

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1-6
2. Material und Methoden	
2.1 Material	
2.1.1 Chemikalien, Enzyme, Reagenzien	7-8
2.1.2 Puffer	9
2.1.3 Seren, Medien	9-10
2.1.4 Bakterienstämme	10
2.1.5 Zelllinien	10
2.1.6 Verwendete SM-MHC-Promotor-Konstrukte und weitere Plasmide	10-11
2.2 Methoden	
2.2.1 Zellkultur	11
2.2.2 Transformation von <i>E.coli</i> Bakterien	11-12
2.2.3 Plasmid-DNA-Präparation in kleinem Maßstab („Mini“-Prep.)	12
2.2.4 Plasmid-DNA-Präparation in großem Maßstab („Maxi“-Prep.)	12
2.2.5 Restriktionsverdau von DNA	13
2.2.6 Sequenzierung	13
2.2.7 Transfektion neonataler glatter Gefäßmuskelzellen	13-14
2.2.8 Bestimmung der Transfektionseffizienz	14-15
2.2.9 CAT-Assay	15-16
2.2.10 Proteinbestimmung	16
2.2.11 Protein-Gel-Elektrophorese	16-17
2.2.11 Westernblot	17

3. Ergebnisse

3.1	Einfluß von Thrombin auf die SM-MHC-Promotor CAT-Aktivität	18-19
3.2	Induktion des SM-MHC-Promotors nach Ko-Transfektion mit konstitutiv aktiven G α -Untereinheiten	20-21
3.3	Bedeutung des G $_i$ -Proteins in der Signalkaskade	21
3.4	G $\beta\gamma$ -Untereinheit des G $_i$ -Proteins aktiviert den SM-MHC- Promotor	22-23
3.5	Thrombin induziert die Phosphorylierung der MAP-Kinasen ERK1/2	24-25
3.6	MEK-Inhibitor PD98059 reduziert die Thrombin-induzierte Phosphorylierung der MAP-Kinasen ERK1/2	25-26
3.7	MEK-Inhibitor PD98059 reduziert die SM-MHC-Promotor CAT-Aktivität	26-27
3.8	PTX inhibiert die Thrombin-induzierte Phosphorylierung der MAP-Kinasen ERK1/2	27-28
3.9	EGTA/BAPTA-AM inhibieren die durch Thrombin induzierte Phosphorylierung der MAP-Kinasen ERK1/2 und der MAP- Kinasen Kinase (MEK)	28-30
3.10	Ionomycin und A23187 induzieren eine Phosphorylierung der MAP-Kinasen ERK1/2 und der MAP-Kinasen Kinase (MEK)	31-32

4. Diskussion

4.1	Wirkung von Thrombin an Proteinase aktivierten Rezeptoren	33-34
4.2	Vermittlung des Thrombinsignals über ein G $_i$ -Protein	34-35

4.3	Beteiligung der Phospholipase C- β und der Proteinkinase C an der Signaltransduktion	35-36
4.4	Bedeutung von Kalzium bei der Signaltransduktion	36-37
4.5	Bedeutung der Ras/Raf/MEK/ERK-Kaskade	37-39
4.6	Vermittlung der differenzierenden Thrombinwirkung in den Zellkern	39-40
5.	Zusammenfassung	41
6.	Abkürzungsverzeichnis	42
7.	Literaturverzeichnis	43-48
8.	Danksagung	49
9.	Lebenslauf	50