

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungen.....</b>	<b>3</b>
<b>1 Einleitung und Literaturübersicht .....</b>	<b>5</b>
1.1 Bovine Plazenta .....	5
1.1.1 Bovine Plazenta – Einteilung und Besonderheiten.....	5
1.1.2 Das bovine Plazentom – Aufbau .....	7
1.1.3 Bovine Karunkel-Epithel-Zelllinie 1 (BCEC-1) .....	7
1.1.4 Veterinärmedizinische Bedeutung des Zellmodells BCEC-1 .....	10
1.2 Transport.....	13
1.2.1 Membranständige Transportsysteme - Allgemeines .....	13
1.2.2 ABC-Transporter .....	14
1.3 MDR1 in der Plazenta .....	24
1.4 Zielsetzung der Arbeit .....	25
<b>2 Material und Methoden .....</b>	<b>27</b>
2.1 Zellkultur.....	27
2.1.1 Kultivierung im Transwell-System .....	29
2.2 mRNA-Nachweis mittels Reverse-Transkriptase-PCR (RT-PCR).....	30
2.2.1 RNA-Extraktion aus Zellen und Gewebe.....	30
2.2.2 Konzentrationsbestimmung der RNA .....	32
2.2.3 Reverse Transkription .....	33
2.2.4 Polymerase-Ketten-Reaktion .....	35
2.2.5 Gelelektrophorese.....	37
2.2.6 Aufreinigung der DNA und Sequenzierung .....	37
2.3 Immunfluoreszenz-Untersuchung: Nachweis und Lokalisierung von P-Glycoprotein in BCEC-1 .....	39
2.3.1 Protokoll für die Immunfluoreszenz .....	40
2.3.2 Verwendete Antikörper und Kontrollen.....	41
2.3.3 Auswertung und Dokumentation .....	42
2.4 Rhodamin-Assay: Analyse der Funktionalität von MDR-1 in BCEC-1 mittels FACS .....	42
2.4.1 Protokoll für den Rhodamin-Assay .....	44
2.4.2 Auswertung und Dokumentation .....	50

2.5	Transportassay: Analyse der Funktionalität von MDR-1 in BCEC-1 mittels $^3\text{H}$ -Digoxin .....	51
2.5.1	Protokoll für die Transportmessungen .....	51
2.5.2	Protokoll für die Blockierung des Digoxin-Transportes.....	53
2.5.3	In der Transportmessung eingesetzte Konzentrationen .....	55
2.5.4	Dokumentation und Auswertung .....	55
<b>3</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>57</b>
3.1	Ergebnisse der RT-PCR.....	57
3.2	Ergebnisse der Immunfluoreszenz .....	58
3.3	Ergebnisse des Rhodamin-Assays.....	60
3.4	Ergebnisse des Transport-Assays.....	62
3.4.1	TEER-Messungen .....	62
3.4.2	Digoxin-Transport.....	63
3.4.3	Blockierung des Digoxin-Transportes .....	65
<b>4</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>67</b>
4.1	Lokalisierung von P-Glycoprotein.....	67
4.2	Beteiligung der drei ABC-Transporter P-gp, MRP1 und BCRP am Rhodamin-Transport .....	68
4.3	Transport von radioaktiv markiertem Digoxin .....	71
4.4	BCEC-1 als in vitro Modell für plazentaren Transport .....	73
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>77</b>
<b>6</b>	<b>Summary .....</b>	<b>79</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>81</b>
<b>8</b>	<b>Anhang .....</b>	<b>93</b>
8.1	Lösungen und Puffer .....	93
8.2	Material .....	98
8.3	Abbildungsverzeichnis.....	103
8.4	Tabellenverzeichnis.....	104
8.5	Abstracts und Präsentationen .....	105
8.6	Danksagung .....	106
8.7	Erklärung .....	108