

Leander Hock  
Dr. med.

## **Untersuchung des Guanosin triphosphat-Cyclohydrolase I – Feedbackregulators im Zebrafisch**

Fach: Kinderheilkunde  
Doktorvater: Prof. (apl) Thomas Opladen

In dieser Arbeit sollte der gtpchl-Feedbackregulator (gchfr) im Zebrafisch näher untersucht werden. Insbesondere sollte einer möglichen Rolle in der Embryonalentwicklung nachgegangen werden. Die hierzu durchgeführte Expressionsanalyse ergab, dass gchfr ein maternaler Faktor ist. Zu klären bleibt die Frage, welche Funktion gchfr in der frühen Embryonalentwicklung hat. Eine weitere Frage ist, wie früh der Tetrahydrobiopterin-Stoffwechsel eine Rolle in der Zebrafischentwicklung spielt.

Der durchgeführte Morpholino-*knockdown* zeigte teilweise frühe Entwicklungsstörungen, für die verschiedene Erklärungsansätze in Frage kommen. Hier bedarf es weiterer gentechnischer Untersuchungen. Im Jahr 2012 wurde eine neue Methode zur Genom-Editierung (*Genome Editing*) veröffentlicht, das CRISPR/Cas 9-System (Jinek et al., 2012) (Ran et al., 2013). Mittlerweile sind damit schon erste Erfolge in der Heilung von Gendefekten in menschlichen Embryos gelungen (Ma et al., 2017). Der gchfr-Morpholino-*knockdown* könnte durch einen *knockout* mit CRISPR/Cas 9 überprüft werden. Die Benutzung des CRISPR/Cas 9-Systems im Zebrafisch ist beschrieben (Hwang et al., 2013) und es existiert eine codon-optimierte Cas9 für den Zebrafisch (Jao et al., 2013). Durch einen *knock-in* mittels CRISPR/Cas9 könnte auch eine Überexprimierung von gchfr durchgeführt werden. Durch eine Zusammenschau der erhaltenen Ergebnisse von Morpholino-*knockdown*, CRISPR/Cas9-*knockout* und -*knock-in* könnte dann eine erweiterte Validierung der gchfr-Funktion vorgenommen werden.

Die in dieser Arbeit aufgefallene genomische Überlappung von zwei protein-codierenden Genen (gchfr und dnajc17) kann ebenfalls noch näher untersucht werden. Inwiefern könnte hier eine gegenseitige Regulation stattfinden?

In Übertragung der Ergebnisse vom Zebrafisch auf den Menschen stellt sich auch die Frage, wie maternale Faktoren beim Menschen einzuordnen sind und inwiefern die Verbindung von Mutter und Embryo durch die Nabelschnur hier für andere Bedingungen sorgt. Möglicherweise könnte man so der Frage näherkommen, warum keine GCHFR-Mutationen im Menschen beschrieben sind. Ist eine Mutation im GCHFR-Gen nicht mit dem Leben vereinbar?