

Aus dem Institut für Pathologie
der Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Expressionsanalyse der potenziellen
Tumor-Suppressor-Gene
H-REV107-2 / TIG 3 & MUC18 / Mel-CAM
in humanen Ovarialkarzinom-Zelllinien und
Ovarialkarzinomen

Zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae
(Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité –
Universitätsmedizin Berlin

von

Tobias Kellner
aus Heilbad Heiligenstadt

Gutachter: 1.: Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Chr. Sers

2.: Priv.-Doz. Dr. Chr. Falk

3.: Prof. Dr. med. R. Knüchel-Clarke

Datum der Disputation: 9. Juli 2007

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	5
1.1. Ovarialkarzinome	5
1.2. Molekulare Veränderungen in Ovarialkarzinomen	6
1.2.1. Klasse I Tumor-Suppressor-Gene	7
1.2.2. Klasse II Tumor-Suppressor-Gene	8
1.3. <i>H-REV107-2 / TIG3</i>	8
1.3.1. Struktur von <i>H-REV107-2</i>	9
1.3.2. Regulation der <i>H-REV107-2</i> Expression	10
1.3.3. Expressionsprofil von <i>H-REV107-2</i>	10
1.3.4. Der Einfluss von <i>H-REV107-2</i> auf die Zellproliferation	10
1.4. <i>MUC18 / Mel-CAM</i>	11
1.4.1. Funktion und Regulation der Expression von <i>MUC18</i>	11
1.4.2. <i>MUC18</i> Funktion und Expression in Tumoren	11
1.5. Ziel der vorliegenden Arbeit	12
2. Materialien und Methoden	14
2.1. Zellkultur	14
2.2. RNA-Präparation	15
2.3. Northern Blotting	16
2.4. Northern Hybridisierung	17
2.4.1. Gewinnung der cDNA-Sonden	17
2.4.2. DNA-Extraktion aus Agarose-Gelen	18
2.4.3. Radioaktive Markierung der Sonden	18
2.4.4. Hybridisierung	19
2.5. Herstellung der Expressionsvektoren	20
2.5.1. Linearisierung	20
2.5.2. Dephosphorylierung	21
2.5.3. Ligation	21

2.5.4. Transformation	22
2.6. Plasmid-DNA-Präparation	23
2.6.1. Plasmid-DNA-Maxi-Präparation.....	23
2.6.2. Plasmid-DNA-Mini-Präparation	24
2.7. Koloniewachstums-Assay	25
2.7.1. Transfektionen.....	25
2.7.2. Selektion.....	25
2.7.3. Färbung, Auszählung und Auswertung.....	26
2.8. Gewinnung stabil exprimierender Klone.....	26
3. Ergebnisse	27
3.1. Analyse der <i>H-REV107-2</i> Expression	27
3.1.1. <i>H-REV107-2</i> Expression in Ovarialepithel- und Ovarialkarzinom-Zelllinien	27
3.1.2. <i>H-REV107-2</i> Expression in Ovarialkarzinomen	29
3.2. Analyse der <i>MUC18</i> Expression	32
3.2.1. <i>MUC18</i> Expression in Ovarialepithel- und Ovarialkarzinom-Zelllinien	32
3.2.2. <i>MUC18</i> Expression in Ovarialkarzinomen	34
3.3. Koloniewachstums-Assay	35
3.3.1. Einfluss einer <i>H-REV107-2</i> Überexpression auf die Zellproliferation.....	37
3.3.2. Einfluss einer <i>MUC18</i> Überexpression auf die Zellproliferation.....	40
3.4. Herstellung stabil exprimierender Klone.....	42
4. Diskussion	44
4.1. <i>H-REV107-2</i> / <i>TIG3</i>	44
4.2. <i>MUC18</i> / <i>Mel-CAM</i>	50
5. Zusammenfassung.....	54
6. Literaturverzeichnis.....	56
7. Anhang	68

7. Anhang

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Zuallererst und ganz besonders möchte ich Frau PD Dr. rer. nat. Christine Sers für die Überlassung des Themas, die hervorragende Betreuung, die zahlreichen Anregungen und Diskussionen während der Entstehung dieser Arbeit und die kritische Durchsicht der Manuskripte danken.

Herrn Prof. Dr. rer. nat. Reinhold Schäfer danke ich für die vielen wichtigen Ratschläge und Hinweise während meiner Arbeit im Labor.

Ich bedanke mich bei allen medizinisch-technischen Assistentinnen des Labors für Molekulare Tumorpathologie, insbesondere bei Jana Keil für das ausgezeichnete Einarbeiten im gesamten Labor und das freundliche sowie geduldige Beantworten jeder meiner Fragen.

Weiter möchte ich mich bei Michaela Heitmann, Irina Nazarenko, Artur Gontarewicz und Steffen Reich sowie allen anderen Mitdoktoranten bedanken, die mir mit Rat und Tat zur Seite gestanden haben.

Tino Moritz, Uta Schubert, Martina Ziemann und meiner Frau Diana danke ich für das geduldige und wertvolle Korrekturlesen meiner Arbeit.

Meinen Eltern gilt mein tiefstempfunder Dank für all das, was sie mir ermöglicht haben und für das, was mir dadurch erst möglich wird.

Streitholz im August 2006

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.

Erklärung

Ich, Tobias Kellner, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema:

„Expressionsanalyse der potenziellen Tumor-Suppressor-Gene
H-REV107-2/TIG3 & MUC18/Mel-CAM
in humanen Ovarialkarzinom-Zelllinien und Ovarialkarzinomen“

selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

Datum

Unterschrift