

## **Ermitteln des therapeutischen Potentials von Genreparatur für die erblichen spastischen Spinalparalysen**

Dr. Christian Beetz, Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik,  
Universitätsklinikum Jena, 07745 Jena

### Erster Zwischenbericht nach sechsmonatiger Förderungsphase

Das ursprünglich beantragte Projekt war konzeptionell dreigeteilt. In einem ersten Teil sollten Parameter bzw. Paradigmen identifiziert werden, die in ausgewählten HSP-Mausmodellen das Fortschreiten der Erkrankung über einen möglichst großen Zeitraum und mit möglichst vielen Zwischenstufen abbilden können. Der zweite Teil betraf die Generierung neuer Mauslinien, in denen eine initiale Inaktivierung von HSP-Genen zu ausgewählten Zeitpunkten rückgängig gemacht werden kann (=Genreparatur). In einem dritten Teil sollte auf Basis der Teile 1+2 dann das therapeutische Potential von Genreparatur im Mausmodell ermittelt werden.

Die Halbierung der avisierten Fördersumme (zwei gleichwertige Preisträger für die Advanced Scholarship 2017 der TWS) machte die Entwicklung von Alternativstrategien zur Erreichung der Projektziele notwendig. Ein Großteil der fehlenden Mittel wurde letztlich mit der Aufgabe der Pläne bezüglich Erwerbs eines DigiGait-Systems (gedacht zur standardisierten und objektivierten Erfassung von Ganganomalien in den Mäusen; relevant für Projektteile 1 und 3) kompensiert.

Im bisherigen Projektverlauf wurde die Phänotypisierung des *Reep2* knockouts weiter vorangetrieben und den entsprechenden Befunden am *Reep1* knockout gegenübergestellt. Demnach handelt es sich bei beiden Linien um klinisch und pathologisch valide HSP-Modelle: ein adult einsetzender, progredienter Gang-Phänotyp ist auf die Hinterextremitäten beschränkt und mit einer Degeneration cortico-spinaler Axone assoziiert. Darüber hinaus liegen mittlerweile erste Langzeitbeobachtungen an *Reep1/Reep2* Doppelknockout Tieren vor. Die erhoffte „Dosisabhängigkeit“ des Krankheitsbildes konnte hier eindrucksvoll nachgewiesen werden: Tiere mit vier inaktivierten Allelen erkrankten sehr früh und schwer, während Tiere mit nur drei oder zwei inaktivierten Allelen sukzessiv weniger Beeinträchtigungen zeigen. Diese Beobachtungen an Tieren aus einem Pilotversuch konnten allerdings noch nicht weiter bzw. ausführlicher verfolgt werden. Grund für die Verzögerung war die offensichtliche Nichtbearbeitung des zugehörigen Tierversuchsantrages (TVA) durch die zuständige Behörde. Diese unzufrieden stellende Situation, die den gesamten Standort Jena betraf, war in einem Fehlverhalten einiger Wissenschaftler vom hiesigen Fritz-Lipmann-Institut für Altersforschung begründet. Mittlerweile wurde die Antragsbearbeitung aber wieder aufgenommen und eine erste Rückmeldung zu unserem TVA liegt vor. Wir rechnen für Januar 2018 mit einem positiven Bescheid; neue Doppelknockout Tiere für die Bearbeitung von Punkt 1 würden dann zeitnah gezüchtet werden.

Bezüglich Gen-Reparatur (Punkt 2) wurde dem ursprünglichen Ansatz (*recombination-based cassette exchange*) ein zweiter zur Seite gestellt. Die hier gewählte Strategie soll sich der initialen Inaktivierung mittels einer genetrapped-Kassette bedienen. Diese soll induzierbar entfernt werden können, und somit eine Re-Aktivierung des Gens ermöglichen. Für beide Ansätze sind die vergleichsweise komplexen Klonierungsstrategien entworfen und alle notwendigen Oligonukleotide synthetisiert. Die zugehörigen Arbeiten werden im Januar 2018 begonnen werden, da ab dann die dafür vorgesehene technische Assistenz zur Verfügung steht.

Wir danken der Tom-Wahlig-Stiftung für die großzügige Unterstützung unseres Projekts!