

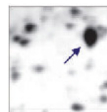
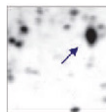
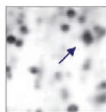
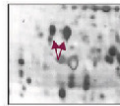
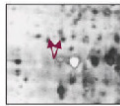


Tanja Hofmann (Autor)

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, Website: <https://cuvillier.de>

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	i
Abbildungsverzeichnis	v
Tabellenverzeichnis	vii
1 Einleitung	1
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 ₂ , Cox und NSAIDs	15
1.8 Zielsetzung	16
2 Material	19
2.1 Antikörper	19
2.2 Bakterien	20
2.3 Chemikalien, Geräte und Sonstiges	20
2.4 Plasmide	27
2.5 Zelllinien	28
3 Methoden	31
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
4	Ergebnisse	51
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 β in primären Monozyten	65
4.2.1	Tumorzellen induzieren die Produktion von IL-1 β in primären Monozyten	65
4.2.2	Induziertes IL-1 β wird sezerniert	66

4.2.3	Interleukin-1 β – 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
5	Diskussion	95
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 β in primären Monozyten	99
5.2.1	Konditionierter Karzinomzell-Überstand induziert die Produktion von IL-1 β in primären Monozyten	99
5.2.2	IL-1 β – 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
6	Zusammenfassung	109
	Literaturverzeichnis	111
	Abkürzungsverzeichnis	121
	Danksagung	125
	Lebenslauf	127