

set



Stiftung zur Förderung
der Erforschung von
Ersatz- und
Ergänzungsmethoden
zur Einschränkung von
Tierversuchen

Stiftung zur Förderung der Erforschung von Ersatz- und Ergänzungsmethoden zur Einschränkung von Tierversuchen

Mainzer Landstraße 55, 60329 Frankfurt am Main
www.stiftung-set.de

Projektbeispiel

Etablierung von *In-vitro*-Modellen zur Neuroprotektion mit molekularem Bezug zu menschlichen neurodegenerativen Erkrankungen

Prof. Dr. André Schrattenholz, ProteoSys AG, Mainz

März 2006 - Februar 2007

The logo for 'set' consists of the lowercase letters 'set' in a bold, sans-serif font. Below the letters are two vertical columns of horizontal bars. The left column has 10 blue bars, and the right column has 10 pink bars. The bars in each column are of varying lengths, creating a stepped effect.

Stiftung zur Förderung
der Erforschung von
Ersatz- und
Ergänzungsmethoden
zur Einschränkung von
Tierversuchen

Etablierung von In-vitro-Modellen zur Neuroprotektion mit molekularem Bezug zu menschlichen neurodegenerativen Erkrankungen

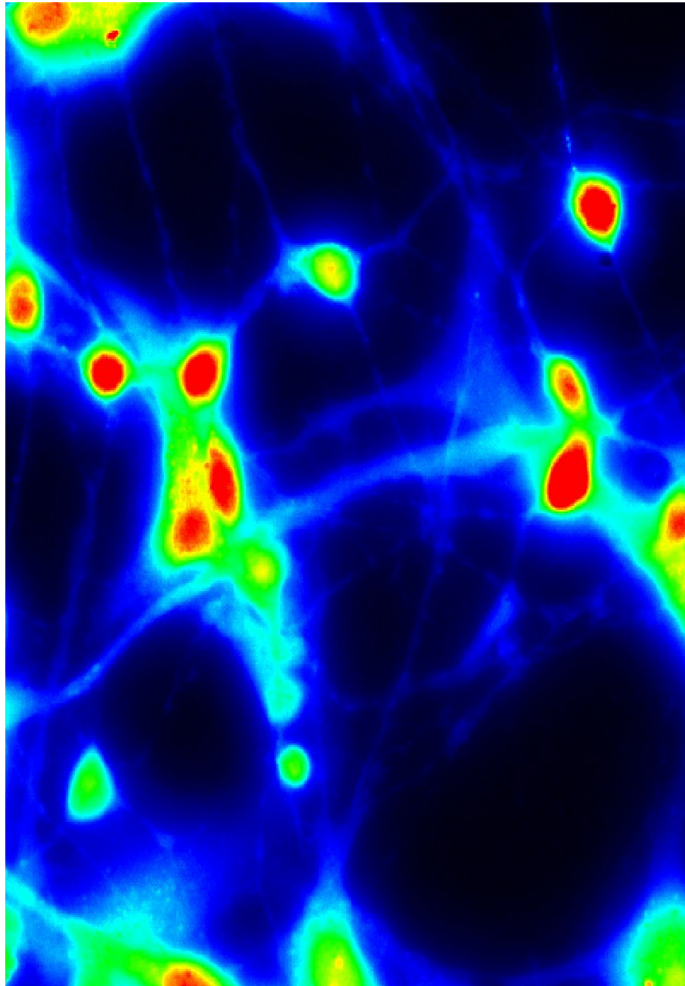
Zum Zweck der Etablierung von In-vitro-Modellen zur Neuroprotektion vor dem Hintergrund menschlicher neurodegenerativer Erkrankungen sollen neurale Abkömmlinge humaner und muriner embryonaler Stammzellen (hESC and mESC) als mögliche Ersatzmodelle für die entsprechenden Tiermodelle für Schlaganfall, Alzheimer, multiple Sklerose und ALS untersucht werden.

Das Ziel des Projektes ist die Charakterisierung von Endpunkten in mESC- und hESC-Modellen für die Quantifizierung neuroprotektiver Effekte pharmakologischer Wirkstoffe. Die bisherigen Vorarbeiten an diesen Modellen wurden mit der Absicht durchgeführt, molekulare und funktionelle Beschreibungen neurotoxischer Bedingungen zu erstellen (Protein-Biomarker-Signaturen für neuronalen Stress). Auf der Basis der etablierten Protokolle für die neurale Differenzierung in beiden Systemen ist die Untersuchung verschiedener Stadien der neuronalen Reifung im Hinblick auf Neurotransmitter, bekannte Marker-Proteine und pharmakologische Eigenschaften sowie die daran anschließende Definition geeigneter Endpunkte in beiden Spezies geplant. Funktionelle Endpunkte dieses Typs würden dann mit Hilfe moderner Proteomics-Technologien nach geeigneten Surrogatmarker differentiell profiliert. Die Vorarbeiten unserer Gruppe haben gezeigt, dass dieser Ansatz in sehr treffender Weise molekulare Ereignisse abbilden kann, die bei der Pathophysiologie bestimmter humaner Erkrankungen des Zentralnervensystems eine Rolle spielen. Auch Wirkstoff-Effekte können so adäquat quantifiziert werden [1, 2, 3]. Dabei wird neuronaler Stress durch drei Konditionen erzeugt, welche direkt humane Pathomechanismen ansprechen, nämlich Ischämie, Erregungstoxizität und β -Amyloid-vermittelte Neurotoxizität. Bisher bei murinen ESC und bei anderen Modellen beschriebene funktionelle und molekulare Vorgänge [4, 5, 6] ermutigen uns, diese Studien auf humane ESC-Modelle auszudehnen. Das letztendliche Ziel ist die Entwicklung eines humanen In-vitro-Systems, das kritische Aspekte humaner neurodegenerativer Erkrankungen abbildet und so zum Ersatz entsprechender Tiermodelle führt (MCAO-Modelle für Schlaganfall, transgene Maus-Modelle für Alzheimer und ALS, die sehr belastenden Modelle für multiple Sklerose (MOG-EAE)) [7]. Erste Resultate des Projekts sind zur Publikation akzeptiert und werden Anfang 2007 erschienen [8].

set



Stiftung zur Förderung
der Erforschung von
Ersatz- und
Ergänzungsmethoden
zur Einschränkung von
Tierversuchen

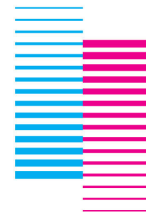


Fluoreszenzmessungen an Neuronen aus humanen Stammzellen als Ersatzmodell für Wirksamkeitsstudien: Der Einstrom von Calcium-Ionen (gelb-rot dargestellt) in die Zellen wird durch neuronalen Stress erzeugt. Dieser Calcium-Zustrom steht zu Schlaganfall in mechanistischer Beziehung, daher eignet sich diese Methode zum Wirkstoff-Screening.

Literaturangaben

- [1] Sommer S, Hunzinger C, Schillo S, Klemm M, Biefang-Arndt K, Schwall G, Pütter S, Hoelzer K, Schroer K, Stegmann W, Schrattenholz A (2004) Molecular analysis of homocysteic acid-induced neuronal stress. *Journal of Proteome Research* 3(3), 572-581
- [2] Schrattenholz A, Wozny W, Klemm M, Schroer K, Stegmann W, Cahill MA (2005) Differential and Quantitative Molecular Analysis of Ischemia: Complexity reduction by isotopic labeling of proteins using a neural embryonic stem cell model; *J. Neurological Sciences*, 229-230 (1), 261-267
- [3] Schrattenholz A and Šoškić V (2006) NMDA receptors are not alone: Dynamic regulation of NMDA receptor structure and function by neuregulins and transient cholesterol-rich membrane domains leads to disease-specific nuances of glutamate-signalling *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 6(7), 663-686.
- [4] Falsig J, Pörzgen P, Lund S, Schrattenholz A, Leist M (2006) The inflammatory transcriptome of reactive murine astrocytes and implications for their immune functions. *J. Neurochem.* 96(3), 893-907.

set



**Stiftung zur Förderung
der Erforschung von
Ersatz- und
Ergänzungsmethoden
zur Einschränkung von
Tierversuchen**

[5] Lund S, Christensen KV, Hedtjörn M, Mortensen AL, Hagberg H, Falsig J, Hasseldam H, Schrattenholz A, Pörzgen P and Leist M (2006) The dynamics of the LPS triggered inflammatory response of murine microglia under different culture and *in vivo* conditions. *J Neuroimmunol.* 2006 Sep 19; [Epub ahead of print]

[6] Schillo S, Pejović V, Hunzinger C, Hansen T, Poznanović S, Kriegsmann J, Schmidt WJ and Schrattenholz A (2005) Integrative Proteomics: functional and molecular characterization of a particular glutamate-related neuregulin isoform. *Journal of Proteome Research* 4 (3), 900-908.

[7] Schrattenholz A, Klemm M (2006) How Human Embryonic Stem Cell Research Can Impact In Vitro Drug Screening Technologies of the Future; in: *Drug testing in vitro: Achievements and trends in cell culture techniques* (Marx U, Sandig V, eds.) Wiley-VCH, Weinheim, 205-228.

[8] Schrattenholz A, Klemm M (2007) Neuronal Cell Culture from Human Embryonic Stem Cells as *in vitro* Model for Neuroprotection. *ALTEX* in print.

Stand Dezember 2006