



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Funktionale Charakterisierung der gewebespezifischen Expression
der Transaktivatorlinien TPH2-tTA und mGFAP-tTA**

Autor: Max Rudolf Baur
Institut / Klinik: Zentralinstitut für Seelische Gesundheit Mannheim (ZI)
Doktorvater: Prof. Dr. D. Bartsch

Um die Funktion von serotonergen und astrozytären Kandidatengenen in vivo genauer erforschen zu können, sollte das Tetrazyklin-abhängige Regulationssystem (Tet-System) in transgenen Mäusen etabliert werden. Im Falle des serotonergen Systems wurde die gewebsspezifische Expression des Transaktivators (tTA) durch die Regulationseinheiten zweier spezifisch serotonerg exprimierter Gene kontrolliert (*Tph2*- und *Sert*). Für die astrozytäre tTA-Expression wurde auf bekannte, spezifisch glial regulierende humane und murine GFAP-Promotorsequenzen zurückgegriffen. Im Rahmen dieser Doktorarbeit sollten unter Verwendung zweier Reporterlinien (nZL-2 und LC1/R26R) die unterschiedlichen Promotor-tTA Stammtiere funktional auf ihre Gewebsspezifität untersucht werden. Zur funktionellen Überprüfung des Tet-Systems in serotonergen Neuronen standen sieben Stammtiere der Linie L61 (SERT-tTA) und elf der Linie L62 (TPH2-tTA) zur Verfügung. Im Zuge dieser Arbeit konnten neun TPH2-tTA Linien identifiziert werden, die in adulten nZL-2^{TPH2-tTA} Mäusen eine β gal-Expression ausschließlich im Bereich der serotonergen Raphe-Kerne aufwiesen. Des Weiteren ließ sich exemplarisch an adulten Nachkommen der TPH2-tTA Linien F62-26 und F62-20 mittels Immunhistochemie die spezifisch serotonerge Expression des TPH2-tTA Konstrukts nachweisen. Die Verwendbarkeit des SERT-tTA Konstrukts hingegen war in den untersuchten Stammtieren kompromittiert durch eine aberrante extraserotonerge tTA-Expression, welche eine spezifisch serotonerge, P_{tet}-regulierte Transgenexpression mittels SERT-tTA Mäusen verhinderte. Zur funktionellen Überprüfung des Tet-Systems in Astrozyten standen vier Stammtiere der Linie L63 (hGFAP-tTA) und zehn der Linie L64 (mGFAP-tTA) zur Verfügung. Das hGFAP-tTA Konstrukt zeigte sich in nZL-2^{hGFAP-tTA} Tieren als nicht funktional, da keine zerebrale β gal-Expression nachgewiesen werden konnte. Hingegen konnten fünf mGFAP-tTA Stammtiere identifiziert werden, die eine tTA-vermittelte P_{tet}-kontrollierte β Gal-Expression in nZL-2^{mGFAP-tTA} Mäusen aufwiesen. Das β Gal-Expressionsmuster variierte dabei zwischen den mGFAP-tTA Linien, wobei exemplarisch in der Linie F64-27 die spezifisch gliale β Gal-Expression in nZL-2^{mGFAP-tTA} Mäusen mittels Immunhistochemie nachgewiesen werden konnte. In der Linie F64-27 ist davon auszugehen, dass nicht nur astrozytäre Zellen tTA exprimieren, sondern aller Wahrscheinlichkeit auch radiale Gliazellen der adulten Neurogeneseregionen, die als neuronale Stammzellen angesehen werden. In LC1/R26R^{mGFAP-tTA}-Mäusen zeigte sich nicht nur eine ausgeprägte β Gal-Expression in der subventrikulären Zone der Seitenventrikel und in der subgranulären Zone des Gyrus dentatus, sondern auch in der Körnerzellschicht des Bulbus olfactorius und des Gyrus dentatus, welches Areale sind, in die neu gebildete Neuronen migrieren, sodass mittels dieser triple-transgenen Mäuse der gesamte Prozess der adulten Neurogenese markiert zu werden scheint. Insgesamt konnte mittels doppelt-transgener Mäuse funktional gezeigt werden, dass die neu generierten TPH2-tTA- und mGFAP-tTA-Linien eine spezifisch serotonerge bzw. astrozytäre Expression von P_{tet}-regulierten Transgenen ermöglichen. Dabei sind nach unserem Kenntnisstand die TPH2-tTA Linien die einzigen, die derzeit eine induzierbare, reversible Transgenexpression gewebsspezifisch in serotonergen Neuronen adulter Tiere ermöglichen. Die potentielle Verwendbarkeit der TPH2-tTA und SERT-tTA Linien für Studien während der Entwicklung muss noch untersucht werden. Sollte das mGFAP-tTA Transgen der Linie F64-27 tatsächlich in GFAP-positiven neuronalen Stammzellen aktiv sein, so würde die LC1/R26R^{mGFAP-tTA} Mauslinie erstmals eine über das Tet-System vermittelte konditionale Genexpression in neuronalen Stammzellen mit gleichzeitigem „Fate-Mapping“ erlauben.