

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

1 Einleitung	1
2 Literaturübersicht	4
2.1 Der Erreger.....	4
2.2 Das zelluläre Prion-Protein (PrPc).....	10
2.3 Speziesbarriere und Übertragung.....	11
2.4 Neuropathologie.....	13
2.5 Transmissible Spongiforme Enzephalopathien bei Tieren	14
2.5.1 Scrapie	14
2.5.2 Bovine Spongiforme Enzephalopathie (BSE).....	17
2.5.3 Transmissible Enzephalopathie der Nerze (Transmissible Mink Encephalopathy, TME).....	21
2.5.4 Chronisch Zehrende Krankheit (Chronic Wasting Disease, CWD).....	21
2.5.5 Weitere TSE bei Tieren.....	22
2.6 Transmissible Spongiforme Enzephalopathien bei Menschen	23
2.6.1 Kuru	23
2.6.2 Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (Creutzfeldt Jakob Disease, CJD)	25
2.6.2.1 Klassische CJD	25
2.6.2.2 Neue Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (variant Creutzfeldt Jakob Disease, vCJD).....	26
2.6.3 Gerstmann-Sträussler-Syndrom (GSS)	28
2.6.4 Fatale Familiäre Insomnie (FFI)	28
3 Material und Methoden	29
3.1 Material	29
3.1.1 Puffer und Lösungen	29
3.1.1.1 Puffer und Lösungen für die Histologie/Immunhistochemie	29
3.1.1.2 Puffer und Lösungen für proteinanalytische Methoden	30
3.1.1.3 Puffer und Lösungen für RNA/DNA	32
3.1.2 Antikörper	34

3.1.3 Marker	34
3.1.4 Enzyme	34
3.1.5 Kits	35
3.1.6 Chemikalien	35
3.1.7 Geräte und Laborhilfsmittel	37
3.2 Methoden	40
3.2.1 Versuchstiere	40
3.2.2 Herstellung des Gehirnhomogenates und Berechnung des Infektiositätstiters	40
3.2.3 Inokulation	40
3.2.4 Klinische Überwachung	41
3.2.5 Probenentnahme	41
3.2.6 Histologie und Immunhistochemie	43
3.2.6.1 Einbettung.....	43
3.2.6.2 Anfertigen von histologischen Schnitten.....	43
3.2.6.3 Deparaffinisierung.....	43
3.2.6.4 Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE-Färbung)	44
3.2.6.5 Immunhistochemie	44
3.2.6.5.1 Nachweis des Glial Acidic Fibrillary Protein (GFAP).....	44
3.2.6.5.2 Nachweis von PrPsc	45
3.2.6.6 Entwässerung und Eidecken.....	46
3.2.6.7 Beurteilung der Vakuolisierung	46
3.2.6.8 Beurteilung der Astrozytose	48
3.2.6.9 Beurteilung der PrPsc-Ablagerungen	48
3.2.7 Proteinbiochemische Methoden	49
3.2.7.1 Herstellung der Homogenate.....	49
3.2.7.2 Bestimmung des Gesamtproteinangehaltes.....	50
3.2.7.3 Proteinase K-Behandlung	50
3.2.7.4 Natriumphosphorwolframsäure (NaPTA)-Fällung	51
3.2.7.5 SDS-PAGE	51
3.2.7.6 Western Blot Analyse.....	52
3.2.8 Expressionsanalysen.....	52
3.2.8.1 Isolierung der RNA aus Gehirngewebe.....	52
3.2.8.2 RNA-Agarosegelektrophorese.....	53

3.2.8.3 Northern-Transfer	53
3.2.8.4 Hybridisierung	54
3.2.8.5 Autoradiographie	54
3.2.8.6 Reverse Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion (Reverse Transcriptase- Polymerase Chain Reaction, RT-PCR)	55
3.2.8.7 Gelelektrophoretische Analyse der PCR-Produkte	55
3.2.8.8 Densitometrie	56
4 Ergebnisse.....	57
4.1 Klinische Beurteilung der Mäuse.....	57
4.1.1 Intrazerebrale Inokulation (ic-Inokulation).....	57
4.1.1.1 Krankheitsverlauf	57
4.1.1.2 Klinische Symptome	58
4.1.2 Intraperitoneale Inokulation (ip-Inokulation).....	60
4.1.2.1 Krankheitsverlauf.....	60
4.1.2.2 Klinische Symptome	61
4.1.3 Orale Inokulation.....	63
4.1.3.1 Krankheitsverlauf	63
4.1.3.1.1 Orale Inokulation mit 1%igem Gehirnhomogenat	63
4.1.3.1.2 Orale Inokulation mit 10%igem Gehirnhomogenat	64
4.1.3.2 Klinische Symptome	65
4.1.4 Zusammenfassung	67
4.2 Beurteilung der Vakuolisierung.....	68
4.2.1 Intrazerebrale Inokulation (ic-Inokulation).....	69
4.2.2 Intraperitoneale Inokulation (ip-Inokulation).....	72
4.2.3 Orale Inokulation.....	76
4.2.4 Zusammenfassung	79
4.3 Beurteilung der Astrozytose.....	81
4.3.1 Intrazerebrale Inokulation (ic-Inokulation).....	82
4.3.1.1 Immunhistochemie (IHC).....	82
4.3.1.2 RT-PCR	85
4.3.1.3 Northern Blothybridisierung	90
4.3.2 Intraperitoneale Inokulation (ip-Inokulation).....	93
4.3.2.1 Immunhistochemie (IHC).....	93

4.3.2.2 RT-PCR	96
4.3.2.3 Northern Blothybridisierung	98
4.3.3 Orale Inokulation.....	101
4.3.3.1 Immunhistochemie (IHC).....	101
4.3.3.2 RT-PCR	104
4.3.3.3 Northern-Blothybridisierung	106
4.3.4 Zusammenfassung	108
4.4 Nachweis von PrPsc.....	110
4.4.1 Intrazerebrale Inokulation (ic-Inokulation).....	112
4.4.1.1 PrPsc-Nachweis nach Immunhistochemie (IHC).....	112
4.4.1.2 Western Blot.....	117
4.4.2 Intraperitoneale Inokulation (ip-Inokulation).....	119
4.4.2.1 PrPsc-Nachweis nach Immunhistochemie (IHC).....	119
4.4.2.2 Western Blot.....	123
4.4.3 Orale Inokulation.....	126
4.4.3.1 PrPsc-Nachweis nach Immunhistochemie (IHC).....	126
4.4.3.2 Western Blot.....	128
4.4.4 Zusammenfassung	130
5 Diskussion.....	131
5.1 Klinischer Verlauf.....	131
5.1.1 Inkubationszeiten	131
5.1.2 Symptome.....	133
5.2 Vakuolisierung.....	136
5.3 Astrozytose.....	138
5.4 PrPsc.....	140
6 Zusammenfassung	145
7 Summary	147
8 Literaturverzeichnis	149