

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
1 Einleitung	1
1.1 Der Hippocampus	1
1.1.1 Zytoarchitektur und Konnektivität im Hippocampus	2
1.2 Morphogenese des Gyrus dentatus	5
1.3 Funktion des Hippocampus bei Lern- und Gedächtnisprozessen.....	10
1.4 Der Transkriptionsfaktor Bcl11b.....	11
1.5 Zielsetzung der Arbeit.....	13
2 Material und Methoden.....	14
2.1 Material	14
2.1.1 Chemikalien und Enzyme.....	14
2.1.2 Lösungen und Reagenzien.....	14
2.1.3 Bakterienstämme.....	16
2.1.4 Plasmidvektoren	16
2.1.5 Oligonukleotide.....	16
2.1.6 Antikörper.....	17
2.1.7 Mäusestämme und transgene Mäuselinien.....	17
2.1.8 Nährmedien	18
2.2 Methoden.....	18
2.2.1 DNA Isolierung und Aufreinigung	18
2.2.1.1 Präparation von Plasmid- DNA und DNA Fragmenten	18
2.2.1.2 Isolierung genomischer DNA aus embryonalem Gewebe, Ohrhöchern bzw. Schwanzstücken	18
2.2.2 Restriktionshydrolyse von DNA, Ligationen von DNA Fragmenten und Transformation kompetenter Bakterien	19
2.2.3 Amplifikation von DNA Fragmenten	19
2.2.3.1 Polymerase-Kettenreaktion (PCR).....	19
2.2.3.2 RT-PCR.....	19
2.2.4 Sequenzierung	20
2.2.5 <i>In vitro</i> -Transkription und DIG-Markierung von RNA Sonden	20
2.2.6 Microarray-Expressionsanalyse	21
2.2.6.1 RNA Isolierung und Aufreinigung.....	21
2.2.6.2 cDNA-Synthese.....	22
2.2.6.3 <i>In vitro</i> -Transkription und Biotin-Markierung von cRNA	22
2.2.6.4 Microarray-Hybridisierung.....	23
2.2.7 Herstellung von Antikörpern.....	23
2.2.8 Präparation von Mausgewebe	24
2.2.9 Histologische Methoden.....	24
2.2.9.1 Herstellung von Methacrylatschnitten	24
2.2.9.2 Kresylviolett-Färbung von Methacrylatschnitten	25
2.2.9.3 Herstellung von Gefrierschnitten	25
2.2.9.4 Immunhistologie auf Gewebeschnitten.....	26
2.2.9.5 Detektion von Zellproliferation und Apoptose.....	26
2.2.9.6 Herstellung von Vibratomschnitten	27
2.2.9.7 Histologische Färbung für β -Galaktosidase	27
2.2.9.8 Golgi-Färbung	28
2.2.10 <i>In situ</i> - Hybridisierung.....	28
2.2.10.1 <i>In situ</i> - Hybridisierung auf Gefrierschnitten	28
2.2.10.2 Whole Mount <i>in situ</i> -Hybridisierung.....	29
2.2.10.3 Herstellung von Embryopulver	31

2.2.11	Verhaltensexperimente	31
2.2.11.1	Untersuchung des emotionalen Verhaltens – Open Field-Test	31
2.2.11.2	Untersuchung der kognitiven Fähigkeiten – Radiallabyrinth	31
2.2.11.3	Untersuchung der Höhenfurcht – Elevated Plus Labyrinth	33
2.2.12	Datenanalyse	33
2.2.12.1	Dokumentation histologischer Daten	33
2.2.12.2	Zellzahlen	34
2.2.12.3	Statistik und Expressionsanalyse mittels Microarrays	34
3	Ergebnisse	35
3.1	Bcl11b Expression im Hippocampus	35
3.2	Konditionelle Mutagenese von Bcl11b im Vorderhirn der Maus	40
3.3	Histologische Analyse des Hippocampus Bcl11b mutanter Mäuse.....	42
3.3.1	Bcl11b mutante Tiere zeigen postnatal morphologische Veränderungen im Gyrus dentatus	42
3.3.2	In Bcl11b mutanten Tieren ist die Anzahl der Körnerzellen reduziert und der Gyrus dentatus verkleinert	43
3.4	In Bcl11b mutanten Tieren ist die Proliferation im postnatalen Gyrus dentatus reduziert.....	45
3.5	Nachweis apoptotischer Zellen im Gyrus dentatus	48
3.6	Differenzierung der Körnerzellen in Bcl11b Mutanten.....	49
3.6.1	Expressionsanalyse früher Differenzierungsmarker	49
3.6.2	Analyse der Dendritenmorphologie der Körnerzellen	51
3.6.3	Expressionsanalyse später Differenzierungsmarker	53
3.6.4	Analyse des Radial-Glia-Fasengerüsts im Gyrus dentatus	54
3.6.5	In Bcl11b Mutanten ist die Anzahl Parvalbumin exprimierender Interneurone reduziert	55
3.7	Identifizierung differentiell exprimierter Gene im Hippocampus Bcl11b mutanter Mäuse.....	57
3.8	Verhaltensanalyse Bcl11b mutanter Mäuse	58
3.8.1	Verhalten Bcl11b mutanter Mäuse im Open Field-Test.....	58
3.8.2	Verhalten Bcl11b mutanter Mäuse im Elevated Plus Labyrinth.....	60
3.8.3	Räumliches Lernverhalten Bcl11b mutanter Mäuse im Radiallabyrinth	61
4	Diskussion.....	63
4.1	Bcl11b ist essentiell für die postnatale Neurogenese im Gyrus dentatus	63
4.1.1	In Bcl11b Mutanten ist sowohl die Proliferation als auch das Überleben der Zellen im Gyrus dentatus beeinträchtigt	66
4.2	Bcl11b ist essentiell für die terminale Differenzierung der Körnerzellen.....	69
4.2.1	Bcl11b beeinflusst die Entwicklung Parvalbumin positiver Interneurone	71
4.3	Identifizierung potentieller Targetgene von Bcl11b.....	72
4.3.1	Mögliche Funktionen von Desmoplakin bei der Morphogenese des Gyrus dentatus	73
4.4	Bcl11b mutante Mäuse zeigen Defizite im emotionalen und kognitiven Lernverhalten	76
4.5	Ausblick	78
5	Zusammenfassung.....	80
6	Literatur	82
7	Anhang	96
	Abkürzungsverzeichnis	96
	Danksagung	98
	Lebenslauf	99
	Eidesstattliche Erklärung	100