

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	I
Abkürzungen.....	III
1 Einleitung.....	1
1.1 Stammzellen.....	1
1.2 Kardiomyozyten.....	4
1.3 Zellzyklus.....	7
1.4 kardiale Transkriptionsfaktoren und Wachstumsfaktoren.....	9
1.5 Reaktive Sauerstoffspezies (ROS).....	10
1.5.1 NADPH-Oxidase.....	14
1.5.2 ROS im kardiovaskulären System.....	17
2 Zielsetzung der Arbeit.....	19
3 Material.....	20
3.1 Firmen.....	20
3.2 Geräte und Laborbedarf.....	21
3.3 Medien und Chemikalien.....	22
3.4 Antikörper.....	24
3.5 Primer.....	25
3.6 Medien, Puffer.....	26
3.6.1 Medien.....	26
3.6.2 Puffer.....	27
3.6.3 Substanzen.....	28
4 Methoden.....	29
4.1 Zellkultur embryonaler Stammzellen.....	29
4.1.1 Feeder-Zellen.....	29
4.1.2 Stammzellen.....	30
4.2 Gewinnung der Kardiomyozyten.....	32
4.2.1 Isolation embryonaler Kardiomyozyten aus Stammzellen:.....	32
4.2.2 Isolation neonataler Kardiomyozyten:.....	32
4.3 Behandlung der Zellen mit verschiedenen Substanzen.....	33
4.4 Immunzytochemische Färbungen.....	33
4.5 Nachweis reaktiver Sauerstoffspezies (ROS).....	35

4.6	Konfokale Lasermikroskopie	35
4.7	Polymerase-Kettenreaktion (PCR)	38
4.7.1	Isolation der RNA	38
4.7.2	cDNA-Synthese	39
4.7.3	Quantitative PCR	40
4.8	Durchflusszytometrie	41
4.9	Statistik	42
5	Ergebnisse	43
5.1	Isolation neonataler Kardiomyozyten	43
5.2	Proliferationsfähigkeit der Kardiomyozyten	45
5.3	Konzentrationsbestimmung des H_2O_2	51
5.4	Inkubationszeit mit H_2O_2	53
5.5	Stimulation der Proliferation von Kardiomyozyten durch ROS	54
5.6	Einfluss der Behandlung mit H_2O_2 auf die Expression der NADPH-Oxidase	60
5.7	Stimulation der Kardiomyogenese durch ROS	64
5.8	Untersuchung der Kardiomyozytenproliferation durch FACS-Analyse und mikroskopische Bestimmung	65
5.9	Untersuchung herzspezifischer Gene	68
5.10	Redoxregulation herzspezifischer Transkriptionsfaktoren und des Wachstumsfaktors BMP-10	69
6	Diskussion	73
7	Zusammenfassung	82
8	Summary	83
9	Literaturübersicht	84
	Danksagung	103