

Lehrerfortbildung am 20.2.2004, Universität Bielefeld

„Von der Gendiagnose zum Phänotyp am Beispiel neurologischer Erkrankungen

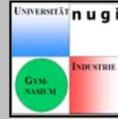
Veranstalter:

PD Dr. J.W. Bartsch

Dr. K.P. Ohly

G. Telgmann

A. Bökehof-Reckelkamm

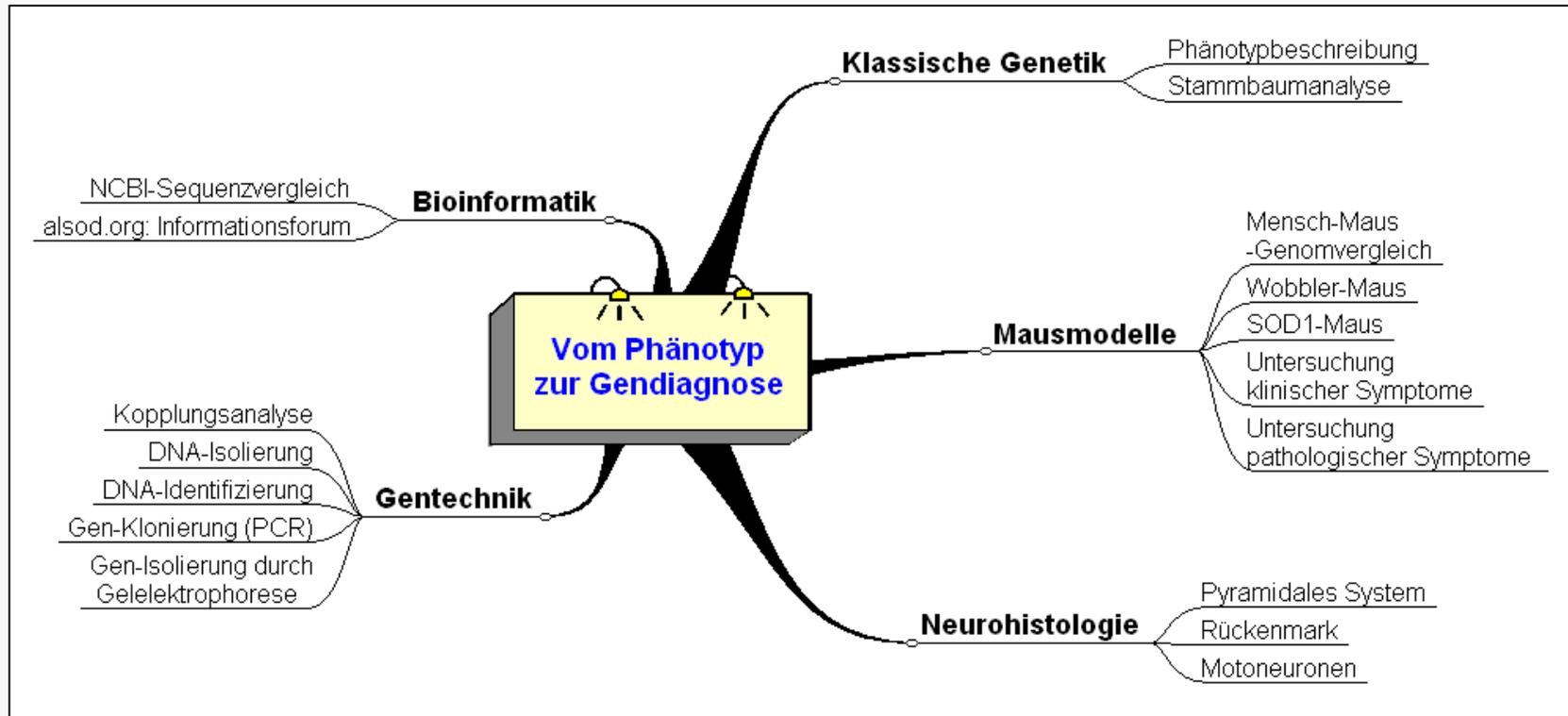


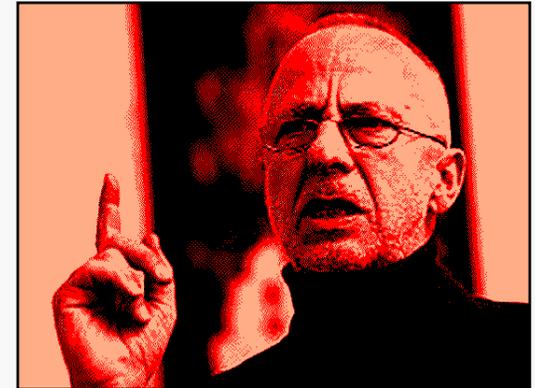
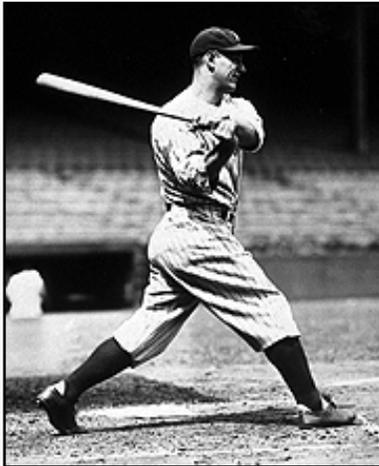
Vom Phänotyp zur Gendiagnose

Grundlagenforschung zu neurodegenerativen
Erkrankungen an der Uni Bielefeld
mit Hilfe von Mausmodellen



Beispiel: **A**myotrophe **L**ateral**s**klerose (ALS)



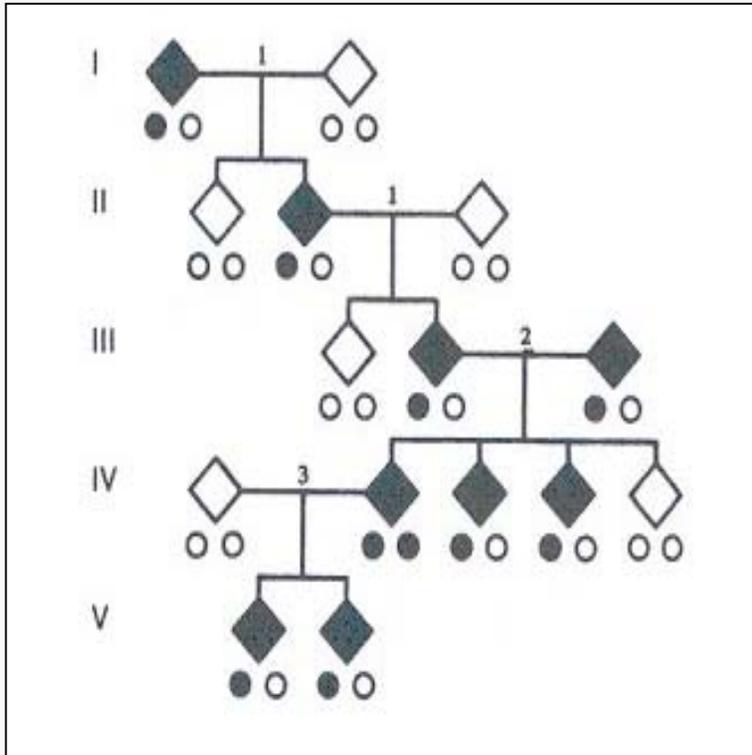


Bekannte Betroffene:

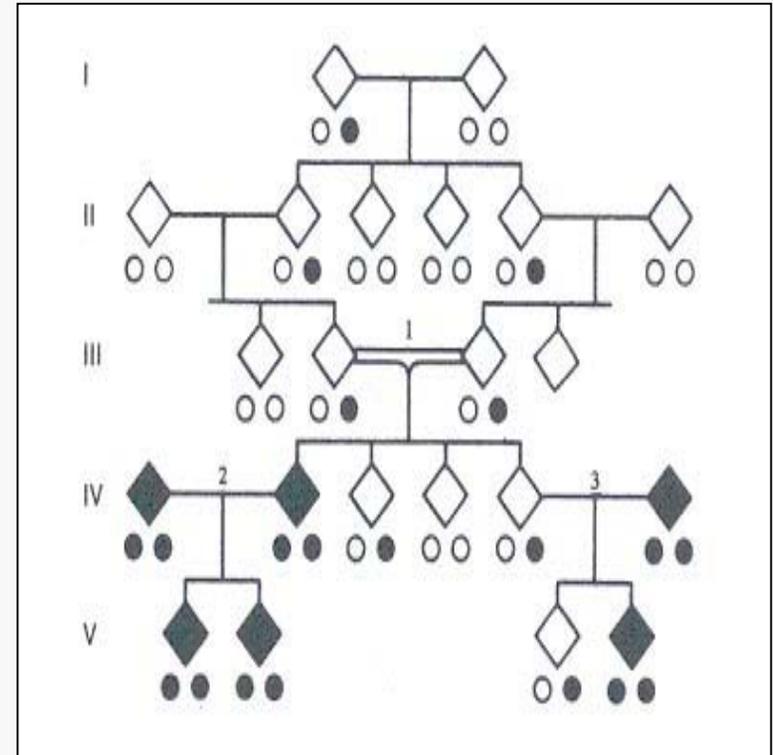
Lou Gehrig, Stephen Hawking, Jörg Immendorff

- o Neurodegenerative Erkrankung
- o 100.000 Betroffene weltweit
- o Mehr männliche als weibliche Betroffene (1,5:1)
- o Ausbruch meist zwischen dem 50. und 70. Lebensjahr
- o Verschiedene Unterformen, u. a. juvenile ALS
- o Dauer der Krankheit: Monate bis Jahrzehnte
- o Fortschreitender Verlust willkürlicher motorischer Fähigkeiten
- o Später Defizite in der unwillkürlichen Motorik
- o Tod häufig durch Atemlähmung
- o 2 Formen: SALS (90%) + FALS (10%)

Stammbaumanalyse

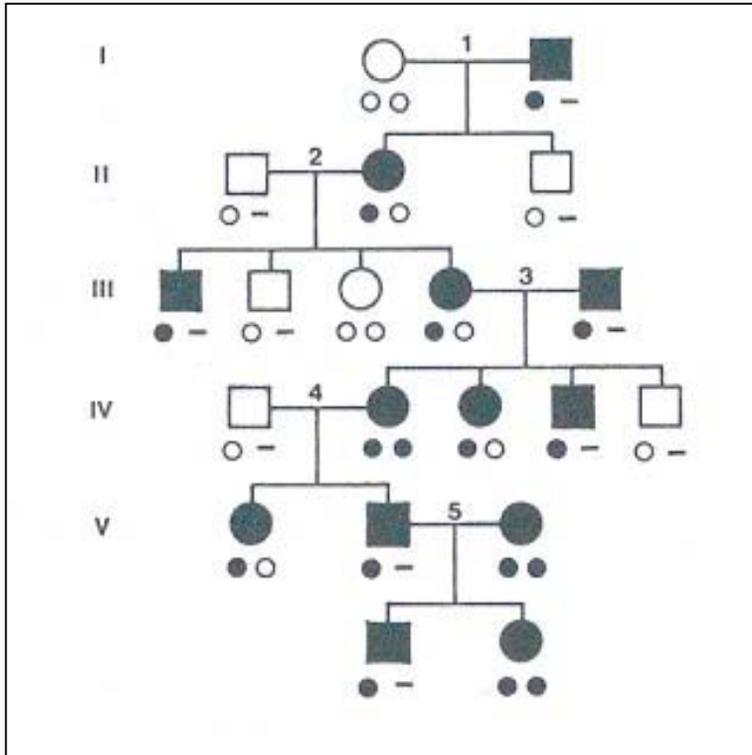


autosomal-dominant

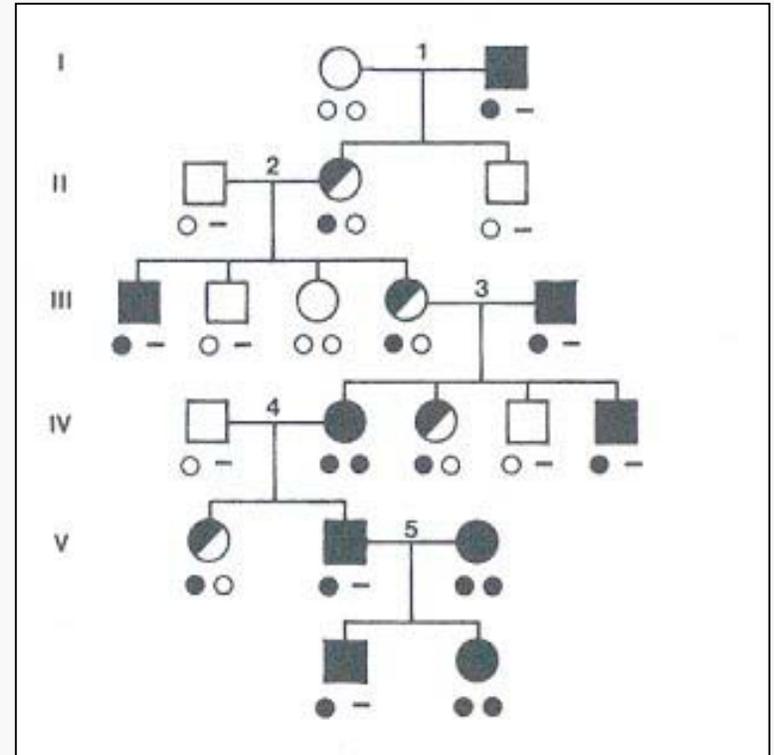


autosomal-rezessiv

Stammbaumanalyse



gonosomal-dominant



gonosomal-rezessiv

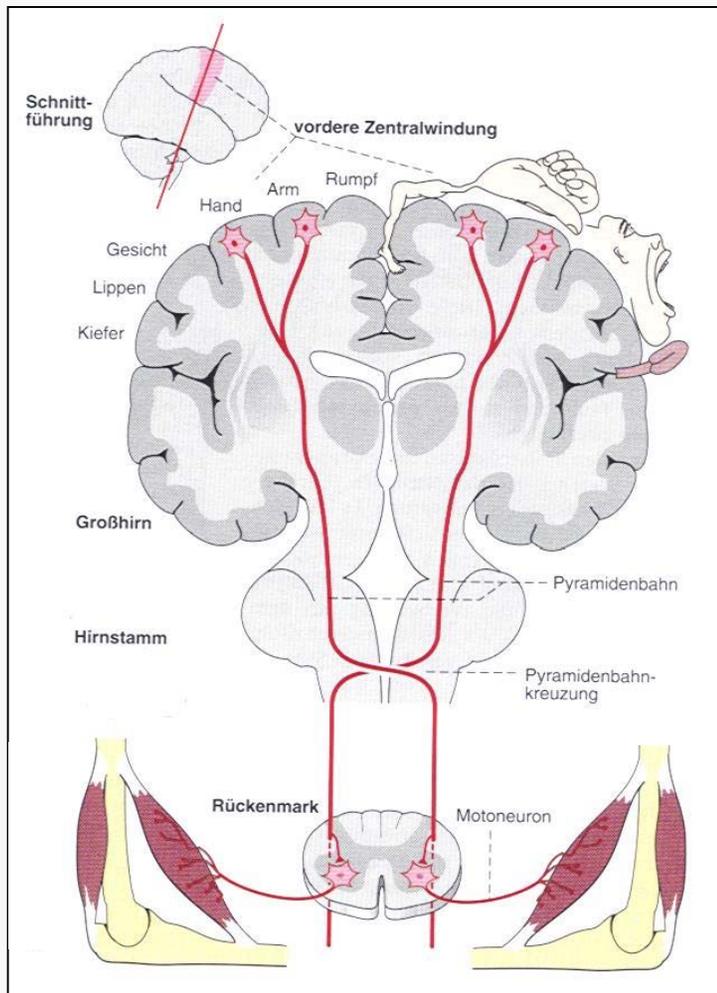


Wobbler-Maus (to wobble - wackeln)

- o 1956 als Mutante bei Labormäusen entdeckt
- o gesund geboren
- o entwickeln mit zunehmenden Alter fortschreitende Lähmungen der Vorder- und Hinterextremitäten
- o gesundes Neugier- und Sozialverhalten

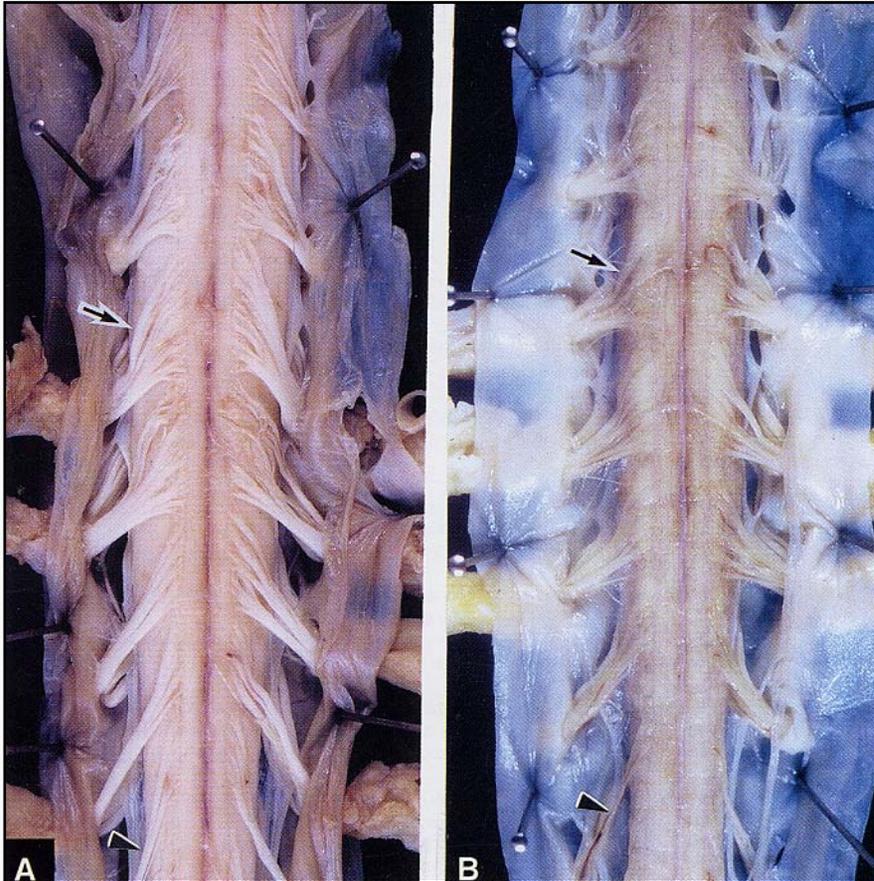
SOD1-Maus

- o Transgene Maus
- o vergleichbare Symptome in fortgeschrittenem Alter



Pyramidales System

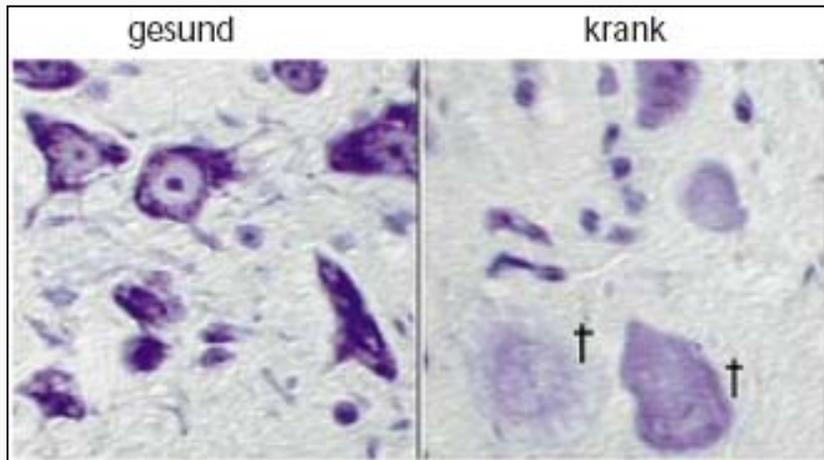
- o Bewusste Bewegungen, wie Umklammern einer Gitterstange, beginnen mit der Bildung motorischer Impulsmuster in den Neuronen der vorderen Zentralwindung
- o Deren Axone laufen als Pyramidenbahn durch das Gehirn in das Rückenmark.
- o Hier bilden sie Kontakte mit Motoneuronen.
- o Das Impulsmuster wird auf die Muskulatur übertragen und die Handlung ausgeführt.



Reduktion der
Spinalnerven

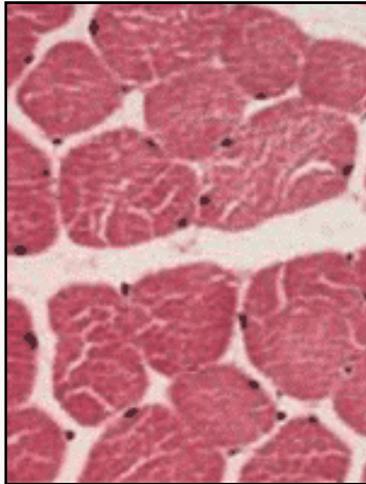


- o Mausmodelle ermöglichen die Untersuchung der klinischen und pathologischen Symptome in jedem beliebigen Stadium der Krankheit.
- o Vergleich der histologischen Präparate von Motoneuronen und Muskelfasern gesunder und erkrankter Tiere ermöglicht die Zuordnung von Symptomen und neuronaler Veränderung.

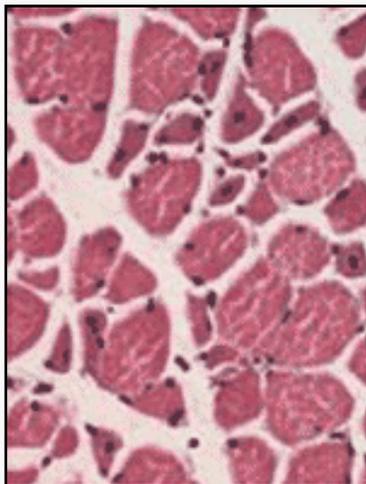


Ermittelte Unterschiede:

- o Vakuolisierung
- o Verminderte Anfärbbarkeit wegen Reduktion des ER
- o Aufblähung des Somas:
Hinweise auf bevorstehenden Zelltod

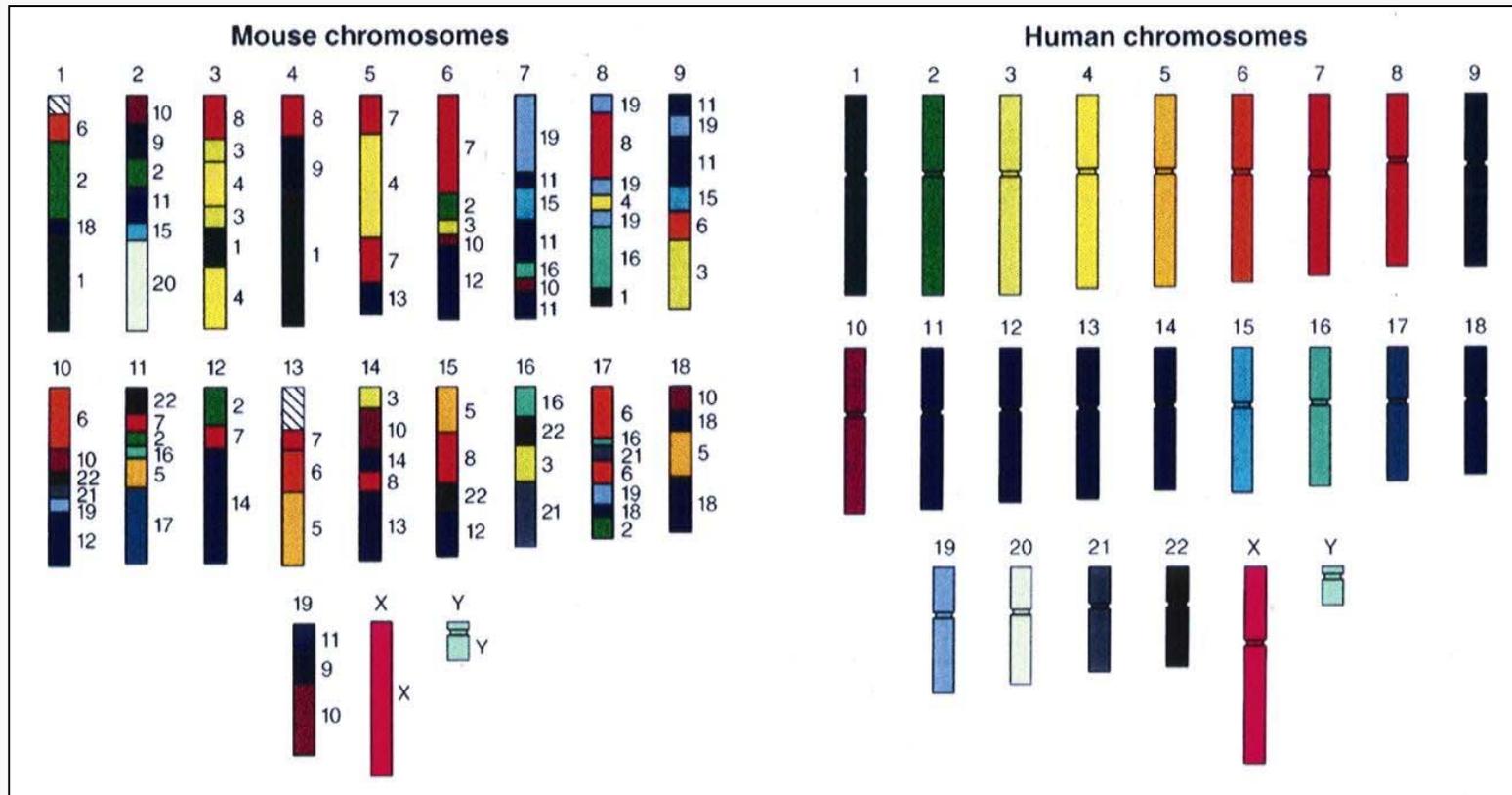


normaler Muskelaufbau
(HE-Färbung)



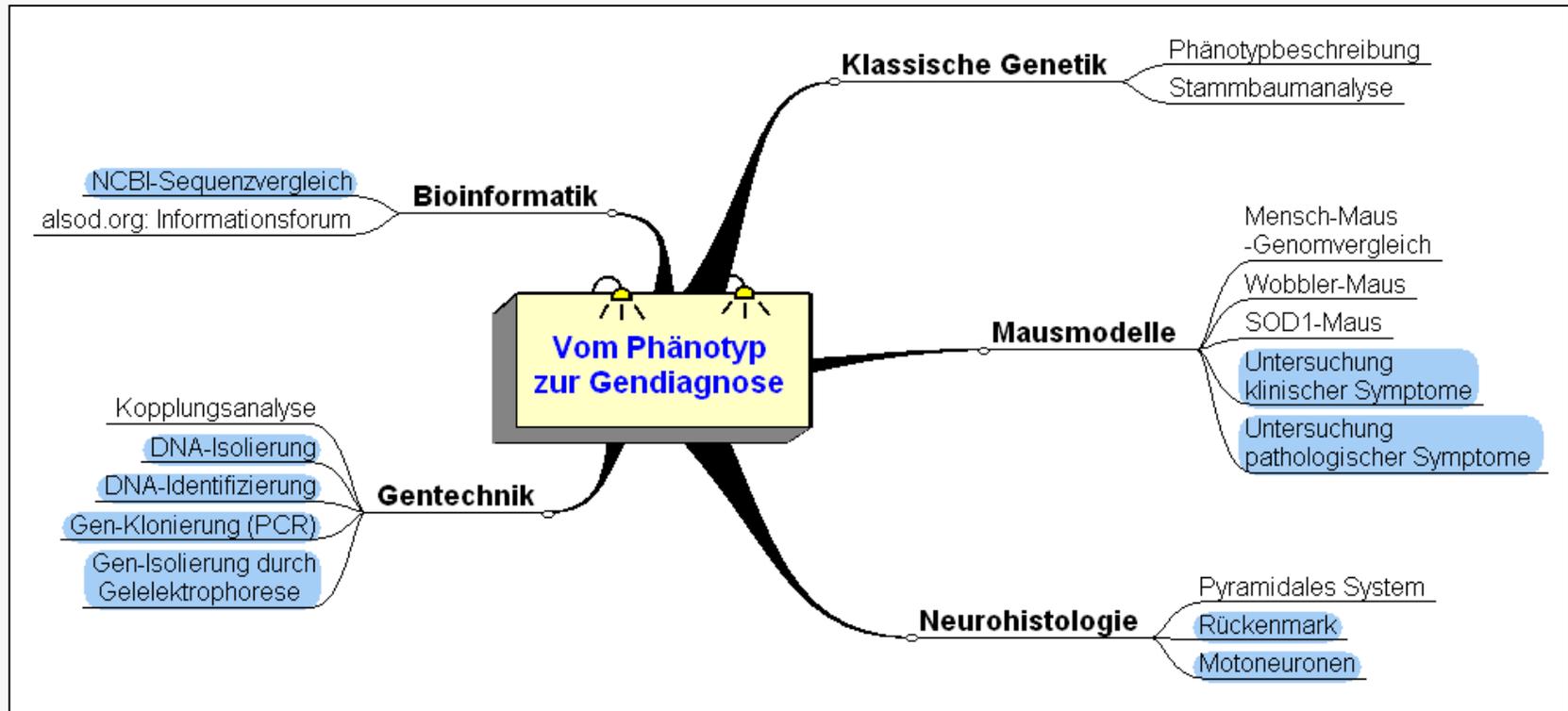
veränderter Muskelaufbau durch
gestörte Nervenversorgung
(Denervierung):

Muskelfasern sind verkleinert und
entrundet



- o 98% der Gene stimmen bei Mensch und Maus überein.
- o Mäuse können unter vergleichbaren Krankheiten leiden wie Menschen.
- o Suche nach Gen, dessen Mutation zur Degeneration der Motoneuronen führt.

Problemstellung	Technik
<p>Wie lässt sich die DNA isolieren und reinigen?</p> <p>Auf welchem Chromosom liegt das mutierte Gen?</p> <p>Auf welchem Chromosomenabschnitt liegt das mutierte Gen?</p> <p>Wie lässt sich der gesuchte DNA-Abschnitt vervielfältigen?</p> <p>Wie lassen sich unterschiedliche DNA-Abschnitte auftrennen?</p> <p>Welche Sequenz hat der gesuchte DNA-Abschnitt?</p> <p>Welcher Ausschnitt der Sequenz ist das gesuchte Gen?</p> <p>Welcher Unterschied besteht zwischen der Sequenz des mutierten und des nicht-mutierten Allels?</p>	<p>DNA-Isolierung</p> <p>DNA-Identifizierung</p> <p>Kopplungsanalyse</p> <p>Marker-Experimente</p> <p>PCR</p> <p>Gelelektrophorese → Fragmentmuster</p> <p>Gelelektrophorese nach Sanger</p> <p>Southern- Blotting + Marker</p> <p>Sequenzvergleich</p> <p>NCBI-Server-Nutzung (BLAST)</p>



National Center for Biotechnology Information

Datenbank:

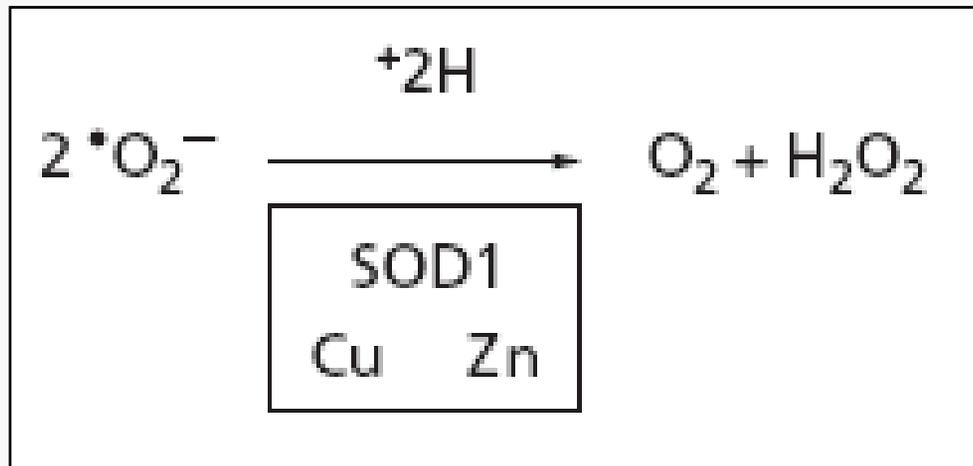
- o Bibliothek (Life Sciences)
- o Genomsequenzen und Chromosomenkarten
- o Links zu anderen Datenbanken weltweit

Werkzeug:

- o Vergleich von Basen- und Aminosäuresequenzen
- o Mutationsanalyse
- u. v. m.

Der Zusammenhang zwischen der Superoxid-Dismutase (SOD1) und der ALS wurde 1993 nachgewiesen.

Das SOD1-Enzym entgiftet im gesunden ZNS zelluläre Sauerstoff-Radikale:



Hypothese zur Entstehung von ALS durch mtSOD1:

Die mutierte SOD1 ist gekennzeichnet durch veränderte Eigenschaften, die zu der paradoxen Zunahme der Produktion freier Radikale führen.

Dieser toxische Funktionsgewinn führt zur Schädigung motorischer Nervenzellen. Der genaue Mechanismus der Neuronenschädigung ist noch unbekannt.

