

Aus dem
Institut für Anatomie
der Freien Universität Berlin
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. H. G. Baumgarten
Abteilung: Anatomie II (Molekularanatomie und Zellbiologie)
Abteilungsleiter: Prof. Dr. R. Gossrau

**Untersuchungen zur konstitutiven Koexpression der NO-Synthasen und Häm-
Oxygenasen mit ihrem potentiellen Zielmolekül, der löslichen Guanylylzyklase, unter
besonderer Berücksichtigung der Kolokalisation in der Skelettmuskulatur**

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Humanmedizin
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von: Markus Feußner
aus: Letmathe

Referent: Prof. Dr. R. Gossrau
Koreferent: Priv.-Doz. Dr. Ch. Harteneck

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Humanmedizin der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 11. April 2003

Il Shi Mu Shi Il

Eins ist der Anfang von Nichts und ist der Anfang von Eins.

Koreanische Grabinschrift aus der Silla-Zeit

Inhaltsverzeichnis

I.	Verwendete Abkürzungen	6
1.	Einleitung	8
1.1.	Zyklisches Guanosin-3',5'-monophosphat, lösliche Guanylylzyklase (sGC)	8
1.2.	Stickstoffmonoxid, Stickstoffmonoxid-Synthasen	12
1.3.	Kohlenmonoxid, Häm-Oxygenasen	15
1.4.	Bilirubin, Biliverdinreduktase.....	18
1.5.	Zielsetzung der Arbeit.....	19
2.	Material und Methoden	20
2.1.	Materialien	20
2.1.1.	Geräte	20
2.1.2.	Verbrauchsmaterialien.....	20
2.2.	Tiere	21
2.3.	Methoden.....	21
2.3.1.	Organentnahme	21
2.3.2.	Proteinbiochemie.....	21
2.3.2.1.	Herstellung von Homogenaten	21
2.3.2.2.	Proteinbestimmung	22
2.3.2.3.	SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese	22
2.3.2.4.	Western-Blotting	25
2.3.2.5.	Färbungen	26
2.3.2.5.1.	Coomassie-Blue G-250	26
2.3.2.5.2.	Ponceau-Rot	26
2.3.2.6.	Immunblot	27
2.3.3.	Herstellung peptidspezifischer, polyklonaler Antikörper gegen HO-2 und HO-3	28
2.3.4.	Histologie	29
2.3.4.1.	Kryostatschnittherstellung, HE-Färbung.....	29
2.3.4.2.	Immunhistochemie	29
2.3.4.3.	NADPHd.....	30

3.	Ergebnisse	32
3.1.	Immunblotuntersuchungen zur Expression von sGC, NOS-1, NOS-3 und BVR	32
3.1.1.	sGC in Rattenorganen	32
3.1.2.	sGC in Skelettmuskeln des Hamsters	33
3.1.3.	NOS-1 und NOS-3 in Rattenorganen	33
3.1.4.	Biliverdinreduktase in Rattenorganen.....	35
3.2.	Untersuchungen mit den anti-HO-2- und anti-HO-3-Antikörpern	36
3.2.1.	Sensitivität und Spezifität der anti-HO-2- und anti-HO-3-Antikörper	36
3.2.2.	HO-2 in Rattenorganen	40
3.2.3.	Charakterisierung des vom anti-HO-3-Antikörper erkannten Proteins	41
3.2.3.1.	Immunblots von Rattenorganen mit dem anti-HO-3-Antikörper	41
3.2.3.2.	Immunblots von Skelettmuskeln des Hamsters mit dem anti-HO-3-Antikörper	42
3.2.3.3.	Immunblots von Skelettmuskeln von C 57-Maus sowie NOS-1- und NOS-3-KO-Maus mit dem anti-HO-3-Antikörper	42
3.2.3.4.	Biochemische Charakterisierung des vom anti-HO-3-Antikörper erkannten Proteins	43
3.3.	Immunhistochemische und katalytisch histochemische Untersuchungen der sGC, NOS-1, NOS-3, HO-2 und BVR in Skelettmuskeln	48
3.3.1.	sGC-Untereinheiten in Skelettmuskeln der Ratte	48
3.3.2.	sGC-Untereinheiten in Skelettmuskeln des Hamsters	49
3.3.3.	NOS-1 in Skelettmuskeln der Ratte	50
3.3.4.	NOS-3 in der Skelettmuskeln der Ratte	51
3.3.5.	HO-2 in Skelettmuskeln der Ratte	51
3.3.6.	Histochemischer Nachweis von HO-2 und NOS-1 durch Immun- histochemie bzw. katalytische Histochemie	52
3.3.7.	HO-3 in Skelettmuskeln der Ratte	54
3.3.8.	BVR in Skelettmuskeln der Ratte	54
4.	Diskussion	56
4.1.	Expression und Lokalisation der sGC	56
4.2.	Expression und Lokalisation der NOS-1	58
4.3.	Expression und Lokalisation der NOS-3.....	62
4.4.	Expression und Lokalisation der HO-2	62
4.5.	Expression der HO-3	65

4.6.	Expression und Lokalisation der BVR	67
5.	Zusammenfassung.....	67
6.	Literatur	70
Anhang:		
7.	Danksagungen.....	96
8.	Lebenslauf	97