

6. Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit sollte eine möglichst genaue Kartierung des murinen Cyclin A1-codierenden Genes (*Ccna1*), welches zu den zellzyklusregulierenden Genen zählt, erfolgen.

DÖRRIE lokalisierte dieses Gen mittels einer cytogenetischen Kartierung, der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung, auf Chromosom 9, Bereich A3-5. Diese Lokalisation sollte durch eine Kopplungsanalyse verifiziert und außerdem genauer in bezug auf weitere gekoppelte Marker definiert werden.

Zu diesem Zweck wurde eine Rückkreuzungspopulation aus den Ausgangszuchtstämmen CBA und C57BL/6 angesetzt und untersucht. Geplant war eine Durchmusterung des Chromosomes 9 im Bereich A3-5. Sollte sich die ungefähre Positionsbestimmung nicht bestätigen, sollte das „genome wide scan“-Verfahren durchgeführt werden.

Voraussetzung für die Kopplungsanalyse ist eine ausreichende Anzahl möglichst dicht gelegener Marker mit bekannter Lokalisation, die einen Polymorphismus zwischen den Ausgangszuchtstämmen CBA und C57BL/6 aufweisen. Da nicht auf jedem Chromosom bzw. in jedem Bereich ausreichend polymorphe Marker zur Verfügung standen, mußten die Chromosomen teilweise in größeren als geplanten Abständen untersucht werden.

Die Kopplungsanalyse wurde mit 31 bzw 190 N2-Tieren durchgeführt. Geeignete Marker wurden ausgewählt und auf Polymorphismen getestet. Die Amplifikation der betreffenden DNA-Segmente erfolgte mittels der Polymerase-Ketten-Reaktion, ihre anschließende Auftrennung mit Nusieve®- oder Metaphor®-Agarosegelen. Die Genotypisierungsdaten wurden mit dem Computerprogramm MapManager ausgewertet.

Die ursprünglich angenommene Lokalisation des Cyclin A1-Genes (*Ccna1*) auf Chromosom 9 konnte nicht bestätigt werden. Die hier ermittelten Daten schlossen diese chromosomale Position definitiv aus. Daher wurden die übrigen Chromosomen durchgemustert. Schon bei Chromosom 3 wiesen die vorläufigen Berechnungen auf eine Kopplung hin. Die anschließende Untersuchung mit neun polymorphen Markern und eine Auswertung mit dem MapManager-Programm zeigten eine eindeutige Kopplung an. Das Cyclin A1-Gen (*Ccna1*) konnte zwischen den Markern *D3Mit9* und *D3Mit5* und somit in enger Nachbarschaft zum Cyclin A2-Gen positioniert werden.

Die genaue Lokalisation des Cyclin A1-Genes der Maus ist in erster Linie für weitere Untersuchungen der Zellzyklusregulation, für die die Maus ein geeignetes Tiermodell darstellt, von Interesse. Grundsätzlich ist aber ein komplexes Wissen über das Genom von Versuchstieren vonnöten, um aussagekräftige und reproduzierbare Ergebnisse zu erzielen und die Menge der in Vorversuchen benötigten Marker reduzieren zu können.

Petra Seeger: Genetic Mapping of a germcell-specific gene from the mouse

7. Summary

It was the aim of this thesis to determine the chromosome localisation of the Cyclin A1-coding gene (*Ccn A1*), which belongs to a group of cell cycle-regulating genes. DÖRRIE has mapped this gene on chromosome 9 in region A3-5, by fluorescence in-situ-hybridization, a cytogenetic mapping technique. This mapping was to be verified. Furthermore it aimed at precisely localisation *CcnA1* with respect to other linked markers.

Offsprings from backcrosses of the two parental mouse strains CBA and C57BL/6 were investigated. If the approximate position of the gene locus in the region A3-5 could not be determined the genome wide scanning method was to be employed

Precondition for the linkage-analysis is a sufficient number of closely linked markers with known positions and which show polymorphism between the two mouse strains CBA and C57BL/6.

Because of the lack of sufficient polymorphic markers on individual chromosomes or regions, respectively, the distances investigated on the chromosomes differed in some cases.

The linkage analysis was performed on 31 or 190 backcross animals (N2). Appropriate markers were chosen and checked for polymorphism. Amplification of the respective DNA-fraction was done by polymerase-chain-reaction with subsequent separation on Nusieve® or Metaphor® agarose gels. The data for genotyping were evaluated by means of the computer program MapManager.

The originally postulated position of the Cyclin A1 gene on chromosome 9 could not be confirmed. The presented data definitely ruled out this position on the linkage map. Therefore, the remaining chromosomes were analysed in ascending order. Preliminary data suspected a coupling on chromosome 3. Investigations with a further 9 polymorphic markers and subsequent evaluation by means of the MapManager program showed a definite linkage on chromosome 3. The Cyclin A1 gene (*Ccna1*) was mapped between the markers *D3Mit9* and *D3Mit5* and is, therefore, closely linked to the Cyclin A2 gene (*Ccna2*).

The precise position of the Cyclin A1 gen on the mouse map is of great interest in order to further investigate mechanisms of the cell cycle regulation. In general, a more complex knowledge of the genome of laboratory animals is necessary in order to achieve reliable and reproducible results and to decrease the use of the number of markers.