

Medizinische Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin
aus dem Institut für Klinische Pharmakologie und Toxikologie
Abteilung Klinische Pharmakologie
Prof. Dr. med. Reinhold Kreutz

**Charakterisierung der konsomen Rattenlinie MWF-6^{SHR} zur
Analyse des Albuminurie-QTL auf Chromosom 6 bei der
MWF-Ratte**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der
medizinischen Doktorwürde
der Charité – Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin

vorgelegt von

Judith Weiss

aus Schwedt/Oder

Referent: Prof. Dr. med. Reinhold Kreutz

Korreferent: Prof. Dr. M. Stoll

Gedruckt mit Genehmigung der Charité – Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin

Promoviert am: 23.03.2007

meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Hypertonie und Mikroalbuminurie – zwei Hauptrisikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen	1
1.2. Tiermodelle zur Untersuchung von multifaktoriellen Erkrankungen	5
1.3. Strategien für die Identifizierung krankheitsrelevanter Gene	6
1.4. Die Inzuchtrattenstämme MWF und SHR	11
1.5. Ziel der Arbeit	14
2. Material und Methoden	16
2.1. Material	16
2.1.1. Chemikalien und Radionukleotide.....	16
2.1.2. Enzyme	17
2.1.3. Puffer und Lösungen.....	17
2.1.4. Primer und Sonden für die TaqMan-PCR	18
2.1.5. Sonstige Materialien und Futtermittel.....	18
2.1.6. Geräte	19
2.2. Methoden	20
2.2.1. Haltung.....	20
2.2.2. Zucht	20
2.2.2.1. Parentaltiere MWF und SHR	20
2.2.2.2. Konsomer Stamm MWF-6 ^{SHR}	20
2.2.2.2.1. Prinzip der Züchtung konsomer Rattenstämme.....	21
2.2.2.2.2. Züchtung des konsomen Stammes MWF-6 ^{SHR}	21
2.2.2.3. (MWF-6 ^{SHR} x MWF)-F1-Generation	23
2.2.3. Versuchsprotokoll.....	23
2.2.4. Phänotypische Charakterisierung	23
2.2.4.1. Systolische Blutdruckmessung.....	23
2.2.4.2. Urinuntersuchungen	24
2.2.4.2.1. Uringewinnung.....	24
2.2.4.2.2. Messung der Albuminurie	24
2.2.4.2.3. Biochemische Analysen.....	25
2.2.4.3. Präparation	25
2.2.4.3.1. Narkose.....	25
2.2.4.3.2. Organentnahme	25

2.2.4.3.3. Gewebe- und Organaufbereitung	26
2.2.4.4. Histologie	26
2.2.4.4.1. Anfertigung der Nierenschnitte	26
2.2.4.4.2. Oberflächliche Glomeruli	26
2.2.4.4.3. Glomeruloskleroseindex	27
2.2.4.4.4. Renale interstitielle Fibrose	27
2.2.4.4.5. Tubulärer Schädigungsindex	27
2.2.5. Genomanalyse mittels polymorpher Mikrosatellitenmarker	28
2.2.5.1. Prinzip der Genomanalyse	28
2.2.5.2. Isolierung genomischer DNA	29
2.2.5.3. Herstellung der DNA-Stockplatten	29
2.2.5.4. Mikrosatellitenmarker	29
2.2.5.5. Primer-Kinasierung / Radioaktive Markierung der Primer am 5'-Ende	30
2.2.5.6. PCR (Polymerase-Kettenreaktion)	30
2.2.5.7. Polyacrylamidgel-Elektrophorese	30
2.2.6. Differentielle Genexpressionsanalyse	31
2.2.6.1. RNA-Isolierung	31
2.2.6.2. Reverse Transkription	32
2.2.6.3. Quantitative Real-Time PCR	32
2.2.7. Statistische Analysen	33
3. Ergebnisse	34
3.1. Genotypische Charakterisierung des konsomen Stammes MWF-6 ^{SHR}	34
3.2. Vergleichende phänotypische Charakterisierung männlicher MWF-6 ^{SHR} -Tiere	35
3.3. Differentielle Genexpressionsanalyse	46
3.4. Vergleichende phänotypische Charakterisierung weiblicher MWF-6 ^{SHR} -Tiere	46
4. Diskussion	53
5. Zusammenfassung	70
6. Abkürzungen	72
7. Abbildungsverzeichnis	74
7.1. Abbildungen	74
7.2. Tabellen	75

8. Literatur	76
9. Anhang	85
9.1. Danksagung	85
9.2. Publikationen	86
9.3. Lebenslauf	88
9.4. Eidesstattliche Erklärung.....	89