

Gunjan Pandey
Dr. sc. hum.

Development of An Automated High Content Screening Platform for Identification of Cystic Kidney Disease Modifying Substances in Zebrafish Model of Human Cystic Kidney Disease

Fach/ Einrichtung: Kinderheilkunde
Doktorvater: Prof. Dr. med. Franz Schaefer

Zusammenfassung

In dieser Arbeit beschreibe ich technische und biologische Aspekte eines Hochdurchsatz-Screening- Experiments, das durchgeführt wurde, um pharmakologische Modifikatoren einer humanen zystischen Nierenerkrankung an einem Zebrafischmodell zu identifizieren. Die zystische Nephropathie wurde mittels Morpholino-Knockdown des *IFT172*-Gens induziert. *IFT172* ist Teil des sogenannten intraflagellaren Transportkomplexes; sein Fehlen beeinträchtigt die Funktion der primären Zilien, was zu einem beeinträchtigten Urinfluss und zur Ausbildung von Zysten führt.

Eine automatisierte Pipeline wurde entwickelt, um die Handhabung der Akquisition, Quantifizierung und Analyse großer Mengen von Bildmaterial zu optimieren. Spezielle Hard- und Soft-warewerkzeuge wurden entwickelt, um Probleme im Zusammenhang mit der räumlichen Orientierung von Larven in Mikrotiterplatten, der automatisierten Bild-Erfassung, Datenvorverarbeitung und Befundquantifizierung zu lösen. Nach erfolgreicher Implementierung der High-Content-Screening-Plattform untersuchte ich 1,280 bekannte kleinmolekulare pharmakologische Substanzen aus der Prestwick-Bibliothek anhand von 12 Larven pro Substanz. Das initiale Screening erbrachte 60 Kandidaten-Substanzen mit potenzieller Zysten-inhibierender Aktivität. Diese wurden mittels Dosis-Wirkungs-Studien weiter validiert, was zur endgültigen Bestätigung von 17 Wirksubstanzen führte.

Die identifizierten Substanzen wirken teilweise über bisher in der Ciliopathieforschung wenig bekannte zelluläre Signalwege, darunter Östrogen-Antagonismus, Hemmung neutraler Endopeptidasen, Protonenpumpenhemmung, Anti-Tyrosinase-Aktivität, Calciumkanal-Regulation, Retinoid-Rezeptor-Aktivierung und Topoisomerase-Blockade.

Zusammenfassend konnten wir durch die Etablierung und Durchführung eines automatisierten Hochdurchsatz-Screeningverfahrens in einem genetisch modifizierten Zebrafischmodell mehrere vielversprechende neue pharmakologische Targets identifizieren, die im Hinblick auf ihre zystenhemmende Aktivität und Eignung für den Einsatz bei menschlichen zystischen Nierenerkrankungen weiter untersucht werden können.