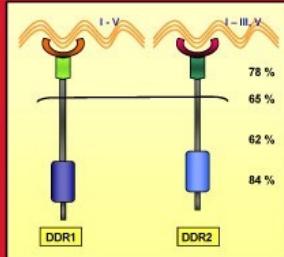




Jeannine Mißbach-Güntner (Autor)

Neue Funktionen von Discoidin-Domain-Rezeptoren in der Tumorprogression und in der Organentwicklung bei Mäusen

Jeannine Mißbach-Güntner



**Neue Funktionen von
Discoidin-Domain-Rezeptoren
in der Tumorprogression und in der
Organentwicklung bei Mäusen**

 Cuvillier Verlag Göttingen

<https://cuvillier.de/de/shop/publications/1658>

Copyright:

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

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

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	1
1.1	REZEPTORTYROSINKINASEN	1
1.2	DISCOIDIN-DOMAIN-REZEPTOREN - EINE SUBKLASSE DER REZEPTORTYROSINKINASEN	3
1.3	DAS FUNKTIONELLE SPEKTRUM VON DISCOIDIN-DOMAIN-REZEPTOREN	6
1.4	DAS PATHOGENE POTENTIAL VON DISCOIDIN-DOMAIN-REZEPTOREN	8
1.5	DAS ONKOLOGISCHE TIERMODELL	11
1.6	ZIEL DER VORLIEGENDEN ARBEIT.....	12
2	MATERIAL UND METHODEN	13
2.1	MATERIAL	13
2.1.1	GERÄTE	13
2.1.2	VERBRAUCHSMATERIALIEN.....	14
2.1.3	CHEMIKALIEN.....	14
2.1.4	KITS	16
2.1.5	OLIGONUKLEOTIDE	17
2.1.6	LÄNGENSTANDARD FÜR DNA	17
2.1.7	LÄNGENSTANDARD FÜR PROTEINE	17
2.1.8	STERILISATION VON LÖSUNGEN UND GERÄTEN	17
2.1.9	PUFFER UND STAMMLÖSUNGEN	17
2.1.10	NÄHRMEDIEN, AGARPLATTEN UND ANTIBIOTIKA FÜR BAKTERIEN.....	17
2.1.11	MEDIEN FÜR DIE ZELLKULTUR.....	18
2.1.12	PLASMIDE	19
2.1.13	ENZYME	19
2.1.14	ANTIKÖRPER.....	20
2.1.14.1	Datenbanken.....	20
2.1.15	BIOLOGISCHES MATERIAL	21
2.1.15.1	Bakterienstämme	21
2.1.15.2	Zelllinien	21
2.1.15.3	Versuchstiere	21
2.2	METHODEN.....	24
2.2.1	MOLEKULARBIOLOGISCHE METHODEN	24
2.2.1.1	Methoden zur Aufreinigung und Isolation von Nukleinsäuren.....	24

Inhaltsverzeichnis

2.2.1.1.1 Isolierung von Plasmid-DNA aus Flüssigkulturen	24
2.2.1.1.2 Isolierung genomicscher DNA aus Geweben	25
2.2.1.1.3 Phenol-Chloroform-Extraktion von DNA-Lösungen	26
2.2.1.1.4 Ethanol-Präzipitation von DNA.....	26
2.2.1.1.5 Isolierung von DNA-Fragmenten aus einem Agarosegel.....	26
2.2.1.1.6 Isolierung von Gesamt-RNA aus Geweben und Zelllinien	26
2.2.1.1.7 Konzentrationsbestimmung von DNA und RNA.....	27
2.2.1.2 Enzymatische Modifikationen von Nukleinsäuren.....	27
2.2.1.2.1 Restriktionsenzymatische Spaltung von DNA.....	27
2.2.1.2.2 Klonieren von PCR-Produkten in TOPO® TA Vektoren	28
2.2.1.3 Methoden zur Vervielfältigung von DNA	28
2.2.1.3.1 Transformation durch Hitzeschock.....	28
2.2.1.3.2 Selektion positiver Transformanden.....	29
2.2.1.3.3 Die Polymerase-Kettenreaktion	29
2.2.1.3.4 Reverse Transkriptase–Polymerase-Kettenreaktion.....	30
2.2.1.3.5 PCR-Sequenzierung mit fluoreszierenden Terminatoren	31
2.2.1.4 Elektrophorese von DNA in Agarosegelen.....	31
2.2.2 ZELLBIOLOGISCHE METHODEN	32
2.2.2.1 Zellkultur von Säugerzellen.....	32
2.2.2.2 Bestimmung der Anzahl vitaler Zellen.....	32
2.2.2.3 Kryokonservierung	33
2.2.2.4 Präparation von Zellen für tierexperimentelle Arbeiten	33
2.2.3 PROTEINANALYTISCHE METHODEN	33
2.2.3.1 Lyse von Zellen	33
2.2.3.2 Bestimmung der Proteinkonzentration	34
2.2.3.3 Western-Blot-Analyse	34
2.2.3.3.1 Gelelektrophorese und Proteintransfer auf Nitrozellulose-Membranen	34
2.2.3.3.2 Immunodetektion	36
2.2.4 SPEZIELLE TIEREXPERIMENTELLE METHODEN	38
2.2.4.1 Orthotope Transplantation humaner Mammakarzinomzellen in SCID-Mäuse	38
2.2.4.2 Sektion	39
2.2.4.3 Bestimmung des Tumorvolumens.....	39
2.2.4.4 Organpräparation	39
2.2.4.5 Subkutane und intravenöse Implantation von murinen Melanomzellen in DDR2-defiziente C57/BL6 Mäuse	41
2.2.4.6 Transgene Mausmodelle.....	42

2.2.5	HISTOCHEMIE UND IMMUNHISTOCHEMIE.....	43
2.2.5.1	Histologische Färbetechniken	43
2.2.5.1.1	Hämatoxylin-Eosin Färbung.....	43
2.2.5.1.2	Masson-Goldner-Färbung	43
2.2.5.1.3	Perjod Schiff-Reaktion	44
2.2.5.1.4	Elastika van Giesson.....	44
2.2.5.2	Immunhistochemische Färbetechniken.....	44
2.2.5.2.1	Enzymatische Vorbehandlung der Schnitte mit Trypsin oder Pepsin	45
2.2.5.2.2	Mikrowellenvorbehandlung zur Antigendemaskierung.....	45
2.2.5.2.3	Färbeprotokolle	46
2.2.6	BILDGEBENDE VERFAHREN	49
2.2.6.1	Untersuchungen mit dem Flächendetektor-Volumen-Computertomo-graphen (fpVCT)	49
2.2.7	STATISTIK.....	51
2.2.8	BILDBEARBEITUNG	51
3	<u>ERGEBNISSE</u>	<u>52</u>
3.1	EINFLUSS VON DDR1B AUF TUMORWACHSTUM UND PROGRESSION VON MAMMAKARZINOMEN	52
3.1.1	EINFLUSS VON DDR1B AUF MORPHOLOGIE UND STRUKTUR DER MAMMAKARZINOME.....	53
3.1.2	EINFLUSS VON DDR1 AUF DAS TUMORWACHSTUM.....	56
3.1.3	ZELL-PROLIFERATION UND APOTOSE IN DEN MAMMAKARZINOMEN.....	57
3.1.4	EXPRESSION DES ADHÄSIONSMOLEKÜLS B-CATENIN IN DDR1B-ÜBEREXPRIMIERENDEN MAMMAKARZINOMEN	61
3.2	EINFLUSS VON DDR2 IM STROMA AUF DIE TUMORPROGRESSION VON MELANOMEN	64
3.2.1	MAKROSKOPIE DER SUBKUTANEN MELANOME.....	64
3.2.2	ERMITTLEMENT DER TUMORGRÖßen	65
3.2.3	EINFLUSS VON DDR2 AUF DIE MORPHOLOGIE DER MELANOME	67
3.2.3.1	Histologische Analyse der Tumore	67
3.2.3.2	Einfluss von DDR2 auf den Soliditätsgrad der Melanome	71
3.2.3.3	Untersuchungen zur Tumordichte mittels fpVCT	74
3.2.3.4	Einfluss von DDR2 auf die Desmoplasie der Melanome	78
3.2.4	EINFLUSS VON DDR2 AUF DAS WACHSTUMSVERHALTEN DER MELANOME ÜBER DIE ZEIT.....	79
3.2.5	DIE ERGEBNISSE IM ÜBERBLICK	83

3.3	TUMORENTWICKLUNG IN DEN BRUSTDRÜSEN <i>HDDR1B</i>- UND <i>HDDR2</i>-TRANSGENER MÄUSE.....	85
3.3.1	NOMENKLATUR DER VERÄNDERUNGEN IN DEN BRUSTDRÜSEN TRANSGENER MÄUSE	87
3.3.2	MORPHOLOGIE DER BRUSTDRÜSEN VON WEIBLICHEN FVB/N-MÄUSEN.....	88
3.3.3	TUMORENTWICKLUNG IN DEN BRUSTDRÜSEN VON <i>HDDR1B</i> -ÜBER-EXPRIMIERENDEN MÄUSEN.....	89
3.3.3.1	Pathologische Veränderungen in den Brustdrüsen juveniler bis frühadulter <i>hDDR1b</i> -transgener Mäuse	92
3.3.3.2	Pathologische Veränderungen in den Brustdrüsen zuchtreifer <i>hDDR1b</i> -transgener Mäuse	94
3.3.3.3	Pathologische Veränderungen in den Brustdrüsen spätadulter <i>hDDR1b</i> -transgener Mäuse	97
3.3.3.4	Pathologische Veränderungen in den Brustdrüsen aller <i>hDDR1b</i> -transgenen Mäuse	104
3.3.4	CHARAKTERISIERUNG VON <i>HDDR2</i> -TRANSGENEN MÄUSEN.....	107
3.3.4.1	Pathologische Veränderungen in den Brustdrüsen juveniler bis frühadulter <i>hDDR2</i> -transgener Mäuse	109
3.3.4.2	Pathologische Veränderungen in den Brustdrüsen zuchtreifer <i>hDDR2</i> -transgener Mäuse	110
3.3.4.3	Pathologische Veränderungen in den Brustdrüsen spätadulter <i>hDDR2</i> -transgener Mäuse	114
3.3.4.4	Pathologische Veränderungen in den Brustdrüsen aller <i>hDDR2</i> -transgenen Mäuse	123
3.3.5	<i>HDDR1B</i> -TRANSGENE UND <i>HDDR2</i> -TRANSGENE MÄUSE IM VERGLEICH	126
3.4	FUNKTIONELLE BEDEUTUNG VON DDR1 UND DDR2 IN DER ORGANENTWICKLUNG.....	128
3.4.1	VERGLEICHENDE ANALYSE DER HAUT DDR1- UND DDR2- DEFIZIENTER MÄUSE	128
3.4.1.1	Vergleichende Analyse der Haut DDR1-defizienter Mäuse und Wildtyp-Mäuse	129
3.4.1.2	Vergleich der Haut von DDR2-defizienten Mäusen und Wildtyp-Mäusen.	132
3.4.2	ALTERATIONEN DER NIEREN DDR1- UND DDR2- DEFIZIENTER MÄUSE	137
3.4.2.1	Spektrum renaler Alterationen in Wildtyp-Mäusen.....	137
3.4.2.2	Spektrum renaler Alterationen in DDR1-defizienten Mäusen	140
3.4.2.3	Spektrum renaler Alterationen in DDR2-defizienten Mäusen	141

4	<u>DISKUSSION</u>	149
4.1	DIE ROLLE DES DISCOIDIN-DOMAIN-REZEPTORS 1 BEI TUMORWACHSTUM UND TUMORPROGRESSION	149
4.2	DIE BEDEUTUNG DES DISCOIDIN-DOMAIN-REZEPTORS 2 BEI TUMOR- STROMA-INTERAKTIONEN	154
4.3	DISCOIDIN-DOMAIN-REZEPTOREN IN DER TUMORENTWICKLUNG	159
4.4	ENTWICKLUNG VON HAUT UND NIEREN: ERKENNTNISGEWINN DURCH DDR- DEFIZIENZ	165
5	<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	172
6	<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	174
7	<u>ANHANG</u>	196
7.1	VERWENDETE OLIGONUKLEOTIDE	196
7.2	POLYMERASE-KETTENREAKTIONEN ZUR GENOTYPISIERUNG	196
	<u>LEBENSLAUF</u>	198
	<u>VERÖFFENTLICHUNGEN</u>	199
	<u>DANKSAGUNG</u>	200