

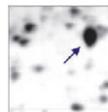
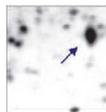
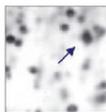
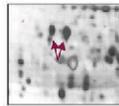
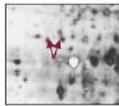


Tanja Hofmann (Autor)

# **Tumor-induzierte differentielle Genexpression in Monozyten**

Tanja Hofmann

## **Tumor-induzierte differentielle Genexpression in Monozyten**



Cuvillier Verlag Göttingen

<https://cuvillier.de/de/shop/publications/3171>

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

<b>Inhaltsverzeichnis</b>	<b>i</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>v</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>vii</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1 Tumorentstehung . . . . .	2
1.1.1 Epidemiologie von Kopf–Hals–Karzinomen . . . . .	3
1.2 Die Immunantwort . . . . .	4
1.2.1 Angeborene Immunantwort . . . . .	4
1.2.2 Adaptive Immunantwort . . . . .	5
1.3 Immunogenität von Tumoren . . . . .	6
1.4 Tumorantigene . . . . .	7
1.5 Immunevasion . . . . .	9
1.6 Monozyten / Makrophagen . . . . .	10
1.6.1 Zytokine und Chemokine . . . . .	12
1.6.2 Immunsuppression durch Tumoren . . . . .	13
1.6.3 Tumorassoziierte Makrophagen . . . . .	14
1.7 PGE <sub>2</sub> , Cox und NSAIDs . . . . .	15
1.8 Zielsetzung . . . . .	16
<b>2 Material</b>	<b>19</b>
2.1 Antikörper . . . . .	19
2.2 Bakterien . . . . .	20
2.3 Chemikalien, Geräte und Sonstiges . . . . .	20
2.4 Plasmide . . . . .	27
2.5 Zelllinien . . . . .	28
<b>3 Methoden</b>	<b>31</b>
3.1 Zellkultur . . . . .	31
3.1.1 Kultivierung permanenter Zelllinien . . . . .	31
3.1.2 Zellzahlbestimmung . . . . .	32
3.1.3 Aufbewahrung von Zelllinien . . . . .	32
3.1.4 Reaktivierung eingefrorener Zellen . . . . .	32
3.1.5 Generieren von Zellkultur–Überständen . . . . .	32
3.1.6 Ausfällen von Zellkultur–Überständen . . . . .	33

3.2	Isolierung von Monozyten . . . . .	33
3.2.1	Buffy Coats . . . . .	33
3.2.2	Vollblut . . . . .	33
3.2.3	Aufbereitung der PBMZs . . . . .	34
3.2.4	Anreicherung von Monozyten . . . . .	34
3.3	Nukleäre „Run-On“-Experimente . . . . .	34
3.3.1	Isolierung der Kerne aus Monozyten . . . . .	34
3.3.2	„Run-On“-Reaktion . . . . .	35
3.3.3	Hybridisierung der RNA auf cDNA-Filter . . . . .	36
3.3.4	Waschen der cDNA-Filter . . . . .	36
3.4	2-D Gelelektrophorese . . . . .	37
3.4.1	Monozytenaufbereitung für die 2D-PAGE . . . . .	37
3.4.2	1. Dimension: Isoelektrische Fokussierung . . . . .	38
3.4.3	2. Dimension: SDS-PAGE . . . . .	39
3.4.4	Färbemethoden . . . . .	40
3.5	Protein-Analysen über MALDI-ToF . . . . .	42
3.5.1	Trypsinverdau . . . . .	42
3.5.2	Beschichten der Ankerplatte . . . . .	43
3.5.3	MALDI-ToF Analyse . . . . .	43
3.6	Bakterienkultur . . . . .	44
3.6.1	Vermehrung und Aufbewahrung . . . . .	44
3.6.2	Transformation von <i>E. coli</i> . . . . .	44
3.7	Präparative Plasmidaufarbeitung . . . . .	45
3.8	Agarose-Gelelektrophorese . . . . .	45
3.9	Isolierung von DNA-Fragmenten aus Agarose-Gelen . . . . .	45
3.10	Transfektion von Zellen . . . . .	46
3.10.1	Lipofectamin-Transfektion . . . . .	46
3.10.2	Elektroporation . . . . .	47
3.11	FACS-Analysen . . . . .	47
3.11.1	Extrazelluläres FACS . . . . .	47
3.11.2	Intrazelluläres FACS . . . . .	47
3.12	Matrigel-Migrationsversuche . . . . .	48
3.13	Westernblot (Immunblot) . . . . .	48
3.14	Enzymimmunoassay (ELISA) und Bio-Plex-Messung . . . . .	49
3.15	MTT Assay . . . . .	49
3.16	Sonstige . . . . .	50
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b> . . . . .	<b>51</b>
4.1	Tumor-induzierte differentielle Genexpression in Monozyten . . . . .	51
4.1.1	Etablierung eines zellulären Systems zur Untersuchung von Tumor-induzierten Veränderungen in Monozyten . . . . .	51
4.1.2	Veränderungen im Proteom von Monozyten . . . . .	54
4.1.3	Veränderungen im Transkriptom von Monozyten . . . . .	60
4.2	Interleukin-1 $\beta$ in primären Monozyten . . . . .	65
4.2.1	Tumorzellen induzieren die Produktion von IL-1 $\beta$ in primären Monozyten . . . . .	65
4.2.2	Induziertes IL-1 $\beta$ wird sezerniert . . . . .	66

4.2.3	Interleukin-1 $\beta$ – ein Tumormarker? . . . . .	70
4.2.4	Tumorzell-Überstände regulieren die Expression zusätzlicher Zytokine in Monozyten . . . . .	72
4.3	Das Plasminogen Aktivator System in primären Monozyten . . . . .	76
4.3.1	Konditionierte Karzinomzell-Überstände induzieren die Produktion von intrazellulärem PAI-2 in Monozyten . . . . .	76
4.3.2	Regulation des Urokinase-Rezeptors auf Monozyten durch konditionierten Karzinomzell-Überstand . . . . .	79
4.3.3	Tumorzell-Überstände beeinflussen die Migration von Monozyten durch extrazelluläre Matrix . . . . .	82
4.4	Etablierung zusätzlicher Systeme zur Untersuchung der Immunsuppression durch Tumore . . . . .	85
4.4.1	Ein zelluläres System zur Untersuchung von Cox-1 bzw. Cox-2-vermittelten Veränderungen in Monozyten . . . . .	85
4.4.2	Identifikation löslicher Faktoren von Karzinomzellen . . . . .	91
<b>5</b>	<b>Diskussion</b>	<b>95</b>
5.1	Tumor-induzierte differentielle Genexpression in Monozyten . . . . .	95
5.1.1	Etablierung zellulärer Systeme zur Untersuchung von Tumor-induzierten Veränderungen in Monozyten . . . . .	95
5.1.2	Veränderungen im Proteom und Transkriptom von Monozyten . . . . .	98
5.2	Interleukin-1 $\beta$ in primären Monozyten . . . . .	99
5.2.1	Konditionierter Karzinomzell-Überstand induziert die Produktion von IL-1 $\beta$ in primären Monozyten . . . . .	99
5.2.2	IL-1 $\beta$ – ein Tumormarker? . . . . .	100
5.2.3	Konditionierter Karzinomzell-Überstand reguliert die Expression zusätzlicher Zytokine in Monozyten . . . . .	102
5.3	Das Plasminogen Aktivator System in primären Monozyten . . . . .	104
5.3.1	Konditionierter Karzinomzell-Überstand induziert die Produktion von PAI-2 in primären Monozyten . . . . .	104
5.3.2	Konditionierter Karzinomzell-Überstand beeinflusst die Expression des Urokinase-Rezeptors auf Monozyten sowie die Migration von Monozyten durch extrazelluläre Matrix . . . . .	106
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>109</b>
	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>111</b>
	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>121</b>
	<b>Danksagung</b>	<b>125</b>
	<b>Lebenslauf</b>	<b>127</b>