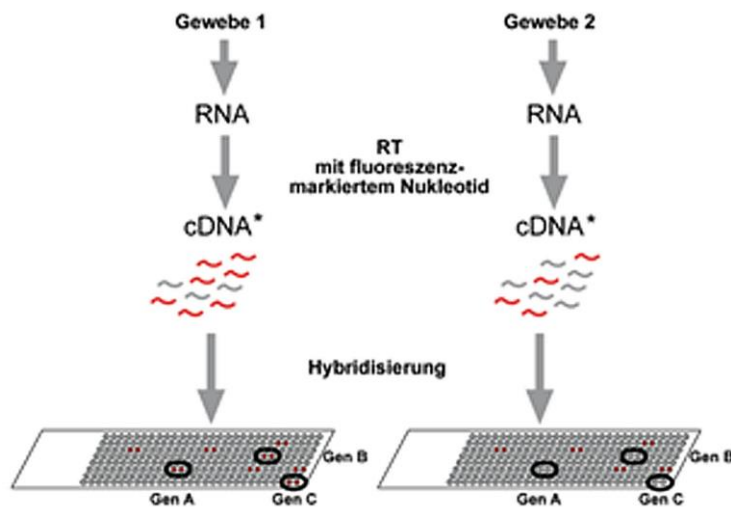


## Literature References

Eine Auswahl an Analysen dermatologischer Fragestellungen, die an Hautmodellen mittels Expressionsprofiling analysiert wurden:

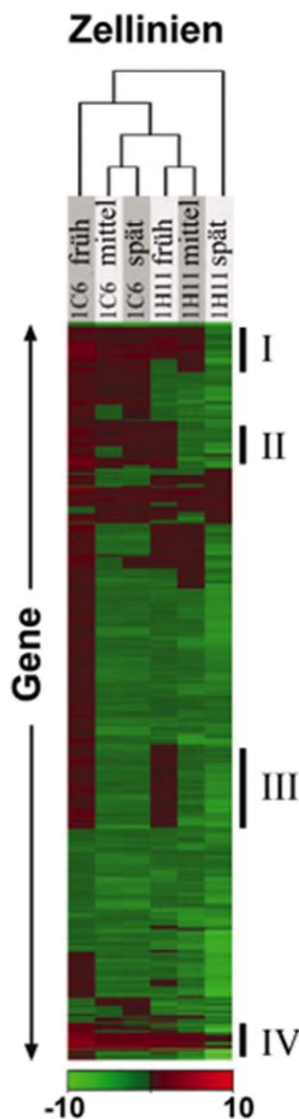
| <b>Topic</b>                                       | <b>Cells examined</b>            | <b>Literature</b> |
|--|----------------------------------|-------------------|
| <b>Thematischer Schwerpunkt</b>                    | <b>Untersuchtes Zellmaterial</b> | <b>Literatur</b>  |
| Genregulationen bei Hautirritation                 | Epidermismodell                  | [2]               |
| Genregulationen bei Hautirritation                 | Epidermismodell                  | [3]               |
| Enzymaktivitäten Schadstoffmetabolismus            | Dermismodell                     | [4]               |
| Expressionsprofil Schadstoffmetabolisierender Gene | Epidermismodell                  | [5]               |

1.  
consortium, H.g.s.,  
Finishing the euchromatic sequence of the human genome.  
Nature, 2004. 431(7011): p. 931-45.
2.  
Fletcher, S.T., et al.,  
Gene expression analysis of EpiDerm following exposure to SLS using cDNA microarrays.  
Toxicol In Vitro, 2001. 15(4-5): p. 393-8.
- 3  
Borlon, C., et al.,  
The usefulness of toxicogenomics for predicting acute skin irritation on in vitro reconstructed human epidermis.  
Toxicology, 2007. 241(3): p. 157-66.
4.  
Jackh, C., et al.,  
Characterization of enzyme activities of Cytochrome P450 enzymes, Flavin-dependent monooxygenases, N-acetyltransferases and UDP-glucuronyltransferases in human reconstructed epidermis and full-thickness skin models.  
Toxicol In Vitro, 2011. 25(6): p. 1209-14.
5.  
Hu, T., et al., Xenobiotic metabolism gene expression in the EpiDermin vitro 3D human epidermis model compared to human skin. Toxicol In Vitro, 2010. 24(5): p. 1450-63.



\* vereinfachte Darstellung. Im Falle der Affmetrix-Technologie wird doppelsträngige cRNA erzeugt und zur Hybridisierung eingesetzt.

Das vereinfachte Grundprinzips der Chiphybridisierung ist, dass zwei zu vergleichende RNA-Proben durch eine Reverse-Transkriptase (RT) Reaktion in cDNA übersetzt und dabei durch den Einbau von fluoreszenten Farbmolekülen markiert werden. Bei der Hybridisierung binden die cDNA-Moleküle basierend auf dem Prinzip der komplementären Basenpaarung an den Spot, in dem das Gen komplementärer DNA-Sequenz gespottet ist. Je mehr von einer bestimmten RNA in einer Probe vorhanden ist (rot), desto stärker ist das Hybridisierungssignal wie bei Gen A, B und C, s. Abb. 2.



Die rote Färbung der Spots zeigt, dass hier Gen C in der Probe 1 im Vergleich zu Probe 2 herunter reguliert ist. Analysiert man die Expression von Tausenden von Genen, hilft spezielle Software mit komplexen Algorithmen die großen Datenmengen auszuwerten. Sehr beliebt bei der Analyse- und Darstellungsmethode von Arrayexperimenten ist es, Chipdaten zu clustern. Dabei werden die Gene entsprechend ihrer Regulation sortiert und farblich markiert. Hochregulierte Gene sind in dem Beispiel in Abbildung 3 grün markiert und herunter regulierte Gene rot. Die Farbintensität zeigt, wie stark der Regulationsunterschied ist. In folgendem Beispielcluster ist die Genexpressionsanalyse von Zelllinien dargestellt. Die Zellen wurden aus einem Tumor isoliert und für unterschiedliche Passagenzahlen kultiviert. Hier sollte analysiert werden, wie sich das Genexpressionsprofil kulturbedingt verändert. Dargestellt wurden die Expressionsunterschiede der Zelllinien im Vergleich zum Muttertumor, aus dem die Zelllinien etabliert wurden, dargestellt. Die Gene wurden dabei über die analysierten Zelllinien sortiert. D.h. Gene, die in den Einzelexperimenten ähnliche Regulationen zeigen, werden geclustert, also zusammengruppiert (Abb. 3: Cluster I – IV). Entsprechend wird der Verwandtschaftsgrad der Zelllinien in einem Dendrogramm, über den Genen dargestellt. Je weniger gemeinsam regulierte Gene die Zelllinien aufweisen, desto weiter entfernt sind sie zueinander angeordnet. Daran wird deutlich, dass sich mit zunehmender Anzahl der Zellkulturpassagen die Zelllinien voneinander im Sinne eines veränderten Genexpressionsmusters entfernen. Cluster III ist in den frühen Passagen aufreguliert (rot), während die Gene in den späteren Passagen herunter reguliert sind (grün).

Beim hierarchischen Clustern werden die Unterschiede in der Expression von 587 Genen zwischen Zelllinien (IC6, IH11) nach unterschiedlichen Passagenzahlen (früh, mittel, spät) und dem Primärtumor in einem Cluster dargestellt. Auf der X-Achse sind die Zelllinien aufgetragen, auf der Y-Achse die Gene. Jeder Strich in den Spalten markiert die Regulation für ein Gen. Die Intensitätsskala stellt den Faktor der Regulation der Zelllinien im Vergleich zum Primärtumor von 10-fach herunter reguliert (grün) bis 10-fach induziert (rot) dar. Die Balken markieren Beispiele auffälliger Cluster (I – IV).