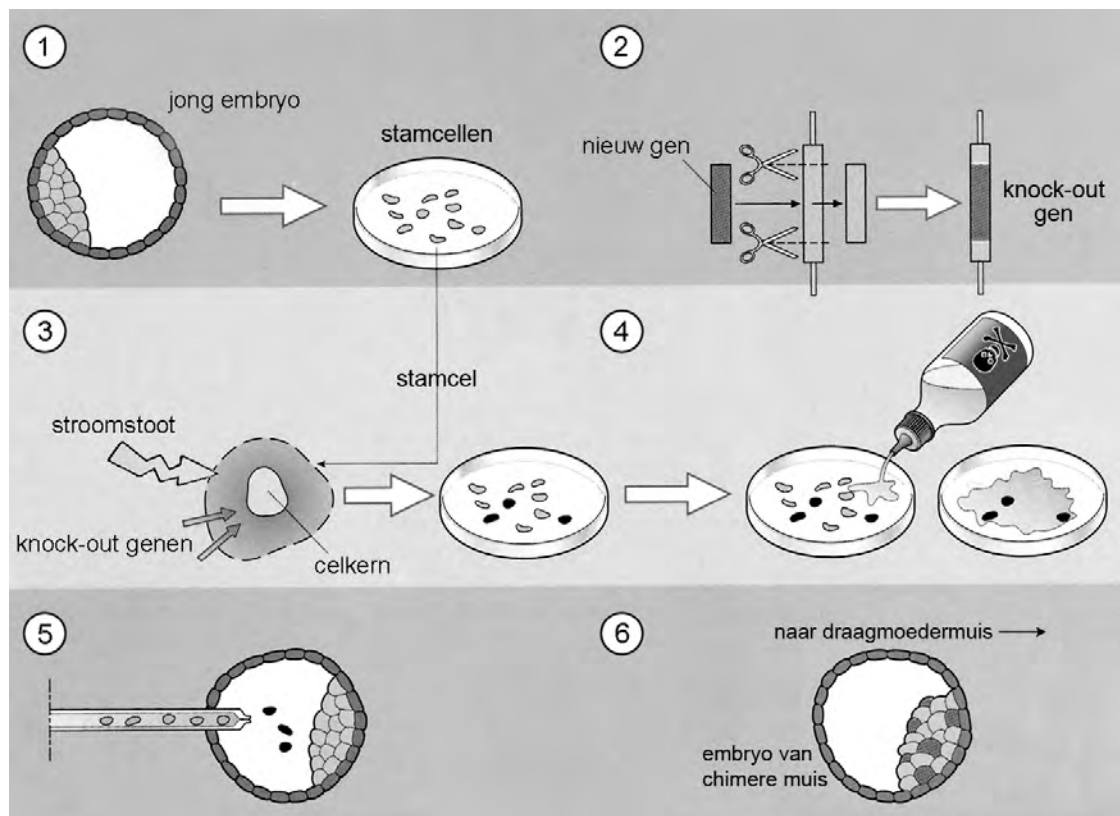


Kankeronderzoek met de knock-out muis

Bij het onderzoek naar de genetische basis van ziekten, zoals allerlei vormen van kanker, wordt gebruik gemaakt van knock-out muizen. Dat zijn muizen waarin een bepaald gen, het knock-out gen, geheel uitgeschakeld is. Daardoor kan de functie van dat gen onderzocht worden.

In de afbeelding is weergegeven hoe in 6 stappen 'chimere' muizen worden verkregen. Dat zijn muizen die gedeeltelijk bestaan uit cellen met het knock-out gen en gedeeltelijk uit cellen met het intacte gen.



- 1 Uit een zeer jong embryo halen we embryonale stamcellen. Deze zijn nog niet gedifferentieerd en kunnen uitgroeien tot een volwaardige muis.
- 2 We nemen een gen waarvan we de functie willen weten. Dit gen schakelen we uit (knock-out gen) door er een stuk tussenuit te knippen. Op de vrijgekomen plaats bouwen we een nieuw gen in, dat de cel resistent maakt tegen een bepaald antibioticum.
- 3 Het knock-out gen brengen we in embryonale stamcellen door de cellen met een stroomstoot tijdelijk van poriën te voorzien. Bij een klein deel van de cellen wordt het oorspronkelijke gen vervangen door het knock-out gen.
- 4 We vergiften de stamcellen met een speciaal antibioticum. Alleen de cellen die het knock-out gen ten minste eenmaal hebben ingebouwd, zijn resistent tegen dit antibioticum en overleven de behandeling.
- 5 We injecteren de overlevende cellen met het knock-out gen in een muizenembryo.
- 6 Een deel van de cellen van het embryo bevat nu het knock-out gen. We plaatsen het embryo in een draagmoedermuis. Een paar weken later worden chimere muizen geboren, met het knock-out gen in slechts een deel van hun cellen.

In het voorbeeld zijn de transgene stamcellen te herkennen aan hun resistentie tegen een speciaal antibioticum. Een andere methode die wel eens gebruikt wordt om transgene cellen herkenbaar te maken is het (bij stap 2) inbouwen van een groen fluorescentiegen van een lichtgevende kwal.

Bij deze methode zal stap 4 (het selecteren van cellen met ten minste één knock-out allel) er anders uitzien, en dat heeft zijn voor- en nadelen.

- 2p **25** Leg uit wat bij het gebruik van fluorescentie beschouwd kan worden als een nadeel ten opzichte van het gebruik van antibiotica bij stap 4.

Het knock-out gen is sterk gekoppeld aan het gen voor vachtkleur. Daardoor zijn in dit experiment de chimere jonge muizen herkenbaar aan hun vacht.

Het jonge embryo dat de stamcellen levert is homozygoot voor het gen dat codeert voor een beige (lichte) vachtkleur. De transgene stamcellen zijn ingebracht in embryo's die homozygoot zijn voor het gen dat codeert voor een agouti (donkere) vachtkleur. De draagmoedermuis is homozygoot voor het gen dat een witte vacht veroorzaakt. Het allel voor een witte vacht is recessief ten opzichte van de allelen die coderen voor de kleuren beige en agouti.

- 2p **26** Welke vachtkleur hebben de chimere muizen met een aanzienlijk percentage transgene cellen?

- A agouti
- B beige
- C wit
- D een mozaiekpatroon van agouti met beige
- E een mozaiekpatroon van agouti met wit
- F een mozaiekpatroon van beige met wit

Om homozygoot transgene muizen te verkrijgen worden de chimere muizen (stap 6 in de afbeelding) gekruist met witte muizen. De beigegekleurde nakomelingen worden vervolgens onderling gekruist.

- 2p **27** Welk deel van hun nakomelingen is naar verwachting homozygoot voor het knock-out gen?

- A 0%
- B 25%
- C 50%
- D een onbekend percentage

Knock-out muizen kunnen een bijdrage leveren aan het onderzoek naar de oorzaak en behandeling van bepaalde vormen van kanker bij de mens. Bij het al of niet krijgen van kanker spelen twee typen genen een belangrijke rol: tumorsuppressorgenen en (proto-)oncogenen. Deze twee typen genen spelen een belangrijke rol bij de regulatie van de celcyclus. Tumorsuppressorgenen kunnen het ontstaan en de ontwikkeling van kanker tegengaan, (proto-)oncogenen kunnen dit juist doen toenemen.

- 2p **28** Zijn muizen waarbij een tumorsuppressorgen is uitgeschakeld (groep 1) geschikt voor een dergelijk onderzoek? En muizen waarbij een (proto-)oncogen is uitgeschakeld (groep 2)?
- A** alleen groep 1 is geschikt
 - B** alleen groep 2 is geschikt
 - C** beide groepen zijn geschikt

De resultaten van experimenten met knock-out muizen kunnen alleen onder bepaalde voorwaarden leiden tot behandelingen tegen kanker voor de mens.

- 2p **29** Noem twee belangrijke voorwaarden.