

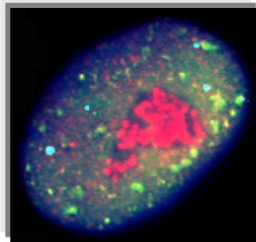


Almut Kießlich (Autor)

Struktur- und Funktionsbeziehungen im Zellkern: PML-Kernkörperchen und Transkription

Almut Kießlich

**Struktur- und Funktionsbeziehungen
im Zellkern:
PML-Kernkörperchen und Transkription**



Cuvillier Verlag Göttingen

<https://cuvillier.de/de/shop/publications/2826>

Copyright:

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

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

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung	1
2	Einleitung	3
2.1	Zellkern und Zellkernarchitektur.....	3
2.1.1	Subnukleäre Strukturen	5
2.2	PML-Kernkörperchen.....	8
2.2.1	PML-Protein	10
2.2.2	Komponenten der PML-Kernkörperchen.....	13
2.2.3	SUMO 1-Modifikationen in PML-Kernkörperchen.....	16
2.2.4	Mögliche Funktionen von PML-Kernkörperchen	17
2.3	PML-Kernkörperchen und Transkription.....	19
2.3.1	Transkription	21
2.3.2	Räumliche Organisation der Transkription	21
2.3.3	Transkription an PML-Kernkörperchen	22
2.4	PML-Kernkörperchen und Krankheiten.....	22
2.4.1	Akute Promyelozytische Leukämie.....	22
2.4.2	Spinozerebelläre Ataxie Typ 1	24
2.4.3	Virale Proteine an PML-Kernkörperchen	24
2.5	Immunabwehr und Haupthistokompatibilitätskomplex	25
2.5.1	Immunabwehr.....	25
2.5.2	Haupthistokompatibilitäts-Komplex (MHC).....	26
2.5.3	Interferone	27
2.6	Ziel der Arbeit	28
3	Material & Methoden.....	30
3.1	Material.....	30
3.1.1	Reagenzien	30
3.1.2	Technische Geräte	30

3.1.3	Software zur Bildaufnahme und -verarbeitung.....	31
3.1.4	Humane Zellen und Zelllinien	31
3.1.5	Antikörper und Fluoreszenzfarbstoffe	32
3.1.6	Charakterisierung der verwendeten primären Antikörper	33
3.1.7	Verwendete DNA-Sonden	34
3.2	Methoden	35
3.2.1	Kultivierung von Säugetier-Zellen.....	35
3.2.2	Splitten von Zellen.....	35
3.2.3	Indirekte Immunfluoreszenz (IIF).....	36
3.2.4	Fluorouridin-Markierung naszenter RNA.....	37
3.2.5	Reinigung der Deckgläschen	38
3.2.6	Beschichtung der Objektträger und Deckgläschen mit Poly-L-Lysin	38
3.2.7	Synchronisierung der Zellen mit Nocodazol	39
3.2.8	Stimulation der Zellen mit Interferon- γ	39
3.2.9	Isolation der DNA aus BAC-Klonen	39
3.2.10	Markierung der DNA-Sonden durch Nick-Translation	41
3.2.11	Nachweis der Sondenmarkierung mit „Dot-Blot“	41
3.2.12	Fixierung der Zellen für DNA-FISH	42
3.2.13	Kombination von IIF und Fluoreszenz- <i>in situ</i> -Hybridisierung (FISH) gegen DNA.....	44
3.2.14	Konfokale „Laser Scanning“-Mikroskopie	46
3.2.15	Auswertung der Fluoreszenzsignale beim Immuno-DNA-FISH.....	46
3.2.16	Berechnung von Assoziationswahrscheinlichkeiten zweier Strukturen im Zellkern	47
4	Ergebnisse.....	51
4.1	Indirekte Immunfluoreszenz-Experimente von PML-Kernkörperchen und Orten aktiver Transkription.....	51
4.1.1	Immunfluoreszenz von PML-Kernkörperchen	52
4.1.2	Immunfluoreszenz von naszenter RNA	54
4.1.3	Immunfluoreszenz von Orten aktiver Transkription.....	56
4.1.4	Charakterisierung der Orte aktiver Transkription.....	58
4.1.5	PML-Kernkörperchen assoziieren mit Orten aktiver Transkription.....	60
4.1.6	Inhibition der Transkription mit Actinomycin-D.....	62
4.1.7	Immunfluoreszenz von Orten aktiver Transkription und verschiedenen Kernstrukturen	63
4.1.8	Assoziation von PML-Kernkörperchen mit naszenter RNA nach Synchronisation der Zellen in der G1-Phase.....	65
4.1.9	Assoziation von PML-Kernkörperchen mit naszenter RNA Stimulation der Zellen mit Interferon- γ	67

4.2	PML-Kernkörperchen und ihre Assoziation mit spezifischen Genorten.....	68
4.2.1	Charakterisierung der DNA-Sonden	69
4.2.2	Anzahl der DNA-FISH-Signale	70
4.2.3	Definition von Assoziation und Kolokalisation	72
4.2.4	Immuno-DNA-FISH-Experimente zur räumlichen Beziehung zwischen PML-Kernkörperchen und den Genorten MHC und NBS1	73
4.2.5	Immuno-DNA-FISH-Experimente zur räumlichen Beziehung zwischen PML-Kernkörperchen und den Genorten MHC und NBS1 in Interferon- γ -stimulierten Zellen.....	76
4.2.6	Berechnung der Zufallswahrscheinlichkeit für eine Assoziation zwischen PML-Kernkörperchen und Genorten im Zellkern.....	77
5	Diskussion.....	81
5.1	PML-Kernkörperchen und Orte aktiver Transkription.....	82
5.2	PML-Kernkörperchen und Transkriptionsorte spezifischer Gene.....	86
5.3	Schlussfolgerung und Ausblick.....	92
6	Literaturverzeichnis	93