

# **Rolle von Interleukin-1 in der Scrapie-Pathogenese**

**Dissertation**

zur Erlangung des akademischen Grades  
doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

eingereicht am  
Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie  
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
**Julia Schultz**  
aus Warnemünde

Berlin 2004

Datum der Disputation: 15.02.05

1.Gutachter: Prof. Dr. Dieter Naumann

2.Gutachter: Prof. Dr. Dietmar Kuhl

meinem Paps gewidmet

# *Inhaltsverzeichnis*

<b><i>Einleitung</i></b>	<b>1</b>
<b>1.1 Geschichtlicher Überblick</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Das Prion-Modell</b>	<b>3</b>
1.2.1 Das Prion-Protein (PrP)	3
1.2.2 Das zelluläre Prion-Protein (PrP <sup>c</sup> )	4
1.2.3 Umwandlung von PrP <sup>c</sup> in PrP <sup>Sc</sup>	6
1.2.4 Das Prion-Protein-Gen	7
<b>1.3 Histopathologie von TSE-Erkrankungen</b>	<b>8</b>
1.3.1 PrP <sup>Sc</sup> -Ablagerung	8
1.3.2 Vakuolisierung	9
1.3.3 Mikrogliaaktivierung	9
1.3.4 Astrozytose	11
1.3.5 Neuronenverlust	12
<b>1.4 Ausbreitung des Erregers im infizierten Wirt</b>	<b>12</b>
<b>1.5 Diagnose von TSE-Erkrankungen</b>	<b>13</b>
<b>1.6 Das IL-1-System</b>	<b>14</b>
<b>1.7 Problemstellung der Arbeit</b>	<b>16</b>
<b>2 <i>Material und Methoden</i></b>	<b>17</b>
<b>2.1 Material</b>	<b>17</b>
2.1.1 Chemikalien	17
2.1.2 Häufig verwendete Lösungen	17
2.1.3 Geräte	18
2.1.4 Antikörper	19
2.1.5 Enzyme	19
2.1.6 Oligonukleotide	20
2.1.7 Verwendete Kits	20
2.1.8 Labortiere	21
2.1.9 Scrapie-Stamm	21
2.1.10 Einwegmaterialien	21
2.1.11 Radioaktivität	21

<b>2.2 Methoden</b>	<b>22</b>
<b>2.2.1 Tierversuche</b>	<b>22</b>
<b>2.2.2 Immunhistochemische Methoden</b>	<b>22</b>
2.2.2.1 Gewebefixierung	22
2.2.2.2 Paraffineinbettung	23
2.2.2.3 Silanisierung von Objektträgern	24
2.2.2.4 Herstellung der Paraffinpräparate	24
2.2.2.5 ABC-Methode (Avidin-Biotin-Complex)	24
2.2.2.6 Immunhistochemie an Paraffinschnitten	25
2.2.2.6.1 Nachweis aktivierter Astrozyten	25
2.2.2.6.2 Färbung von Prion-Protein	26
2.2.2.7 Hämatoxylin-Eosin-Übersichtsfärbung (HE)	26
2.2.2.8 Durchführung des PET-Blots	27
2.2.2.9 Herstellung der Gefrierpräparate	28
2.2.2.10 Immunhistochemie an Gefrierschnitten	28
2.2.2.11 Histologische Analyse	28
2.2.2.12 Quantifizierung der Färbung	29
2.2.2.13 Statistik	29
<b>2.2.3 Molekularbiologische Methoden</b>	<b>30</b>
2.2.3.1 Elektrophoresen	30
2.2.3.1.1 DNA	30
2.2.3.1.2 RNA	30
2.2.3.2 Polymerase-Kettenreaktion	30
2.2.3.3 Isolierung der Gesamt-RNA aus Gehirnen mittels Trizol	31
2.2.3.4 Northern-Blot-Analysen	31
2.2.3.4.1 Durchführung des Northern-Blots	31
2.2.3.4.2 Sondenherstellung	32
2.2.3.4.3 Hybridisierung und Autoradiographie	32
2.2.3.5 Nachweis der Genexpression verschiedener Gene mittels quantitativer Real-Time RT-PCR	33
2.2.3.2.1 DNase-Verdau und Reinigung der RNA	33
2.2.3.2.2 cDNA-Synthese von Gesamt-RNA	33
2.2.3.2.3 Quantitative Real-Time RT-PCR	33

<b>3</b>	<b><i>Ergebnisse</i></b>	<b>36</b>
3.1	Northern-Blot-Analyse des IL-1-Systems in der murinen Scrapie-Pathogenese	36
3.2	Infektionsstudien von IL-1R1-defizienten-Mäusen	37
3.3	Immunhistochemische Analyse der Scrapie-infizierten IL-1R1-defizienten-Mäuse im Vergleich zu den C57/B6-Kontrolltieren	40
3.3.1	Astrozytenaktivierung	40
3.3.1.1	Astrozytose im asymptomatischen Krankheitsstadium (125 dpi)	40
3.3.1.2	Astrozytose im terminalen Krankheitsstadium	43
3.3.1.3	Northern-Blot-Analyse zur Astrozytenaktivierung	44
3.3.2	Aktivierung von Mikroglia	46
3.3.2.1	Aktivierung von Mikroglia im asymptomatischen Krankheitsstadium	46
3.3.2.2	Aktivierung von Mikroglia im terminalen Krankheitsstadium	47
3.3.3	Untersuchung zur Ablagerung von PrP <sup>Sc</sup> im Gewebe	49
3.3.3.1	Prion-Ablagerung im asymptomatischen Krankheitsstadium (125 dpi)	49
3.3.3.1.1	Immunhistochemische Untersuchungen	49
3.3.3.1.2	PET-Blot-Analysen im asymptomatischen Krankheitsstadium (125 dpi)	51
3.3.3.2	Prion-Ablagerung im terminalen Krankheitsstadium	51
3.3.3.2.1	Immunhistochemische Untersuchungen	51
3.3.3.2.2	PET-Blot-Analysen im terminalen Krankheitsstadium	53
3.3.4	Untersuchung der Vakuolisierung des Hirngewebes	54
3.3.4.1	Spongiforme Veränderungen des Gewebes im asymptomatischen Krankheitsstadium (125 dpi)	54
3.3.4.2	Spongiforme Veränderungen des Gewebes im terminalen Krankheitsstadium	55

3.4	Expressionsanalyse verschiedener Gene mittels Real-Time-PCR	57
<b>4</b>	<b><i>Diskussion</i></b>	<b>60</b>
4.1	Verstärkte Expression des IL-1-Systems in Scrapie-infizierten Mäusen	60
4.2	Verzögerte Aktivierung von Astrozyten in Scrapie-infizierten IL-1R1-defizienten-Mäusen	60
4.3	Die Mikrogliaaktivierung in den IL-1R1-defizienten-Mäusen	62
4.4	Verminderte Ablagerung von Prion-Protein im Gehirn der IL-1R1-defizienten-Mäuse	64
4.5	Vakuolisierung des Gewebes	65
4.6	Verzögerter Krankheitsverlauf und längeres Überleben der IL-1R1-defizienten-Mäuse	66
<b>5</b>	<b><i>Zusammenfassung</i></b>	<b>69</b>
5.1	Summary	70
<b>6</b>	<b><i>Abkürzungsverzeichnis</i></b>	<b>71</b>
<b>7</b>	<b><i>Abbildungsverzeichnis</i></b>	<b>73</b>
<b>8</b>	<b><i>Literaturverzeichnis</i></b>	<b>76</b>