

Aus dem Institut für Veterinär-Anatomie, -Histologie und Embryologie
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. Klaus Steger

Die Rolle der Histonacetylierung für den Histon- Protamin-Austausch während der Spermiogenese von Mensch und Maus

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines

Dr. med. vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

Violetta Sonnack

Tierärztin aus Torun, Polen

Giessen 2007

Gefördert durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft
(STE 892/3-1,2)

Inhaltverzeichnis

1. EINLEITUNG UND ZIELE	1
2. LITERATURÜBERSICHT	3
2.1. Bau des Hodens und Ablauf der Spermatogenese.....	3
2.1.1. Das Keimepithel	3
2.1.1.1. Sertoli-Zellen	3
2.1.1.2. Keimzellen	5
2.1.2. Leydig-Zellen	6
2.1.3. Stadien der Spermatogenese	7
2.1.3.1. Mensch	8
2.1.3.2. Maus	10
2.1.4. Hormonelle Regulation der Spermatogenese	13
2.2. Histon-Protamin-Austausch während der Spermiogenese.....	15
2.2.1. Histone	16
2.2.2. Protamine	19
2.3. Regulation des Histon-Protamin-Austausches.....	20
2.3.1. Regulation der Protaminexpression.....	20
2.3.2. Histon-Code	21
2.4. Störungen der Spermatogenese	26
3. MATERIAL UND METHODEN.....	29
3.1. Material/Gewebe.....	29
3.1.1. Humane Hodenbiopsien	29
3.1.2. Versuchstiere	30
3.2. Methoden.....	31
3.2.1. Tierversuch	31
3.2.1.1. Tierhaltung	31
3.2.1.2. Tierbehandlung	32
3.2.2. Paraffinmaterial	36
3.2.3. Immunhistochemie	39
3.2.4. In situ Hybridisierung	42
3.2.4.1. Herstellung der Sonden	43
3.2.4.2. In situ Hybridisierungs-Protokoll	53
3.2.5. TUNEL	58
3.2.6. Lichtmikroskopie und Auswertung	61
3.2.6.1. Humanes Gewebe	61
3.2.6.2. Murines Gewebe	61
3.2.7. Western Blot	63
3.2.7.1. Extraktion von Histonen aus Gefriermaterial	63
3.2.7.2. Western Blot Protokoll	64
3.2.8. Statistische Auswertung	69

4. ERGEBNISSE.....	71
4.1. Humanes Gewebe	71
4.1.1. Western Blot Analyse	71
4.1.2. Immunhistochemie	72
4.1.2.1. Normale Spermatogenese	72
4.1.2.2. Gestörte Spermatogenese	75
4.1.3. Ergebnisse der statistischen Analyse bezüglich des Gruppenvergleichs.....	78
4.2. Murines Gewebe	79
4.2.1. Histologie	81
4.2.1.1. Gruppe 1 (Kontrolle)	81
4.2.1.2. Gruppe 2 (0.8 mg TSA/kg).....	82
4.2.1.3. Gruppe 3 (1.6 mg TSA/kg).....	83
4.2.1.4. Gruppe 4 (2.4 mg TSA/kg).....	84
4.2.1.5. Gruppe 5 (3.2 mg TSA/kg).....	85
4.2.2. In situ Hybridisierung.....	87
4.2.3. Immunhistochemie	88
4.2.3.1. Immunhistochemie gegen hyperacetyliertes Histon H4	88
4.2.3.2. PCNA-Immunhistochemie	90
4.2.4. Analyse der Apoptose.....	91
4.2.5. Ergebnisse des Fertilisierungsversuchs	93
4.2.6. Statistische Analyse.....	94
5. DISKUSSION	96
6. ZUSAMMENFASSUNG	106
7. SUMMARY	108
8. LITERATURVERZEICHNIS	110
9. ANHANG.....	128
Chemikalien, Reagenzien, Antikörper, Behandlungsmaterial, Verbrauchsmaterialien und Geräte	128
10. DANKSAGUNG	132