
| | Seite |
|---|-------|
| Widmung | 2 |
| Danksagung | 3 |
| Inhaltsverzeichnis | 4 |
| Abkürzungsverzeichnis | 7 |
| 1. Einleitung | 9 |
| 1.1 Signalübertragungen in der Zelle | 11 |
| 1.2 G-Protein-gekoppelte Rezeptoren | 12 |
| 1.2.1 Der Thrombinrezeptor | 13 |
| 1.3 Struktur und Funktion von heterotrimeren G-Proteinen | 14 |
| 1.4 G-Protein-regulierte Effektoren | 15 |
| 1.5 Rezeptor-Tyrosin-Kinasen | 17 |
| 1.6 Mitogen-aktivierte Proteinkinasen | 17 |
| 1.7 Die MAP-Kinase-Kaskade | 18 |
| 1.8 Zielsetzung | 19 |
| 2. Material und Methoden | 20 |
| 2.1 Material | 20 |
| 2.1.1 Chemikalien, Enzyme, Reagenzien, Spezialpuffer | 20 |
| 2.1.2 Seren, Medien | 22 |
| 2.1.3 Bakterienstämme | 23 |
| 2.1.4 Zelllinien | 23 |
| 2.1.5 Zellkultur | 23 |
| 2.2 Molekularbiologische Methoden | 24 |
| 2.2.1 Transformation von Bakterien | 24 |
| 2.2.2 Verwendete SM-MHC-Promotor-Konstrukte | 24 |
| 2.2.3 Plasmid-DNA-Preparation in kleinem Maßstab ("Mini"-Prep.) | 25 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 2.2.4 | Plasmid-DNA-Preparation in großem Maßstab ("Maxi"-Prep.) | 25 |
| 2.2.5 | Restriktionsverdau von DNA | 26 |
| 2.2.6 | Sequenzierung | 26 |
| 2.2.7 | Transiente Transfektion glatter Gefäßmuskelzellen | 26 |
| 2.2.8 | Bestimmung der Transfektionseffizienz | 27 |
| 2.2.9 | CAT-Assays | 27 |
| 2.3 | Proteinbiochemische Methoden | 28 |
| 2.3.1 | Proteinbestimmung | 28 |
| 2.3.2 | Protein-Elektrophorese | 28 |
| 2.3.3 | Westernblots | 29 |
| 3. | Resultate | 30 |
| 3.1 | Serum induziert eine Aktivierung des SM-MHC-Promotors | 30 |
| 3.2 | Thrombin induziert eine Aktivierung des SM-MHC-Promotors | 31 |
| 3.3 | Dominant negatives Ras oder dominant negatives Raf reduzieren die Thrombin-induzierte ERK1/2-Aktivierung | 33 |
| 3.4 | Die Proteinkinase C ist an der ERK1/2-Phosphorylierung nach Thrombinstimulation neonataler glatter Gefäßmuskelzellen beteiligt | 35 |
| 3.5 | Der Src-Kinase-Inhibitor PP2 verhindert die Thrombin-induzierte ERK1/2-Phosphorylierung | 39 |
| 3.6 | Der EGF-Rezeptor-Kinase-Inhibitor AG 1478 inhibiert die Thrombin-induzierte ERK1/2-Phosphorylierung | 42 |
| 4. | Diskussion | 46 |
| 4.1 | Die phänotypische Modulation glatter Gefäßmuskelzellen | 46 |
| 4.2 | Einfluß von Thrombin auf die phänotypische Modulation glatter Gefäßmuskelzellen | 47 |
| 4.3 | Dominant negatives N17-Ras und N17-Raf verhindern die Thrombin-induzierte SM-MHC-Promotor-Aktivierung | 48 |
| 4.4 | Bedeutung von ERK1/2 in der Thrombin-induzierten Signalkaskade in neonatalen glatten Gefäßmuskelzellen | 49 |

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 4.5 | Beteiligung der Proteinkinase C an der Thrombin-induzierten ERK1/2-Aktivierung neonataler glatter Gefäßmuskelzellen | 51 |
| 4.6 | Die ERK1/2-Phosphorylierung neonataler glatter Gefäßmuskelzellen nach Thrombin-Stimulation ist abhängig von Src | 53 |
| 4.7 | Der EGF-Rezeptor ist an der Thrombin-vermittelten ERK1/2-Aktivierung neonataler glatter Gefäßmuskelzellen beteiligt | 55 |
| 5. | Zusammenfassung | 60 |
| 6. | Literatur | 63 |
| 7. | Lebenslauf | 70 |