

## 5. Zusammenfassung

*Runx2* ist ein wichtiger Faktor der Skeletogenese. Mäuse, die defizient für *runx2* sind, besitzen keinen Knochen. Beim Menschen verursacht diese Mutation die Krankheit *Cleidocraniale Dysplasie*. Des Weiteren ist *Runx2* als positiver Regulator bei der Knorpelentwicklung beteiligt. Die Erkenntnis der Mechanismen, die zur *Cleidocranialen Dysplasie* führen, würde auch ein besseres Verstehen der Knochen- und Knorpelentwicklung mit sich bringen.

In Vorarbeiten wurde RNA aus Wildtyp- und Knockout-Humeri von Mäusen (14,5 dpc.) isoliert und deren Genexpressionsprofile analysiert. Von einer Affymetrix Gen-Chip-Analyse, die ca. 36000 Gene und ESTs umfasste, wurden 119 Gene gewählt, die eine mindestens zweifach veränderte Expressionsstärke zwischen Wildtyp und Knockout aufwiesen. Bei 59 dieser Gene konnten ein mindestens zweifacher Expressionsunterschied zwischen Wildtyp und *runx2*-Knockout im embryonalen Humerus der Maus durch quantitative PCR bestätigt werden.

Nach Wegstreichen von 6 gefundenen Duplikaten und Wegfallen 3 weiterer ESTs, die sich nicht amplifizieren ließen, wurden die verbleibenden 50 Gene in der *In-Situ*-Hybridisierung auf ihre Expression im Knochen und/ oder Knorpel getestet. Hierfür wurde die *ISH* mit dem TECAN Genesis RSP 150 Automaten etabliert, so dass ein nicht-radioaktives und präzises Arbeiten mit reproduzierbaren Ergebnissen möglich war.

Insgesamt ergaben 35 von 50 transkribierten *In-Situ*-Sonden ein Signal; 21 im Knochen, 26 im Periost, 17 im Knorpel, 6 in Osteoklasten, 1 im Perichondrium und 3 in knochen-/knorpelunabhängigen Gewebsarten.

Die Kandidatengene wurden mit Hilfe bekannter Funktionen und Eigenschaften aus Literaturangaben eingeteilt und beschrieben. Für die Kandidaten wurden zusätzlich, soweit vorhanden, die GO-Termini, die die Funktionen, bzw. Eigenschaften eines Gens genau beschreiben, in der Einteilung verwendet.

Die Charakterisierung und Expression dieser Gene wurde in eine Datenbank eingetragen, um eine Basis für eine möglichst vollständige und übersichtliche Form des Wissenstandes zu schaffen, so dass an dieser Stelle die weiter folgenden funktionellen Analysen strukturiert angeschlossen werden können.

Eine zusätzliche Promotoranalyse von konservierten *Runx2*-Transkriptionsfaktor-Bindungsstellen deckte u.a. genau die 4 Gene aus dem Datensatz auf, von denen bekannt ist, dass sie direkt durch *Runx2* reguliert werden. Dies lässt annehmen, dass 3 weitere Gene, die genauso *Runx2*-Bindungsstellen in ihrem Promotor besitzen und eine Expression in Knochen/ Knorpel aufwiesen, durch *Runx2* direkt reguliert werden.

Die eingehende Untersuchung des *runx2*-Maus-Modells (Knockout- im Vergleich zur Wildtyp-Maus) bot die Möglichkeit, gezielt neue Gene zu finden, welche besonders geeignet sein könnten, therapeutisch die Knochenhomöostase zu beeinflussen.

Mit Hilfe dieser Methoden können Gene, die durch ein anderes Schlüsselgen beeinflusst werden, valide aufgedeckt werden.