
12	0	L	L	L	L	L	L	L
13	1	L	L	L	L	L	H	H
14	0	H	H	H	H	H	L	L
15	1	L	L	L	L	L	L	L
16	0	L	L	L	L	H	H	H
17	0	H	H	H	H	H	H	H
18	0	H	H	H	H	H	H	H
19	0	L	L	L	L	H	H	H
20	0	H	L	L	H	L	L	L
21	0	H	L	L	H	L	L	L
22	0	H	H	H	L	H	H	H
23	0	L	L	L	L	H	H	H
24	0	L	L	L	H	L	L	L
25	0	H	H	H	H	H	H	H
26	0	L	L	L	L	L	L	L
27	0	L	L	L	L	L	H	H
28	0	H	H	H	L	H	L	L
29	0	H	H	H	H	L	L	L
30	0	H	H	H	H	L	L	L
31	0	L	L	L	L	H	H	H
32	0	L	L	L	L	L	L	L
33	0	L	L	L	L	L	L	L
34	0	H	H	H	H	H	H	H
35	0	L	L	L	L	L	L	L
36	0	L	L	L	L	H	H	H
37	0	L	L	L	L	H	H	H
38	0	H		H	H	L	L	L
39	0	L	L	L	L	H	H	H
40	1	L	L	L	L	H	H	H
41	0	H	L	L	H	L	L	L
42	0	L	L	L	L	L	L	H
43	0	L	H	H	H	H	H	H
44	0	L	L	L	L	L	L	L
45	0	L	L	L	L	L	L	L
46	0	H	H	H	H	L	L	L
47	0	H	H	H	H	L	L	L
48	0	H	L	L	L	L	L	L
49	0	H	H	H	L	H	H	H
50	0	L	L	H	L	L	L	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D20Rat48	D20Zm3	D20Rat67	D20Zm1	D20Rat54	D20Mgh1	D20Arb10
	RNO →	20	20	20	20	20	20	20
Tier	cM →	18	21.8	22.6	26.3	64.9	77.3	80.5
51	0	L	L	L	L	H	H	H
52	1	L		L	L	H	H	H
53	0	L	L	L	L	H	H	H
54	0	H	H	H	H	H	L	L
55	0	H	H	H	H	H	H	H
56	0	L	L	L	L	L	L	L
57	0	H	H	H	L	L	L	L
58	0	H	H	H	H	H	H	H
59	0	L	L	L	L	L	L	L
60	0	H	L	L	H	L	L	L
61	0	L	L	L	L	L	L	L
62	0	H	H	H	H	L	L	L
63	0	H	H	H	H	L	L	L
64	0	H	H	H	L	L	L	L
65	0	H	H	H	H	H	H	H
66	0	L	L	L	L	L	L	L
67	0	L	L	L	L	L	L	L
68	0	H	H	H	H	L	L	L
69	0	L	L	L	L	L	L	L
70	1	L	L	L	L	L	L	L
71	0	L	L	L	L	H	H	H
72	0	L	H	H	L	H	H	H
73	0	H	H	H	H	H	H	H
74	0	H	L	H	L	L	L	L
75	1	L	L	L	L	L	H	H
76	0	H	H	H	H	H	L	L
77	0	H	H	H	H	H	H	H
78	0	H	H	H	H	L	L	L
79	0	L	L	L	H	L	L	L
80	0	L	L	L	H	L	L	L
81	0	H	L	L	L	H	H	H
82	0	L	L	L	H	L	L	L
83	0	L	H	H	H	H	H	H
84	0	L	L	L	H	L	L	H
85	0	L	L	L	L	H	H	H
86	0	L	L	L	L	L	L	L
87	0	L	L	L	L	L	L	L
88	0	L	L	L	L	L	H	H
89	0	L		L	L	H	H	H
90	0	H	H	H	L	H	H	H
91	0	H	H	H	H	H	H	H
92	0	H	H	H	L	H	L	L
93	0	H	H	H	H	H	L	L
94	0	L	L	L	L	H	H	H
95	0	H	H	H	H	H	H	H
96	0	L	L	L	L	L	L	L
97	0	L	L	L	L	L	H	H
98	0	H	H	H	H	H	H	L
99	0	H	H	H	H	L	L	L
100	0	H	H	H	H	H	L	L

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D20Rat48	D20Zm3	D20Rat67	D20Zm1	D20Rat54	D20Mgh1	D20Arb10
	RNO →	20	20	20	20	20	20	20
Tier	cM →	18	21.8	22.6	26.3	64.9	77.3	80.5
101	0	L	L	L	L	L	L	L
102	0	H	H	H	H	L	L	L
103	0	H	H	H	H	L	L	L
104	0	H	H	H	H	H	H	H
105	0	L	L	L	L	L	L	L
106	0	H	H	H	H	L	L	L
107	0	H	H	H	H	L	L	L
108	0	L	L	L	L	H	H	L
109	1	L	L	L	L	L	L	L
110	0	H	H	H	H	H	H	H
111	0	L	L	L	L	H	H	H
112	0	L	L	L	L	L	L	L
113	0	L	H	H	L	H	H	H
114	0	L	L	L	L	L	L	L
115	0	L	L	L	L	H	H	H
116	0	H	H	H	H	H	H	H
117	0	L	L	L	L	L	L	L
118	0	L	L	L	L	L	L	L
119	0	L	L	L	L	L	L	L
120	0	L	L	L	L	H	H	H
121	0	H	H	H	L	H	H	H
122	0	L	L	H	L	L	L	L
123	0	L	H	H	H	L	L	L
124	0	L	L	L	L	L	L	L
125	0	H	H	H	H	L	L	L
126	0	L	L	L	L	L	L	L
127	0	L	L	L	L	L	H	H
128	0	L	L	L	L	L	L	L
129	0	H	H	H	L	L	L	L
130	0	H	H	H	L	L	L	L
131	0	H	H	H	H	H	H	H
132	0	L	L	L	L	H	H	H
133	0	H	H	H	H	H	H	H
134	0	H	H	H	H	H	H	H
135	0	H	H	H	H	H	L	L
136	0	L	H	H	L	H	H	H
137	0	L	L	L	L	L	L	L
138	0	L	L	L	L	H	L	L
139	0	H	H	H	H	L	L	L
140	0	H	H	H	H	H	H	H
141	0	L	L	L	L	L	L	L
142	0	H	H	H	L	H	L	L
143	0	L	L	L	L	H	H	H
144	0	L	L	L	L	L	L	L
145	0	H	H	H	H	H	H	H
146	0	H	H	H	H	H	H	H
147	0	L	L	L	L	H	H	H
148	1	L	L	L	L	H	H	H
149	0	L	L	L	L	-	H	H
150	0	L	L	L	L	H	H	H

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D20Rat48	D20Zm3	D20Rat67	D20Zm1	D20Rat54	D20Mgh1	D20Arb10
	RNO →	20	20	20	20	20	20	20
Tier	cM →	18	21.8	22.6	26.3	64.9	77.3	80.5
151	0	H	H	H	H	H	H	H
152	0	H	H	H	H	L	L	L
153	0	L	L	L	L	L	L	L
154	0	H	H	H	H	H	H	L
155	0	H	H	H	H	H	H	H
156	0	L	L	L	L	H	H	H
157	0	H	L	L	H	L	L	L
158	0	L	L	L	H	L	L	H
159	0	L	L	L	L	H	H	H
160	1	L	L	L	-	H	H	H
161	0	L	L	L	L	H	H	H
162	0	L	L	L	L	L	L	L
163	0	L	L	L	H	L	L	L
164	1	L	L	L	L	L	L	L
165	0	L	L	L	L	L	H	H
166	0	H	H	H	H	L	L	L
167	0	H	H	H	H	H	H	H
168	0	H	H	H	L	L	L	L
169	0	L	L	L	L	H	H	H
170	0	H	H	H	H	H	H	H
171	1	L	L	L	L	H	H	H
172	0	L	L	L	L	L	H	H
173	0	L	L	L	L	L	L	L
174	0	L	L	L	L	L	L	L
175	0	H	H	H	H	L	L	L
176	0	L	L	L	L	H	L	L
177	0	L	L	L	L	H	H	H
178	0	L	L	L	L	L	L	L
179	0	L	L	L	L	L	L	L
180	0	H	L	L	L	L	L	L
181	0	L	L	L	L	L	L	L
182	0	L	L	L	L	H	H	H
183	1	L	L	L	L	L	L	L
184	0	L	L	L	L	L	H	H
185	0	L	L	L	L	L	H	H
186	0	L	L	L	L	L	L	L
187	0	H	H	H	H	H	H	L
188	1	L	L	L	L	H	H	H
189	0	L	L	L	L	L	L	L
190	0	H	H	H	L	H	H	H
191	0	L	L	L	L	H	H	H
192	1	H	H	H	H	H	H	H
193	0	L	L	L	L	H	H	H
194	0	L	L	L	L	L	L	L
195	0	L	L	L	L	L	L	L
196	0	L	L	L	L	L	H	H
197	0	H	H	H	H	H	H	H
198	0	L	L	L	L	L	L	L
199	0	H	H	H	H	L	L	L
200	0	H	H	H	H	H	H	H

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot

	Diabetes ↓	D20Rat48	D20Zm3	D20Rat67	D20Zm1	D20Rat54	D20Mgh1	D20Arb10
	RNO →	20	20	20	20	20	20	20
Tier	cM →	18	21.8	22.6	26.3	64.9	77.3	80.5
201	0	H	H	H	H	H	H	H
202	0	H	H	H	H	H	L	L
203	0	L	L	L	L	L	L	L
204	0	L	H	H	L	H	H	H
205	0	H	H	H	H	L	L	L
206	0	L	L	L	L	H	H	H
207	0	H	H	H	H	H	H	H
208	0	H	H	H	H	H	H	H
209	0	H	H	H	H	H	H	H
210	0	H	H	H	H	L	L	L
211	0	H	H	H	H	L	L	L
212	0	H	H	H	H	H	H	H
213	0	L	L	L	L	L	H	H
214	0	H	L	H	H	L	L	L
215	0	H	H	H	H	H	H	H
216	0	H	H	H	H	L	L	L
217	0	H	L	H	H	L	L	L
218	0	H	H	H	H	H	H	H

Diabetes: 0 = nicht diabetisches Tier 1 = diabetisches Tier

RNO = Chromosom

cM = Lokalisation auf dem Chromosom in cM

L = homozygot für Lewis

H = heterozygot