

# 1 ZUSAMMENFASSUNG

cDNS-Mikroarrays stellen ein modernes Verfahren zum Studium der Genexpression dar, die eine vergleichende Analyse des transkriptionellen Zustandes einer Zelle oder eines Gewebes ermöglichen. Tausende von Genen können dadurch simultan in ihrer Expressionsstärke erfasst werden. Gleichzeitig werden komplexe genetische Veränderungen besonders gut visualisiert. Die biologische Fragestellung dieser Arbeit war darauf ausgerichtet, Expressionsanalysen an limitiertem Ausgangsmaterial von Knockout-Mäusen mit einer seltenen Augenkrankheit durchzuführen. Dabei handelt es sich um die Norrie Krankheit, eine X-chromosomal-rezessive Erkrankung, die durch degenerative Veränderungen in der Netzhaut gekennzeichnet ist. Grundlage für die Expressionsanalysen stellte eine cDNS-Subtraktionsbank dar. Diese war insbesondere für gering exprimierte Gene angereichert, die in den Augen von Norrie-Knockout Mäusen fehlen oder auf einem sehr geringen Niveau exprimiert sind. Eine effektive Screening Methode ermöglichte die Mikroarray-basierte Charakterisierung von über 3000 cDNS-Klonen aus dieser Bank. Die Vielzahl an identifizierten Photorezeptor-spezifischen Genen wurde durch zusätzliche Augen-spezifische und Apoptose-relevante Gene aus einer Klon-Sammlung vervollständigt. Dadurch waren parallele Expressionsanalysen mit über 5000 Elementen möglich. Zur Hybridisierung mußten fluoreszent markierte Targets hergestellt werden, wobei die sehr geringen Mengen an RNS – wie sie aus dem Auge einer Maus gewonnen werden können – eine besondere Schwierigkeit darstellten. Methodisch völlig unterschiedliche Verfahren wurden verglichen und dahingehend beurteilt ob sie die initialen Transkript-Verhältnisse aufrechterhalten. In einer umfangreichen Studie wurde die zeitliche Änderung der Genexpression während der Krankheitsprogression der Norrie Krankheit erfaßt. Die Augen-RNS von jeweils drei Tierpaaren (ND-Knockout und Wildtyp) von sieben verschiedenen Altersstadien (0,5 bis 24 Monate) wurden jeweils mit zwei methodisch unterschiedlichen Techniken fluoreszenzmarkiert und auf die Mikroarrays hybridisiert. Die sehr umfangreichen Datensätze wurden durch Clusteranalyse ausgewertet, wodurch zeitliche Veränderungen der Genexpression identifiziert und visualisiert werden konnten. Dadurch war es erstmalig möglich, pathogenetische Prozesse der Krankheitsprogression in ND-Mäusen auf Transkript-Niveau zu analysieren. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass die kontinuierliche Expression des ND-Gens eine wichtige Bedeutung für die funktionelle und strukturelle Integrität der retinalen Zell-Schichten, insbesondere für Photorezeptorzellen hat.