

5. Zusammenfassung

Der Zebrafisch hat sich in den letzten Jahren zu einem wichtigen Modellorganismus in der Molekulargenetik und Embryologie entwickelt, da sich in ihm vielseitige experimentelle Ansätze aus beiden Gebieten vereinigen lassen. Nach wie vor sind jedoch viele seiner Gene unbekannt. Das Zebrafisch EST Projekt der Washington University in St. Louis (USA) hat zum Ziel, neue Gene zu finden und zu charakterisieren.

Diese Arbeit konzentrierte sich dabei auf diejenigen Klone aus der EST Bibliothek (Inhalt ~25 000 Klone), welche Homologien zu Genen aufweisen, die beim Menschen in Krankheitsvorgängen beschrieben sind.

Eine Datenbank von 922 Genen, die beim Menschen als in Krankheiten impliziert ausgewiesen sind (Stand Dezember 1999), bildete die Grundlage dieser Arbeit. Für die Klonselktion wurde ein unteres Limit der Homologie von 70% auf Aminosäureebene zwischen dieser Datenbank und den Zebrafisch EST-Sequenzen festgelegt. 186 Klone erfüllten dieses Kriterium. 150 von ihnen wurden mittels whole-mount-in-situ Hybridisierung (RNA-antisense Sonden) auf ihr Expressionsverhalten während der Entwicklung des Zebrafischembryos in einem Stadium von 6, 10, 14, 18, 24 und 36 Stunden nach der Befruchtung untersucht. Bei 39 differentiell exprimierten Klonen (26%) konnte man eine Aussage zu räumlicher und zeitlicher Expression machen. Acht Klone wurden beispielhaft in dieser Arbeit analysiert. Diese Klone sind bevorzugte Kandidaten für eine weitere funktionelle Analyse.

Durch die Sequenzverifikation der ausgewählten Klone mit den mittels high-through-output Technologie ermittelten Sequenzen des Washington EST Projekt kann man ferner eine Aussage zur Höhe des Anteils der falschen Zuordnung von Sequenz und Klonen machen. Bei den in dieser Arbeit untersuchten 186 Klonen waren 46 Sequenzen (24%) nicht korrekt. Dieser Anteil bewegt sich knapp über der Annahme der Washington University für falsche Zuordnungen (15-20%).