

---

	Seite
<b>Widmung</b>	2
<b>Danksagung</b>	3
<b>Inhaltsverzeichnis</b>	4
<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	7
<b>1. Einleitung</b>	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
<b>2. Material und Methoden</b>	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
<b>3.</b>	<b>Resultate</b>	<b>30</b>
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
<b>4.</b>	<b>Diskussion</b>	<b>46</b>
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
<b>5.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>60</b>
<b>6.</b>	<b>Literatur</b>	<b>63</b>
<b>7.</b>	<b>Lebenslauf</b>	<b>70</b>