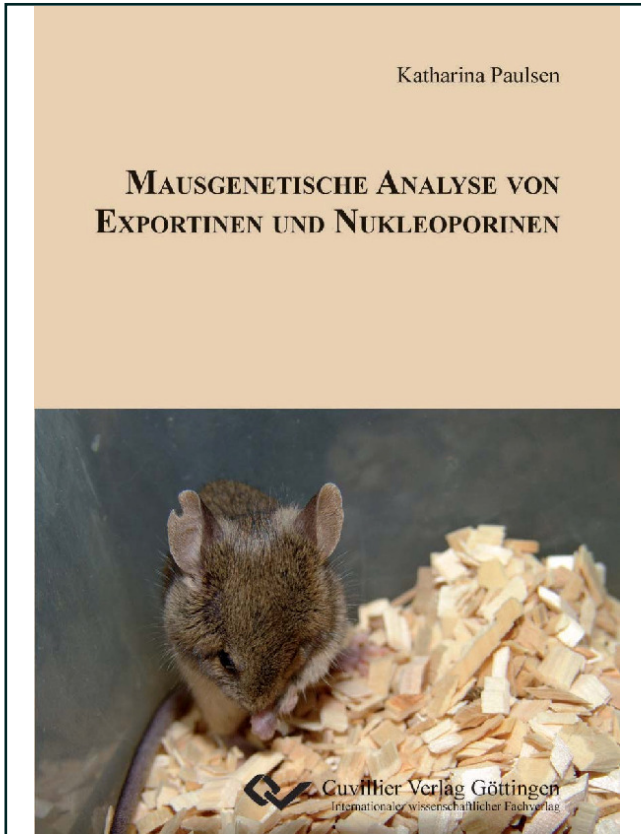




Katharina Paulsen (Autor)  
**Mausgenetische Analyse von Exportinen und Nukleoporinen**



<https://cuvillier.de/de/shop/publications/540>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen,  
Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: [info@cuvillier.de](mailto:info@cuvillier.de), Website: <https://cuvillier.de>

# Inhaltsverzeichnis

|   |           |
|---|-----------|
| <i>Zusammenfassung</i>  | 3         |
| <b>1. Einleitung</b>  | <b>4</b>  |
| 1.1 <i>Nukleärer Transport</i>  | 5         |
| 1.1.1 Nukleäre Exportrezeptoren   | 8         |
| 1.1.2 Funktionen des nukleären Exportes                                     | 9         |
| 1.2.3 Der nukleäre Exportrezeptor Exportin 6                                | 10        |
| 1.2.4 Der nukleäre Exportrezeptor Exportin 7                                | 11        |
| 1.2 <i>Die vertebrale Kernpore</i>  | 12        |
| 1.2.1 Biogenese der Kernpore  | 14        |
| 1.2.2 Membran-integrierte Nukleoporine                                      | 15        |
| <b>2. Material und Methoden</b>   | <b>18</b> |
| 2.1 <i>Material</i>   | 18        |
| 2.1.1 Chemikalien und Reagenzien  | 18        |
| 2.1.2 Lösungen und Puffer   | 18        |
| 2.1.3 Instrumente   | 21        |
| 2.1.4 Zellkulturmedien und -reagenzien                                      | 21        |
| 2.1.5 Lösungen zur Herstellung transgener Mauslinien sowie für Tierversuche | 22        |
| 2.1.6 Kits  | 23        |
| 2.1.7 Enzyme  | 23        |
| 2.1.8 Antikörper  | 24        |
| 2.1.9 Plasmide  | 25        |
| 2.1.10 RNAi-Oligosequenzen  | 27        |
| 2.1.11 Primer zur Genotypisierung der Mauslinien                            | 28        |
| 2.1.12 <i>E. coli</i> -Stämme   | 29        |
| 2.1.13 Säugerzelllinien   | 30        |
| 2.1.14 Mauslinien   | 31        |
| 2.2 <i>Molekularbiologische Methoden</i>                                    | 32        |
| 2.2.1 Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)                                      | 32        |
| 2.2.2 Mutagenese-PCR  | 33        |
| 2.2.3 Herstellung von Maus-KO-Targetvektoren/ <i>Recombineering</i>         | 34        |
| 2.2.4 Southern Blot   | 34        |
| 2.3 <i>Proteinbiochemische Methoden</i>                                     | 35        |
| 2.3.1 Lyse und Aufbereitung von Zellen und Gewebe                           | 35        |
| 2.3.2 SDS-Protein-Elektrophorese  | 36        |
| 2.3.3 Western Blot  | 36        |
| 2.3.4 Anreicherung nukleärer Transportrezeptoren                            | 37        |
| 2.3.5 Immunfluoreszenz  | 37        |
| 2.3.6 Immunhistologie   | 38        |
| 2.3.7 Pathohistologische Begutachtung von Geweben                           | 38        |
| 2.3.8 Genetische und Histologische Analyse von Mausembryonen                | 39        |
| 2.3.9 <i>in vitro</i> -Translation  | 39        |
| 2.3.10 Bindungsversuche   | 39        |
| 2.3.11 RNA-Isolation und Reverse Transkriptase-PCR                          | 40        |
| 2.4 <i>Methoden der Zellkultur</i>  | 40        |
| 2.4.1 Kultivierung von Säugerzelllinien                                     | 40        |
| 2.4.2 Kryokonservierung von Säugerzelllinien                                | 41        |
| 2.4.3 Lipophile Transfektion von Säugerzelllinien                           | 41        |
| 2.4.4 Herstellung stabiler Säugerzelllinien                                 | 41        |
| 2.4.5 Isolation von Fibroblasten aus Mausembryonen                          | 41        |

|  |           |
|--|-----------|
| 2.5 <i>Experimente mit Versuchstieren</i>  | 42        |
| 2.5.1 Versuchstierhaltung  | 42        |
| 2.5.2 Herstellung transgener Mauslinien  | 42        |
| 2.5.3 Blutuntersuchung   | 43        |
| <b>3. Ergebnisse I - Untersuchung der Funktionen der nukleären Exportrezeptoren Exp7 und Exp6</b>                            | <b>44</b> |
| 3.1 <i>Funktion von Exportin 7 in humanen Zellen</i>   | 44        |
| 3.1.1 Bindung von $\alpha$ -Tubulin an Exp7  | 45        |
| 3.1.2 siRNA vermittelter Knockdown von Exp7  | 45        |
| 3.1.3 miRNA vermittelter Knockdown von Exp7  | 47        |
| 3.1.4 Nukleäres Trapping von Exp7  | 49        |
| 3.2 <i>Mausgenetische Untersuchung der Funktion von Exportin 7</i>   | 52        |
| 3.2.1 Herstellung transgener Mäuse mit konditionellem Exp7-KO-Genotyp  | 53        |
| 3.2.2 Simulation der Exp7-KO-Strategie <i>in vitro</i>   | 57        |
| 3.2.3 Exp7 <sup><math>\Delta</math>1-6</sup> in Maus   | 59        |
| 3.2.4 Zelluläre Lokalisation von $\alpha$ -Tubulin in Exp7 <sup><math>\Delta</math>1-6/<math>\Delta</math>1-6</sup> -Geweben | 60        |
| 3.2.5 Expression von Exp7 in Exp7 <sup><math>\Delta</math>1-6/<math>\Delta</math>1-6</sup>                                   | 62        |
| 3.2.6 Identifikation von Exp7-Blut   | 63        |
| 3.3 <i>Mausgenetische Untersuchung der Funktion von Exp6</i>   | 64        |
| <b>4. Ergebnisse II- Mausgenetische Analyse membran-integrierter Nukleoporine</b>  | <b>65</b> |
| 4.1 <i>Knockout von Mm gp210 und Mm gp210L</i>   | 65        |
| 4.2 <i>Knockout von Mm POM121</i>  | 69        |
| <b>5. Diskussion</b>   | <b>71</b> |
| 5.1.1 Phänotypfreie Deletion von Exp7 in Geweben der Maus  | 73        |
| 5.1.2 Entwicklungsspezifische Expression von Exp7B in Blut?  | 75        |
| 5.1.3 Mögliche Funktionen von Exp7B in Erythrozyten  | 76        |
| 5.2 <i>Welche membran-integrierten Nukleoporine sind in vivo essenziell?</i>   | 78        |
| 5.2.1 gp210 und/oder gp210L?   | 78        |
| 5.2.2 Braucht die Maus POM121 in ihrer Kernpore?   | 80        |
| 5.3 <i>Ausblick</i>  | 81        |
| <b>6. Literatur</b>  | <b>82</b> |
| <b>7. Anhang</b>   | <b>97</b> |
| 7.1 <i>Exp7B_mRNA</i>  | 97        |
| 7.2 <i>Abkürzungen</i>   | 98        |
| <i>Curriculum Vitae</i>  | 99        |