

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG.....	1
1.1	DIE MURINE GLANDULA PAROTIDEA.....	2
1.2	ENTWICKLUNG DER METHODIK.....	4
1.3	PEROXISOMALE BIOGENESE.....	4
1.4	FUNKTIONEN VON PEROXISOMEN	6
1.5	B -OXIDATION.....	7
1.6	BIOSYNTHETISCHE WEGE DES CHOLESTERINS IN SÄUGETIERZELLEN	9
1.7	BIOSYNTHESE VON ETHERPHOSPHOLIPIDEN IN PEROXISOMEN.....	12
1.8	OXIDATIVER STRESS	12
1.9	ZIELSETZUNG	14
2	MATERIAL UND METHODEN.....	15
2.1	VERSUCHSTIERE, PATIENTEN, GERÄTE, MATERIALIEN UND SOFTWARE	15
2.1.1	VERSUCHSTIERE.....	15
2.1.2	GEWEBEENTNAHME DER HUMANEN OHRSPEICHELDRÜSEN	15
2.1.3	LABORGERÄTE	16
2.1.4	VERBRAUCHSMATERIALIEN	17
2.1.5	CHEMIKALIEN	18
2.1.6	MOLEKULARBIOLOGISCHE-REAGENZSÄTZE	20
2.1.7	PRIMER	21
2.1.8	ANTIKÖRPER	24
2.1.9	SOFTWARE	26
2.2	METHODIKENTWICKLUNG.....	26
2.2.1	VERGLEICH VON METHODEN ZUR DISSEKTION, PERFUSION UND FIXIERUNG DER MURINEN PAROTIS	26
2.2.2	VERGLEICH VON METHODEN ZUR FIXIERUNG DER HUMANEN PAROTIS	26
2.2.3	VERGLEICH VERSCHIEDENER METHODEN ZUR RNA-EXTRAKTION	27
2.3	FIXIERUNG UND VORBEREITUNG DES GEWEBES	27
2.4	PARAFFINEINBETTUNG	28
2.5	PARAFFINSCHNITTE	29
2.6	HÄMATOXYLIN-EOSIN (HE)-FÄRBUNG	29

2.7	ANFERTIGUNG VON IMMUNFLUORESCENZ-FÄRBUNGEN.....	30
2.7.1	ENTPARAFFINIERUNG UND REHYDRIERUNG	30
2.7.2	ANTIGENFREILEGUNG UND ANTIGENWIEDERHERSTELLUNG	30
2.7.3	ANTIKÖRPER-EINSATZ	31
2.7.4	EINBETTEN DER PRÄPARATE	31
2.8	FLUORESCENZMIKROSKOPIE	32
2.9	ELEKTRONENMIKROSKOPIE	32
2.9.1	EINBETTUNG FÜR DIE ELEKTRONENMIKROSKOPIE	32
2.9.2	ZYTOCHEMISCHE LOKALISIERUNG DER KATALASE-AKTIVITÄT MIT DER ALKALISCHEN DAB-METHODE	32
2.9.3	„POSTEMBEDDING“ IMMUNELEKTRONENMIKROSKOPIE	33
2.10	RNA-ISOLIERUNG.....	34
2.11	cDNA-SYNTHESE.....	34
2.12	QUANTITATIVE REVERSE TRANSKRIPTASE-POLYMERASE-KETTENREAKTION (qRT-PCR)	34
2.13	HOMOGENISIERUNG DER OHRSPEICHELDRÜSEN ZUR GEWINNUNG VON GEWEBELYSATEN FÜR DAS WESTERN BLOTTING.....	35
2.14	BCA ASSAY	35
2.15	WESTERN BLOTTING	35
2.15.1	PROBENVORBEREITUNG.....	35
2.15.2	GELELEKTROPHORESE	36
2.15.3	ELEKTROBLOTTING.....	36
2.15.4	ANTIKÖRPEREINSATZ	36
2.15.5	STRIPPEN DER MEMBRANEN	37
2.16	STATISTISCHE AUSWERTUNG	37
3	ERGEBNISSE.....	38
3.1	METHODIKENTWICKLUNG.....	38
3.1.1	METHODE ZUR DISSEKTION UND PERFUSION DER MURINEN PAROTIS	39
3.1.2	QUALITÄT VON MURINER UND HUMANER RNA AUS GEWEBE MIT VERSCHIEDENEN METHODEN DER VORBEHANDLUNG UND EXTRAKTION	41
3.2	IDENTIFIKATION DES MURINEN OHRSPEICHELDRÜSENGEWEBES UNTER EINSATZ VON PSP ALS MARKERPROTEIN	45

3.3	VERTEILUNG, STRUKTUR UND ZUSAMMENSETZUNG VON PEROXISOMEN IN DER GLANDULA PAROTIDEA	48
3.4	PEROXISOMALE B-OXIDATIONSENZYME.....	50
3.5	PLASMALOGEN- UND CHOLESTERINSYNTHEISIERENDE ENZYME IN DER MURINEN OHRSPEICHELDRÜSE.....	52
3.6	ULTRASTRUKTURELLE UND MIKROSKOPISCHE LOKALISIERUNG VON KATALASE UND ANTIOXIDATIVE ENZYME IN VERSCHIEDENEN ZELLTYPEN DER MURINEN OHRSPEICHELDRÜSE.....	54
3.7	ANTIOXIDATIVE ENZYME VERSCHIEDENER ZELLKOMPARTIMENTE UND ULTRASTRUKTURELLE IMMUNOZYTOCHEMISCHE LOKALISIERUNG VON SOD2	56
4	DISKUSSION.....	60
4.1	ETABLIERUNG EINER GEEIGNETEN PRÄPARATIONSMETHODE DER OHRSPEICHELDRÜSE UND DER ISOLIERUNG QUALITATIV HOCHWERTIGER RNA.....	60
4.2	MARKERPROTEINE FÜR DIE KORREKTE IDENTIFIZIERUNG DER OHRSPEICHELDRÜSE	62
4.3	PEROXISOMEN IN DER OHRSPEICHELDRÜSE.....	62
4.4	PEROXISOMALE B-OXIDATION, CHOLESTERIN- UND PLASMALOGENSYNTHESE IN DER OHRSPEICHELDRÜSE	64
4.5	DIE OHRSPEICHELDRÜSE ENTHÄLT EINEN HOHEN GEHALT AN ANTIOXIDATIVEN ENZYMEN IN VERSCHIEDENEN SUBZELLULÄREN KOMPARTIMENTEN.	66
4.6	BEDEUTUNG DER STUDIE, SCHLUSSFOLGERUNGEN UND AUSBLICK	68
5	ZUSAMMENFASSUNG.....	69
6	SUMMARY	70
7	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	71
8	ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	74
9	TABELLENVERZEICHNIS	76

10 LITERATURVERZEICHNIS	77
11 PUBLIKATIONSVERZEICHNIS.....	88
12 EHRENWÖRTLICHE ERKLÄRUNG	89
13 DANKSAGUNG	90
14 TABELLARISCHER LEBENSLAUF	92