

Institut für Versuchstierkunde  
der Medizinischen Hochschule Hannover

---

**Charakterisierung des  
Hauptsuszeptibilitätslocus *Cdcs1* für experimentelle,  
chronisch entzündliche Darmerkrankungen**

**THESE**

Zur Erlangung des Grades eines

**Doctor of Philosophy (PhD)**

im

Fachgebiet Versuchstierkunde

durch die Tierärztliche Hochschule Hannover

vorgelegt von

**Gwen Büchler (geb. Julga)**

aus Elmshorn

Hannover 2010

# Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis .....	I
Publikationen .....	IV
Abkürzungsverzeichnis .....	VII
<b>1. Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1. Chronisch entzündliche Darmerkrankungen (CED).....	1
1.2. Genetik der CED .....	2
1.3. Tiermodelle für CED.....	8
1.4. Das Modell der IL10-defizienten Maus .....	11
1.5. Vorarbeiten: Rückkreuzungs- und F2- Populationsstudien .....	13
1.6. <i>Cdcs1</i> .....	15
1.7. <i>Helicobacter hepaticus</i> .....	18
1.8. Ziele dieser Arbeit .....	22
<b>2. Material und Methoden:</b> .....	<b>23</b>
2.1. Material .....	23
2.2. Mausstämme.....	23
2.3. Extraktion von DNA.....	26
2.4. Polymerase-Kettenreaktion (PCR).....	27
2.5. Sequenzierungen und Sequenzanalysen.....	30
2.6. Histologie .....	30
2.7. Makrophagenstudien.....	32
2.8. Isolation und Anzucht von <i>Helicobacter hepaticus</i> .....	37
2.9. Infektionen mit <i>Helicobacter hepaticus</i> .....	37
2.10. Immunoblot.....	39
2.11. Gewinnung und Stimulation von Lymphknotenzellen .....	39
2.12. Mikrobiom Studie.....	40
2.13. Statistischen Auswertungen .....	46
<b>3. Ergebnisse:</b> .....	<b>51</b>
3.1. Genotypische Charakterisierung von <i>Cdcs1</i> .....	51
3.1.1. Darstellung der reziproken kongenen Mausstämme .....	51

3.1.2. Kongene <i>Il10<sup>-/-</sup></i> -Stämme mit B6 Hintergrund .....	51
3.1.3. Kongene <i>Il10<sup>-/-</sup></i> -Stämme mit C3Bir-Hintergrund .....	53
3.1.4. Feinkartierung der suszeptibilitätsvermittelnden Abschnitte .....	56
3.2. Phänotypische Charakterisierung von <i>Cdcs1</i> .....	62
3.2.1. Untersuchungen an Makrophagen .....	62
3.2.2. Infektionsstudien mit <i>H. hepaticus</i> .....	64
3.2.3. Histologische Untersuchungen .....	66
3.2.4. Einfluss des kongenen Elementes auf Rektumprolaps .....	74
3.2.5. Zytokinmessungen an Lymphozytenkulturen .....	75
3.2.6. Untersuchungen zur Bakteriengemeinschaft .....	79
3.2.7. Real-time PCR .....	89
<b>4. Diskussion .....</b>	<b>91</b>
4.1. Genetische Untersuchungen an kongenen Mäusen .....	91
4.2. Die Komplexität von <i>Cdcs1</i> .....	92
4.3. Weitere Studien zur Untersuchung von Kandidatengenen .....	93
4.4. Kandidatengene .....	94
4.5. Einfluss von <i>Cdcs1</i> auf Makrophagen .....	96
4.6. <i>H. hepaticus</i> — ein Hauptfaktor der <i>Cdcs1</i> -vermittelten Suszeptibilität? .....	97
4.7. Auswirkungen einer Kontaktinfektion mit <i>H. hepaticus</i> .....	99
4.8. Einfluss von <i>Cdcs1</i> auf die Entwicklung eines Rektumprolapses .....	100
4.9. Zytokinmessungen an Lymphknotenzellen - Einflüsse von <i>Cdcs1</i> .....	101
4.10. Auswirkungen auf die intestinale Mikrobiota .....	103
4.11. Quantifizierung von <i>H. hepaticus</i> .....	105
4.12. Übersicht zur Charakterisierung von <i>Cdcs1</i> .....	106
4.13. Ausblick .....	108
<b>5. Zusammenfassung .....</b>	<b>111</b>
<b>6. Summary .....</b>	<b>115</b>
<b>7. Anhang 1: Material und Methoden .....</b>	<b>117</b>
7.1. Laborgeräte .....	117
7.2. Zusammensetzung von Puffern, Lösungen und Medien .....	119
7.3. Kits .....	124

---

7.4. Primer- und Sondensequenzen.....	125
7.5. PCR-Protokolle.....	132
7.6. Temperaturprofile.....	135
7.7. Protokolle für Restriktionsansätze und Klenow Ansatz .....	138
7.8. Computerprogramme .....	139
7.9. World Wide Web Adressen .....	139
<b>8. Anhang 2: Ergebnisse.....</b>	<b>141</b>
8.1. Ergebnisse der Sequenzierung .....	141
8.2. Ergebnisse der Zytokinmessungen mittels Multiplex.....	142
<b>9. Referenzen .....</b>	<b>147</b>
<b>Erklärung.....</b>	<b>164</b>
<b>Danksagung.....</b>	<b>165</b>