

1. Einleitung

Die Erforschung der Funktion einzelner Gene und der Interaktion ihrer Proteine im Kontext des gesamten Organismus ist wichtiger Bestandteil des Verständnisses humaner Erkrankungen. Obwohl in den letzten Jahren die Genome zahlreicher Organismen wie beispielsweise Mensch und Maus sequenziert wurde, liegen nur für ca. 15% der Gene Informationen zum Expressionsprofil und ihrer Funktion im Gesamtorganismus vor. Demzufolge ist nur ein kleiner Teil der erblichen Krankheiten ausreichend verstanden um erfolgversprechende Ansätze für Therapien entwickeln zu können. Für den Großteil der genetisch bedingten Erkrankungen sind die betroffenen Gene noch immer unbekannt. Aufgrund der evolutionären Konservierung wichtiger Bereiche des Genoms lassen sich allein durch den Vergleich der Genome des Menschen und der Maus häufig die Sequenzen identifizieren, die für Proteine kodieren oder wichtige regulatorische Funktionen besitzen.

Stellvertretend für den Menschen lassen sich im Tierversuch Genexpression und Proteinfunktion unter Zuhilfenahme von geeigneten Mausmodellen erforschen. Embryonale Stammzellen der Maus lassen sich in der Zellkultur gezielt genetisch modifizieren. Aus den genetisch modifizierten Stammzellen können nach Injektion in frühe Embryonen Mäuse mit einer bekannten genetischen Modifikation generiert werden.

Die gezielte Ausschaltung bekannter Gene im Knockoutverfahren hat innerhalb weniger Jahre zur Aufklärung vieler Genfunktionen beigetragen, jedoch handelt es sich bei diesem Verfahren um eine sehr arbeits- und kostenaufwendige Methode zur Herstellung von Mausmodellen. Der Vorteil der ungezielten Ausschaltung der Gene, wie dies im Gene Trap Verfahren der Fall ist, liegt in der weit größeren Effizienz dieser Methode.

Hierbei wird ein Vektor zufällig in das Mausgenom eingebracht und erst nach Integration in ein Gen die Lokalisation der Fusionskassette bestimmt. So war es im Rahmen des Deutschen Humangenomprojektes in den letzten Jahren möglich, eine große Anzahl muriner ES-Zelllinien zu mutieren. Aus dieser Genbank lassen sich zum einen Mausmodelle von Genen mit bereits bekannter Relevanz für humane Erkrankungen herstellen, die zur Untersuchung therapeutischer Ansätze genutzt werden können. Zum anderen bietet sich die Möglichkeit Mausmodelle unbekannter Gene zur Erforschung der Genexpression und Proteinfunktion zu nutzen.

In dieser experimentellen Studie soll die Phänotypisierung eines Plakophilin 4 mutanten Mausstammes vorgestellt werden.

Plakophilin 4 ist ein Adhäsionsmolekül, welches strukturell am Zusammenhalt von Zellen über Desmosomen und Adherens Junctions beteiligt ist. Das Protein ist Mitglied der Armadillorepeat Proteinfamilie und gehört somit zu einer großen Gruppe von Adhäsionsproteinen, welche essentielle Bestandteile des Gewebzusammenhalts darstellen.

Für einige dieser Proteine sind bereits Zusammenhänge mit humanen Erkrankungen beschrieben. So konnten Mutationen in Genen für Plakoglobin, Desmoplakin und Plakophilin 2 für die Entstehung kardialer Erkrankungen verantwortlich gemacht werden. Es zeigten sich ultrastrukturelle Veränderungen der Desmosomen im Herzen und in epithelialen Geweben. Patienten mit Mutationen dieser Gene bilden klinisch ein palmoplantare Keratose mit arrhythmogener rechts- bzw. linksventrikulärer Kardiomyopathie aus.

Als Folge einer Mutation des Gens für Plakophilin 1 wurden epitheliale Veränderungen der Haut beschrieben.

Plakophilin 4 ist in zahlreichen Geweben des Körpers exprimiert. Es konnte mittels RT-PCR und Western Blot gezeigt werden, dass Plakophilin 4 vor allem im Herzen der homozygoten Gene Trap Mäuse stark reduziert war. Diese Befunde legten die Vermutung nahe, dass die Tiere mit zunehmendem Alter aufgrund chronischer Beanspruchung des Herzmuskels und/oder als Folge erhöhter mechanischer Belastung bei Leistungstraining strukturelle Veränderungen am Herzen zeigen könnten. Dies soll mit Hilfe molekularbiologischer, histologischer und klinischer Untersuchungsmethoden in dieser experimentellen Studie unter folgender Fragestellung erörtert werden:

- Erfüllt Plakophilin 4 eine essentielle Aufgabe in der strukturellen Entwicklung und dem funktionellen Zusammenhalt des Herzgewebes?
- Zeigen sich klinische und/oder histologische Veränderungen am Herzen der homozygot Plakophilin 4 defizienten Tiere mit zunehmendem Alter?
- Lassen sich die Veränderungen durch Training bei jüngeren Tieren hervorrufen, bzw. verstärken?