

<b>VERÖFFENTLICHUNGEN.....</b>	<b>V</b>
<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>VI</b>
<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....</b>	<b>IX</b>
<b>TABELLENVERZEICHNIS .....</b>	<b>XI</b>
<b>1 EINLEITUNG UND ZIELE DER ARBEIT .....</b>	<b>1</b>
<b>2 LITERATURÜBERSICHT .....</b>	<b>4</b>
<b>2.1 Funktionelle Histologie des Hodens .....</b>	<b>4</b>
2.1.1 Keimzellen .....	4
2.1.1.1 Ursprung .....	5
2.1.1.2 Spermatogenese .....	5
2.1.1.3 Kinetik der Spermatogenese .....	7
2.1.1.4 Hormonelle Regulation der Spermatogenese .....	9
2.1.2 Sertoli Zellen.....	10
2.1.2.1 Ursprung.....	10
2.1.2.2 Funktionen und Eigenschaften.....	10
2.1.2.3 Proliferation und Differenzierung.....	13
2.1.2.4 Regulation der Proliferation und Differenzierung .....	14
2.1.2.5 Biochemische Differenzierungsmarker und Zell-spezifische Marker .....	14
2.1.2.6 Veränderte Differenzierung bei testikulären Störungen .....	19
<b>2.2 Gap Junctions und Connexine .....</b>	<b>21</b>
2.2.1 Aufbau und Funktionen von Gap Junction-Kanälen.....	21
2.2.2 Connexine – die Proteine der Gap Junctions .....	23
2.2.2.1 Nomenklatur .....	23
2.2.2.2 Proteinstruktur und Lokalisation .....	24
2.2.2.3 Genstruktur und Expression .....	25
2.2.3 Permeabilität von Gap Junction-Kanälen.....	26
2.2.4 Lebenszyklus von Gap Junctions .....	27
2.2.5 Gap Junction- und Connexin-Expression im Hoden .....	29
2.2.6 Connexin 43 im Keimepithel verschiedener Spezies .....	31
2.2.7 Connexin 43 und transgene Mausmodelle .....	32
2.2.7.1 Konstitutive Connexin 43-Knockout-Mäuse .....	32
2.2.7.2 Konstitutive Connexin 43-Knockin-Mäuse .....	34

2.2.7.3	Konditionale (Zell-spezifische) Connexin 43-Knockout-Mäuse.....	34
2.2.8	Rolle und Funktionen von Connexin 43 im Keimepithel.....	38
<b>3</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN.....</b>	<b>41</b>
<b>3.1</b>	<b>Versuchsstiere .....</b>	<b>41</b>
3.1.1	Versuchstierhaltung .....	41
3.1.2	Generierung der SCCx43KO-Mäuse .....	41
3.1.3	PCR-Genotypisierung .....	42
3.1.4	Bestätigung der PCR-Genotypisierungsergebnisse.....	45
3.1.5	Probengewinnung.....	46
3.1.6	Versuchsdesign und eingesetzte Maushoden .....	46
<b>3.2</b>	<b>Herstellung von Paraffinschnitten.....</b>	<b>49</b>
3.2.1	Fixierung in Bouin oder 10 % NBF.....	49
3.2.2	Entwässerung und Einbettung.....	50
3.2.3	Beschichtung der Objektträger mit APES .....	50
3.2.4	Mikrotomie .....	51
<b>3.3</b>	<b>Hämatoxylin-Eosin-Färbung .....</b>	<b>51</b>
<b>3.4</b>	<b>Immunhistochemie .....</b>	<b>52</b>
3.4.1	Allgemeine Vorbemerkung .....	52
3.4.2	Vimentin.....	53
3.4.3	Anti-Müller-Hormon.....	55
3.4.4	Androgenrezeptor .....	56
3.4.5	GATA-1.....	56
3.4.6	3 $\beta$ -Hydroxysteroid-Dehydrogenase .....	56
3.4.7	Ki-67 .....	57
3.4.8	$\beta$ -Galaktosidase.....	57
3.4.9	Mikroskopische Auswertung und Dokumentation .....	58
<b>3.5</b>	<b>TUNEL-Färbung .....</b>	<b>58</b>
<b>3.6</b>	<b>Extraktion und Isolation von RNA und Proteinen aus Gefriermaterial ...</b>	<b>60</b>
3.6.1	Allgemeine Vorbemerkung und Gefrierfixierung .....	60
3.6.2	Extraktion und Isolation mittels TRIzol®-Reagenz.....	60
<b>3.7</b>	<b>DNase-Verdau und cDNA-Synthese (RT-PCR) .....</b>	<b>64</b>

3.7.1	Allgemeine Vorbemerkung .....	64
3.7.2	DNase-Verdau und cDNA-Synthese.....	64
3.7.3	Überprüfung des DNase-Verdaus und der RT-PCR.....	66
3.7.4	Aufreinigung der cDNA.....	67
<b>3.8</b>	<b>Western Blot-Analyse.....</b>	<b>68</b>
3.8.1	Allgemeine Vorbemerkung .....	68
3.8.2	Probenvorbereitung .....	69
3.8.3	Gelelektrophorese .....	69
3.8.4	Elektroblotting.....	70
3.8.5	Nachweisreaktion für Anti-Müller-Hormon und GATA-1 .....	70
3.8.6	Dokumentation.....	72
<b>3.9</b>	<b>Real-Time PCR .....</b>	<b>72</b>
3.9.1	Allgemeine Vorbemerkung .....	72
3.9.2	Generierung der Primer .....	73
3.9.3	Bestimmung der exakten Effizienzen und Schmelzkurvenanalyse .....	73
3.9.4	Genexpressionsvergleich für Anti-Müller-Hormon und GATA-1.....	75
3.9.5	Sequenzierung der PCR-Produkte .....	76
3.9.6	Statistische Analyse.....	78
<b>3.10</b>	<b>Semidünnsschnitte und Transmissionselektronenmikroskopie .....</b>	<b>79</b>
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE.....</b>	<b>81</b>
<b>4.1</b>	<b>Differenzierungszustand von Sertoli Zellen in SCCx43KO-Mäusen.....</b>	<b>81</b>
4.1.1	Differenzierung auf biochemischer Ebene .....	81
4.1.1.1	Vimentin.....	81
4.1.1.2	Anti-Müller-Hormon .....	82
4.1.1.3	Androgenrezeptor.....	84
4.1.1.4	GATA-1.....	86
4.1.2	Differenzierung auf morphologischer Ebene.....	88
<b>4.2</b>	<b>Intratubuläre Zellcluster in SCCx43KO-Mäusen.....</b>	<b>89</b>
4.2.1	Zusammensetzung und Differenzierung .....	89
4.2.2	Apoptose .....	91
4.2.3	Zeitpunkt des Auftretens .....	92
<b>5</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>93</b>

<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>102</b>
<b>7</b>	<b>SUMMARY.....</b>	<b>105</b>
<b>8</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>107</b>
<b>9</b>	<b>ANHANG.....</b>	<b>127</b>
<b>9.1</b>	<b>Stoffe und Reagenzien .....</b>	<b>127</b>
<b>9.2</b>	<b>Antikörper.....</b>	<b>129</b>
<b>9.3</b>	<b>Hergestellte Puffer und Lösungen .....</b>	<b>130</b>
<b>9.4</b>	<b>Geräte .....</b>	<b>133</b>
<b>9.5</b>	<b>Gerätezubehör und sonstiges Material.....</b>	<b>134</b>
<b>9.6</b>	<b>Software.....</b>	<b>134</b>
	<b>ERKLÄRUNG.....</b>	<b>135</b>
	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>136</b>