



THE UNIVERSITY *of* EDINBURGH

Edinburgh Research Explorer

Mäuse als Modelle für menschliche Erkrankungen

Citation for published version:

Gailus-Durner, V, Adamski, J, Beckers, J, Behrendt, H, Busch, DH, Engelmann, B, Floss, T, Fuchs, H, Graw, J, Hansen, J, Heldmaier, G, Himmelbauer, H, Hofler, H, Höfler, S, Ivandic, B, Jakob, T, Katus, T, Klingenspor, M, Laufs, J, Lengeling, A, Lengger, C, Müller, W, Nehls, M, Ollert, M, Quintanilla-Fend, L, Ruiz, P, Schulz, H, von Melchner, H, Wolf, E, Wurst, W, Zeretzke, S, Zimmer, A & de Angelis, MH 2005, 'Mäuse als Modelle für menschliche Erkrankungen' GenomXPress, Bd 2/05, S. 7-10.

Link:

[Link to publication record in Edinburgh Research Explorer](#)

Document Version:

Preprint (usually an early version)

Published In:

GenomXPress

General rights

Copyright for the publications made accessible via the Edinburgh Research Explorer is retained by the author(s) and / or other copyright owners and it is a condition of accessing these publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

Take down policy

The University of Edinburgh has made every reasonable effort to ensure that Edinburgh Research Explorer content complies with UK legislation. If you believe that the public display of this file breaches copyright please contact openaccess@ed.ac.uk providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.



Glossar

Genetische Assoziation statistisch gehäuftes gemeinsames Auftreten einer genetischen Variante ("Marker") mit z.B. einer Erkrankung.

Genotyp Kombination von zwei genetischen Varianten an einem Genort. Die Konsequenzen für den **Phänotyp** (Erscheinungsbild) hängen von der Genwirkung ab.

Genexpression Umsetzung der genetischen Information in der DNA im Genprodukt (Protein). Dabei wird durch Transkription der DNA eine Gen-Kopie in Form von RNA hergestellt und anschließend durch Translation das entsprechende Protein (Genprodukt) synthetisiert.

Haplotyp lineare Abfolge hintereinander gelegener genetischer Varianten auf einem Chromosom eines Individuums.

Homozygot Jedes Chromosom und damit jedes Gen liegt in doppelter Ausführung vor. Gene oder andere Abschnitte des Chromosoms liegen in **homozygoter** Form vor, wenn beide Kopien identisch sind, oder in **heterozygoter** Form, wenn sie voneinander verschieden sind.

Monogene Erkrankung die Mutation an einem Genort bewirkt die Erkrankung, entweder bei Heterozygotie (dominanter Erbgang) oder bei Homozygotie (rezessiver Erbgang).

Multifaktorielle Erkrankungen basieren auf der Kombination mehrerer zu einer Krankheit disponierender Gen-Varianten, zusätzlich beeinflusst durch Umweltfaktoren.

Positionelle Klonierung die Suche nach einem Gen in der Nähe eines Markers in der Erbinformation (DNA-Sequenz).

Proteomanalyse Untersuchung der Art und Menge der in einem System (Zelle, Gewebe, Organismus) vorhandenen Proteine (Genprodukte) und deren Wechselwirkungen.

Molekulare Marker Sequenzunterschiede (DNA-Polymorphismen) zwischen Individuen oder Populationen an vergleichbaren (homologen) Stellen in der DNA. **SNP**: engl.: single nucleotide polymorphism; Unterschiede von einzelnen Basen innerhalb eines Genoms bei verschiedenen Individuen, **STR**: engl.: short tandem repeat, auch Mikrosatellit genannt; sich wiederholende DNA-Sequenzen von mehreren Basenpaaren, wobei die Anzahl der Wiederholungen zwischen Menschen variabel ist.

Mäuse als Modelle für menschliche Erkrankungen

„Modelle für erblich bedingte Erkrankungen des Menschen“ (SMP Models) bietet eine Plattform zur Erstellung, Phänotypisierung und Archivierung von Mausmodellen im Nationalen Genomforschungsnetz (NGFN)

V. Gailus-Durner, J. Adamski, J. Beckers, H. Behrendt, D. Busch, B. Engelmann, T. Floss, H. Fuchs, J. Graw, J. Hansen, G. Heldmaier, H. Himmelbauer, H. Höfler, S. Hölter, B. Ivandic, T. Jakob, H. Katus, M. Klingenspor, J. Laufs, A. Lengeling, C. Lengger, W. Müller, M. Nehls, M. Ollert, L. Quintanilla-Fend, P. Ruiz, H. Schulz, H. von Melchner, E. Wolf, W. Wurst, S. Zeretzke, A. Zimmer, und M. Hrabě de Angelis

Genetisch bedingte Erkrankungen können alle Organsysteme betreffen und entweder früh oder erst später im Alter auftreten. Die Ursache von Volkskrankheiten wie Arteriosklerose, Diabetes mellitus, Osteoporose oder Depression beinhaltet auch immer genetische Anteile. Zur Aufklärung der molekularen Ursachen genetisch bedingter Erkrankungen hat sich die Maus als Modellorganismus etabliert. So ist das Genom der Maus zu mehr als 90% mit dem des Menschen identisch – viele Gene entsprechen einander und können beim Menschen und bei der Maus dieselbe Krankheit auslösen. Um Modelle für menschliche Erkrankungen zu erzeugen, lässt sich das Genom der Maus mit verschiedenen Methoden verän-

dern. Solche Veränderungen auf genetischer Ebene können Störungen in der Funktionsweise von Organen, der Physiologie und im Verhalten der Maus verursachen. Die umfassende Analyse des veränderten Phänotyps dient dem Verständnis der Genfunktion(en) und schafft Grundlagen für die Entwicklung neuer Diagnose- und Behandlungsmethoden menschlicher Erkrankungen.

Spektrum der Mausgenetik

Die Systematisch Methodische Plattform (SMP Models) bietet innerhalb des Nationalen Genomforschungsnetzes (NGFN) ein international kompetitives Forschungsprogramm, welches das ganze Spektrum der Mausgenetik inklusive

umfassender Phänotypisierung beinhaltet, um Modelle für die molekulare Pathogenese menschlicher Erkrankungen zu erstellen und zu analysieren. Strukturell bildet die Plattform eine Pipeline: die Erstellung, die umfassende Phänotypisierung und die Archivierung der Mausmodelle.

Zum einen kann im Projekt „NGFN Services“ die Erzeugung einer bestimmten mutanten Mauslinie in Auftrag gegeben werden, zum anderen wurde im Projekt „Deutsches Genfallensortium“ mit Hochdurchsatzverfahren eine Bank mutanter embryonaler Stammzelllinien (ES-Zelllinien) der Maus aufgebaut, die ständig erweitert wird, und die der wissenschaftlichen Gemeinschaft zur Verfügung gestellt wird (<http://gene->

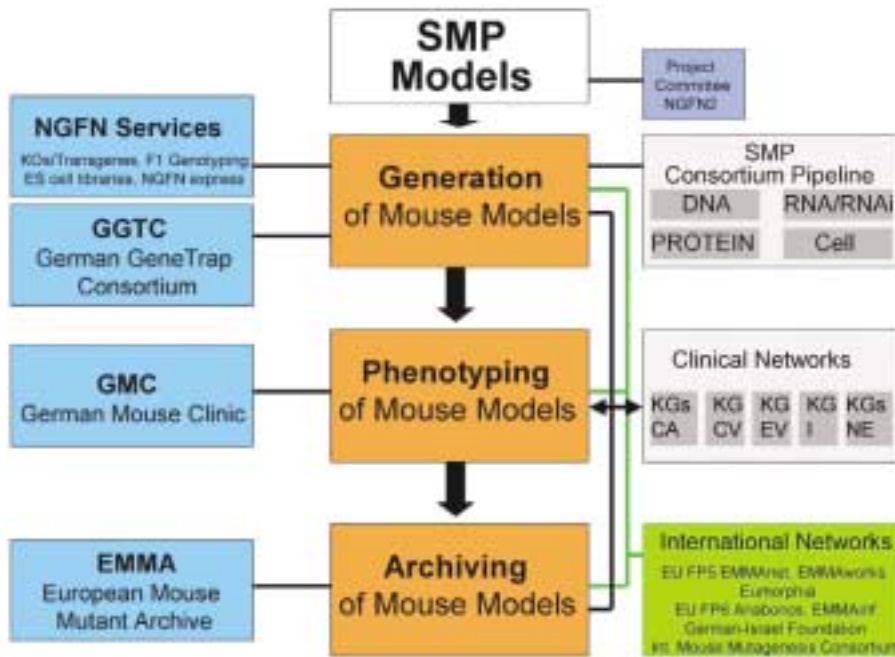


Abb. 1: Struktur der SMP "Modelle für erblich bedingte Erkrankungen des Menschen"

trap.de). Mit der German Mouse Clinic (GMC) wurde in der ersten Förderphase des NGFN ein einzigartiges Phänotypisierungszentrum an der GSF etabliert, welches einen umfassenden, standardisierten Primärscreen für Mausmodelle (KOs, Transgene, Gene-trap-, ENU-Mauslinien) Kollaborationspartnern aus dem NGFN und interessierten Forschern weltweit anbietet (www.mouseclinic.de). Die Archivierung und Weitergabe von Mausmodellen wird über das Europäische Maus Mutanten Archiv (EMMA) koordiniert, dessen deutscher Knoten über das NGFN gefördert wird (www.emmanet.org).

Erstellung von Mausmodellen

Im Projekt „NGFN Services“ bieten wir für Kollaborationspartner aus dem NGFN eine Plattform zur Generierung von Mausmodellen und zur Transkriptom-Analyse von Mausgeweben. Die Erstellung der Mausmutanten kann mit unterschiedlichen Methoden erfolgen, die von verschiedenen Partnern in der SMP ausgeführt werden können. So wird die Generierung von transgenen und knock-out/knock-in Mutanten mit klassischen gentechnologischen Methoden angeboten. Mit der Methode der F1-Genotypisierung (INGENOTyping®) kann das weltweit größte Mausarchiv chemisch modifizierter Keimbahn- (Spermien) Varianten mit über 300.000 Allelen nach Gen-bezogenen Mutationen durchsucht werden und eine gewünschte Mauslinie innerhalb weniger Wochen über IVF erstellt werden. Mit Hilfe der chemischen (ENU) Mutagenese von

Maus-ES-Zellen wurde ein Archiv von mehr als 40.000 Zellklonen aufgebaut. Parallel zur Etablierung des Stammzellarchivs wurden die erforderlichen Technologien zu dessen Durchmusterung entwickelt sowie Mauslinien erfolgreich hergestellt. Der Service "NGFN-Express" bietet die Erstellung und Analyse von RNA-Expressionsprofilen in Mausgeweben mit DNA-Chip-Technologie an. Die Kosten für die Erstellung von Mauslinien oder RNA-Expressionsprofilen müssen von den Kollaborationspartnern übernommen werden.

Das Deutsche Genfallenkonsortium

Nach der erfolgreichen Sequenzierung der Genome des Menschen und der Maus stellt sich in den kommenden Jahren die Aufgabe einer funktionellen Genomannotation mithilfe von Mutagenese-strategien. Im Hinblick auf Effizienz und Kosten-Nutzen Verhältnis ist die Genfallentechnologie zum gegenwärtigen Zeitpunkt die am besten geeignete Methode, dieses Ziel zu erreichen. Diese Technologie profitiert von der Verfügbarkeit der Säuger-genomsequenzen, hat zudem den Vorteil, rein zellbasiert zu sein und bietet des weiteren die Möglichkeit zum Hochdurchsatz.

Genfallenvektoren integrieren weitgehend zufällig in das Genom, mutieren dabei Gene und reflektieren gleichzeitig deren Expression. Zusätzlich erfolgt durch Genfallenvektoren eine Kennzeichnung (engl. tag), die die unmittelbare Identifizierung der mutierten Gene erlaubt. Die Genfallentagenese wird in embryonalen

Stammzellen der Maus durchgeführt, die die spätere Etablierung von Mauslinien erlauben und somit eine funktionelle Genanalyse im Kontext des Gesamtorganismus ermöglichen.

Das Deutsche Genfallenkonsortium (German Gene Trap Consortium (GGTC), gefördert vom BMBF im NGFN-Programm, ist das erste akademische Konsortium, das ein genomweites Genfallentageneseprogramm implementiert hat. Das GGTC besteht gegenwärtig aus drei Gruppen, die am GSF-Institut für Entwicklungsgenetik, an der Universität Frankfurt/Main und am Max-Planck Institut für Molekulare Genetik, Berlin angesiedelt sind. Vom GGTC wurde eine der weltweit grössten frei verfügbaren Bibliotheken mutierter embryonaler Mausstammzellen generiert (Hansen *et al.*, 2003).

Seit seiner Etablierung hat das GGTC insgesamt 20.228 mutierte Maus-ES-Zellklone generiert und dabei mehr als sechs verschiedene Genfallenvektoren benutzt. Für 15.762 dieser Klone konnte der Ort der Vektorintegration bestimmt und das mutierte Gen annotiert werden, womit die Effizienz des Ansatzes demonstriert wird.

Die 15.762 mutierten Klone repräsentieren 3.529 unterschiedliche Gene; 234 dieser Gene werden mit humanen Erkrankungen in Verbindung gebracht. Zusätzlich hat das GGTC 52 regulatorische RNAs erhalten, die weiter untersucht werden sollen. Insgesamt hat das GGTC bereits jetzt etwa 15% aller Mausgene mutiert. Im Rahmen von NGFN-2 wird diese Bibliothek mutierter Maus-ES-Zellen mithilfe konditionaler Vektoren weiter ausgebaut werden; zudem sollen weitere Mausmodelle für menschliche Erkrankungen generiert werden. Die mutanten ES-Zellklone und Mauslinien können über <http://genetrap.de> bestellt werden.

Die Deutsche Mauslinik

Zur standardisierten, umfassenden Analyse der wachsenden Zahl von Mausmutanten wurde ein Phänotypisierungszentrum – die German Mouse Clinic (GMC) – an der GSF in München/Neuherberg errichtet. Diese Plattform bietet eine umfangreiche Phänotypisierung von Mausmodellen, die mit unterschiedlichen Methoden erstellt wurden (transgene und knock-out Linien, ENU-Linien, Genetrap-Linien). Hier arbeiten Experten aus verschiedenen Bereichen der Mausphysiologie, -genetik und -pathologie in enger Kollaboration mit Klinikern unter „einem Dach“ zusammen. Labor- und Tierhaltungsräume wurden in einem Gebäude integriert. Dies erlaubt nicht nur standardisierte Mess- und Haltungsbedingungen,

sondern fördert auch in besonderem den wissenschaftlichen und interdisziplinären Austausch.

Mutante Mauslinien werden in einem primären Screen umfassend auf grundlegende, phänotypische Veränderungen hin analysiert. Die Untersuchungen beinhalten Messungen auf den Gebieten: Allergie, Augen, Dymorphologie, Energiemetabolismus, klinische Chemie, Lungenfunktion, molekulare Phänotypisierung, Neurologie, Schmerzwahrnehmung, Steroidmetabolismus, Verhalten und Pathologie. Neu im NGFN-2 ist die Etablierung eines kardiovaskulären Screens in Zusammenarbeit mit dem Herz-Kreislaufnetz.

Viele veränderte Parameter

Der Primärscreen, in dem mehr als 240 Parameter pro Maus gemessen werden, dient dem Auffinden auffälliger Phänotypen. Die Untersuchung von 30 mutanten Tieren mit derselben Anzahl von Geschwistertieren des entsprechenden Alters und Geschlechts erfolgt in einer festgelegten Reihenfolge in jeder Abteilung und liefert ein detailliertes Bild der Komplexität des auf einer Mutation beruhenden Phänotyps. Die Geschlechter werden in getrennten Gruppen untersucht, um auch geschlechtsspezifische Auffälligkeiten erfassen zu können. Die Reihenfolge und Auswahl der Untersuchungen ist auf die spezifischen Anforderungen der einzelnen Screens abgestimmt, und erlaubt die Analyse einer möglichst großen Anzahl von Tieren. Geräte und Methoden aus dem normalen Klinikbetrieb wurden der Größe und den Anforderungen der Mäuse angepaßt. Die Blutuntersuchung mit einem automatischen Blutanalysator oder die Analyse mit einem Knochendichtemessgerät, gehören genau-

Die Abteilungen der German Mouse Clinic

Direktor	M. Hrabé de Angelis (GSF)
Koordination	V. Gailus-Durner, H. Fuchs (GSF)

Screen

Klinische Chemie	E. Wolf, B. Engelmann (LMU)
Verhalten	W. Wurst, S. Hölter (GSF)
Neurologie	T. Klopstock (LMU)
Augen	J. Graw (GSF)
Dymorphologie, Knochen und Knorpel	M. Hrabé de Angelis, H. Fuchs (GSF)
Immunologie	D. Busch (TUM)
Allergie	M. Ollert, T. Jakob, H. Behrendt (TUM)
Steroidmetabolismus	J. Adamski (GSF)
Schmerzwahrnehmung	A. Zimmer (Uni Bonn)
Lungenfunktion	H. Schulz (GSF)
Molekulare Phänotypisierung	J. Beckers (GSF)
Energiestoffwechsel	G. Heldmaier, M. Klingenspor (Uni Marburg)
Kardiovaskulärer Screen	B. Ivandic (Uni Heidelberg)
Pathologie	H. Höfler, L. Quintanilla-Fend (GSF)
Datenbank/Datenmanagement	C. Lengger (GSF)
Infektionsplattform	W. Müller, A. Lengeling (GBF)

Projektleiter

E. Wolf, B. Engelmann (LMU)
W. Wurst, S. Hölter (GSF)
T. Klopstock (LMU)
J. Graw (GSF)
M. Hrabé de Angelis, H. Fuchs (GSF)
D. Busch (TUM)
M. Ollert, T. Jakob, H. Behrendt (TUM)
J. Adamski (GSF)
A. Zimmer (Uni Bonn)
H. Schulz (GSF)
J. Beckers (GSF)
G. Heldmaier, M. Klingenspor (Uni Marburg)
B. Ivandic (Uni Heidelberg)
H. Höfler, L. Quintanilla-Fend (GSF)
C. Lengger (GSF)
W. Müller, A. Lengeling (GBF)

so dazu wie z.B. die Röntgenaufnahmen. Weitere, eingehendere Untersuchungen (sekundäre und tertiäre Screens), wie zum Beispiel die Untersuchung mit Mikro-Computertomographie oder Elektroenzephalographie, werden von den einzelnen Labors der GMC ebenfalls angeboten. Zusätzlich können detaillierte Analysen zu Wirt-Pathogen-Interaktionen an der GBF in Braunschweig durchgeführt werden (www.gbf.de/ICP).

Bei der Untersuchung der ersten 23 mutanten Mauslinien wurden überraschenderweise in jeder Linie veränderte Parameter gefunden. Viele hochsignifikante Unterschiede sind zudem geschlechtsabhängig. Auch konnten neue, bisher

nicht bekannte Phänotypen bei Mausmutanten gezeigt werden, die schon längere Zeit etabliert sind, jedoch bisher nicht einer so umfassenden Phänotypisierung unterzogen werden konnten.

Einzigartiges Konzept

Weltweit einzigartig ist das Konzept der GMC, dass nicht nur Mauslinien aus den eigenen Forschungsbereichen untersucht werden, sondern jeder interessierte Forscher „seine“ Mauslinie auf der Basis einer wissenschaftlichen Kollaboration untersuchen lassen kann. Ein Koordinationsteam organisiert die Logistik der Anfragen und den Import der Tiere und bietet zudem Assistenz in der Vorbereitung der Zucht. Für den koordinierten Ablauf wurde eine Importroutine entwickelt, die die Aufnahme von Mauslinien alle zwei Wochen erlaubt. Die Website der GMC informiert über die Screeningmethoden und -technologien und erlaubt die direkte Eingabe von Anfragen in eine sogenannte „Request form“ (www.mouseclinic.de). Es kann auch auf spezifische Probleme bei einer Mauslinie eingegangen werden; so können Mausmutanten, die als Homozygote nicht lebensfähig sind, als heterozygote Tiere untersucht werden. Da die Vorbereitung der Zucht längere Zeit in Anspruch nehmen kann (z.B. aufgrund der Sanierung einer Mauslinie) und in einem vorgegebenen Zeitrahmen ablaufen muß, kann vom Zeitpunkt der Anfrage bis zum tatsächlichen Import der Mauslinie mehr als ein halbes Jahr vergehen. Daher wird bei Interesse an der Untersuchung einer Mauslinie eine zügige Anmeldung empfohlen.



Abb. 2: Struktur der German Mouse Clinic (GMC)

EMMA – das Europäische Maus Mutanten Archiv

Das letzte Glied in der Kette nach der Erstellung und umfassenden Phänotypisierung von Mausmodellen stellt die Archivierung dieser mutanten Linien dar.

Die bereits erwähnte Ähnlichkeit der Genomsequenz zwischen Mensch und Maus, die entscheidend zur Etablierung der Maus als Modell für humane Erkrankungen beitrug, und die Entwicklung neuer Technologien zur Herstellung von Mausmutanten haben die Anzahl an Mauslinien in den letzten Jahren sehr stark ansteigen lassen. Damit diese wertvollen Mauslinien erhalten bleiben, wurde es unumgänglich, ein zentrales Archiv aufzubauen, in dem die Mutanten sicher aufbewahrt werden. Das Europäische Maus Mutanten Archiv, kurz EMMA, hat sich neben der Archivierung auch die Bereitstellung dieser Tiere für Forschungszwecken an die wissenschaftliche Gemeinschaft zum Ziel gesetzt. An EMMA sind sieben Institute sechs verschiedener europäischer Länder beteiligt (Deutschland, England, Frankreich, Italien, Portugal, Schweden). Der deutsche Teilnehmer an diesem internationalen Projekt wird durch das Institut für Experimentelle Genetik (IEG) an der GSF vertreten.

In EMMA werden die mutanten Mauslinien in Form von Spermien oder Embryonen kryokonserviert. Diese werden in flüssigem Stickstoff aufbewahrt und können zu einem beliebigen Zeitpunkt in Form lebender Tiere oder, je nach Bedarf, auch im kryoarchivierten Zustand interessierten Wissenschaftlern zu Forschungszwecken zur Verfügung gestellt werden (www.emmanet.org).



Literatur

V. Gailus-Durner, H. Fuchs, L. Becker, I. Bolle, M. Brielmeier, J. Calzada-Wack, R. Elvert, N. Ehrhardt, C. Dalke, T. J. Franz, E. Grundner-Culemann, S. Hammelbacher, S. M. Hölter, G. Hölzlwimmer, M. Horsch, A. Javaheri, S. Kalaydjiev, M. Klemp, E. Kling, S. Kunder, C. Lengger, T. Lisse, T. Mijalski, B. Naton, V. Pedersen, C. Prehn, G. Przemec, I. Racz, C. Reinhard, P. Reitmeier, I. Schneider, A. Schrewe, R. Steinkamp, C. Zybill, J. Adamski, J. Beckers, H. Behrendt, J. Favor, J. Graw, G. Heldmaier, H. Höfler, B. Ivandić, H. Katus, P. Kirchhof, M. Klingenspor, T. Klopstock, A. Lengeling, W. Müller, F. Ohl, M. Ollert, L. Quintanilla-Martinez, J. Schmidt, H. Schulz, E. Wolf, W. Wurst, A. Zimmer, D. H. Busch, and M. Hrabé de Angelis (2005) *Introducing the German Mouse Clinic: Open access platform for standardized phenotyping. Nature Methods* 2(6), 403-404

J. Hansen, T. Floss, P. van Sloun, E. M. Füchtbauer, F. Vauti, H. H. Arnold, F. Schnütgen, W. Wurst, H. von Melchner, P. Ruiz (2003) *A large scale, gene-driven mutagenesis approach for functional analysis of the mouse genome. Proc. Natl. Acad. Sci USA* 100, 9918-9922.

Kontakt:

Prof. Dr. Martin Hrabé de Angelis
GSF-Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit, München/Neuherberg
Institut für Experimentelle Genetik
E-Mail: hrabe@gsf.de

Glossar

Funktionelle Genomanalyse Untersuchung nicht nur der Sequenz, sondern auch der Funktion der genetischen Information und/oder der davon kodierten Genprodukte (Proteine) sowie deren Zusammenspiel.

Genfallenvektoren fremde DNA-Sequenzen, die in embryonale Stammzellen von Mäusen eingeschleust werden. Sie integrieren sich dabei in ein Gen der Maus, wodurch dieses ausgeschaltet wird.

Genomannotation die Zuordnung von experimentell verifizierten und mit Hilfe bioinformatischer Methoden erschlossener Angaben zu bestimmten Koordinaten im Genom, z.B. wo im Genom sind Gene und welche Funktion haben die zugehörigen Genprodukte.

Genotypisierung hier: DNA-Marker Detektion

Knock Out Maus Maus bei der ein bestimmtes Gen ausgeschaltet wurde um die Funktion einzelner Gene zu untersuchen.

Mutagenese Erzeugung von Mutationen (Veränderung in DNA-Sequenz) in der Erbinformation eines Organismus z. B. durch UV-Licht oder verschiedene Chemikalien.

Transkriptom die Gesamtheit aller Gene, die an einem bestimmten Zeitpunkt in einer Zelle oder einem Zelltyp abgelesen werden.

Vektor ringförmiges DNA-Molekül mit dessen Hilfe Fremd-Gene in eine Zelle oder ein Bakterium eingeschleust werden. Es kann sich in einer Wirtszelle selbstständig vermehren. Konditionelle Vektoren ermöglichen es, das Vektor-Gen gezielt an- oder abzuschalten.