

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

<b>1. Einleitung</b> .....	<b>5</b>
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</i> / <i>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</i> / <i>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
<b>2. Materialien und Methoden</b> .....	<b>14</b>
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
<b>3. Ergebnisse .....</b>	<b>27</b>
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
<b>4. Diskussion .....</b>	<b>44</b>
4.1. <i>H-REV107-2</i> / <i>TIG3</i> .....	44
4.2. <i>MUC18</i> / <i>Mel-CAM</i> .....	50
<b>5. Zusammenfassung.....</b>	<b>54</b>
<b>6. Literaturverzeichnis.....</b>	<b>56</b>
<b>7. Anhang .....</b>	<b>68</b>

## **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