

# INHALTSVERZEICHNIS

1.	<b>Zusammenfassung</b> .....	1
2.	<b>Einleitung</b> .....	3
2.1	Die TGF- $\beta$ -Familie.....	3
2.2	Die Struktur der BMPs.....	5
2.3	Signaltransduktion der BMPs.....	6
2.4	Regulation der BMP – Wirkung.....	9
2.5	Biologische Aktivitäten der BMPs.....	10
2.6	BMPs in Tumoren.....	11
2.7	Das Mammakarzinom.....	13
2.8	BMPs im Mammakarzinom.....	14
2.9	Bone Morphogenetic Protein-3 (BMP-3).....	14
2.10	Zielstellung der Arbeit.....	16
3.	<b>Material und Methoden</b> .....	17
3.1	Proteinanalytik.....	17
3.1.1	Immunhistochemie an paraffineingebetteten Mammakarzinom- präparaten und Multi Tissue Arrays.....	17
3.1.1.1	Parameter der Mammakarzinome.....	17
3.1.1.2	Multi Tissue Array.....	20
3.1.1.3	Die Avidin-Biotin-Komplex-Methode.....	21
3.1.1.4	Durchführung der Immunhistochemie.....	21
3.1.2	Western Blot.....	25
3.1.2.1	Proteinisolierung und Konzentrationsbestimmung.....	26
3.1.2.2	Auftrennung des Proteingemisches in der SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese.....	27
3.1.2.3	Elektrotransfer und Immundetektion der Proteine.....	28
3.2	Zellkultur.....	30
3.2.1	Zelllinien.....	30
3.2.2	Zellkultivierung.....	30
3.2.2.1	Auftauen der Zellen.....	31

3.2.2.2	Passagieren der Zellen.....	31
3.2.2.3	Einfrieren der Zellen.....	32
3.3	Durchführung der Inkubationsversuche.....	32
3.3.1	Zellzahlbestimmung.....	32
3.3.2	Versuchsaufbau der Inkubation.....	32
3.4	Molekularbiologische Methoden.....	33
3.4.1	RNA-Isolierung.....	33
3.4.2	Konzentrationsbestimmung von Nukleinsäuren.....	34
3.4.3	Reverse Transkription.....	35
3.4.4	rt-PCR.....	36
3.4.5	Auftrennung der PCR-Produkte mittels Agarosegelelektrophorese.....	37
3.4.6	realtime-PCR.....	38
3.4.6.1	Herstellung der Standards.....	38
3.4.6.2	Reaktionsansatz der realtime-PCR.....	42
3.5	Auswertung.....	43
4.	<b>Ergebnisse</b> .....	44
4.1	Immunhistochemie.....	44
4.1.1	Histologie der Mammakarzinome.....	44
4.1.2	Geschlechts- und Altersverteilung des Patientenkollektivs.....	45
4.1.3	TNM-Klassifikation der Mammakarzinome.....	46
4.1.4	Histologischer Differenzierungsgrad der Tumoren.....	47
4.1.5	Auswertung der Multi Tissue Arrays.....	48
4.1.6	Auswertung und Statistik.....	49
4.1.7	Auswertung BMP-2.....	50
4.1.7.1	Häufigkeit und Verteilung der BMP-2 Expression.....	50
4.1.7.1	Korrelationen der BMP-2 Expression.....	52
4.1.8	Auswertung BMP-3.....	54
4.1.8.1	Häufigkeit und Verteilung der BMP-3 Expression.....	54
4.1.8.1	Korrelationen der BMP-3 Expression.....	56
4.1.9	Die BMP-Expressionen im Vergleich.....	58
4.1.10	Auswertung phospho-Smad-1/5/8 und Synuclein $\gamma$ .....	59
4.1.10.1	Häufigkeit, Verteilung und Korrelationen von pSmad-1/5/8.....	60
4.1.10.2	Häufigkeit, Verteilung und Korrelationen von Synuclein $\gamma$ .....	62

4.1.11	Überlebenszeitanalysen.....	64
4.2	Charakterisierung von BMP-2 und BMP-3 überexprimierenden MCF-7 Zellen....	68
4.2.1	Darstellung der Zelllinien.....	68
4.2.2	Untersuchung der Genexpression.....	71
4.3	Inkubationsversuche mit rhBMP-2 und rhBMP-3l.....	72
4.3.1	Inkubationsversuche mit rhBMP-2.....	72
4.3.1.1	Morphologie der Zelllinien während der Inkubation mit rhBMP-2.....	72
4.3.1.2	Auswertung der realtime-PCR.....	74
4.3.1.2.1	Auswertung der Id-Gene.....	74
4.3.1.2.2	Auswertung Sky.....	77
4.3.1.2.3	Auswertung SNCG.....	78
4.3.2	Inkubationsversuche mit rhBMP-3l.....	79
4.3.2.1	Morphologie der Zelllinien während der Inkubation mit rhBMP-3.....	79
4.3.2.2	Auswertung der realtime-PCR.....	79
4.3.2.2.1	Auswertung der Id-Gene.....	79
4.3.2.2.2	Auswertung Sky.....	81
4.3.2.2.3	Auswertung SNCG.....	82
5.	<b>Diskussion</b> .....	83
6.	<b>Literaturverzeichnis</b> .....	i
7.	<b>Tabellenverzeichnis</b> .....	xiii
8.	<b>Abbildungsverzeichnis</b> .....	xv
9.	<b>Anhang</b> .....	xviii
	Primersequenzen	
	Einstellungen der rt-PCR-Programme	
	Wertetabellen der Inkubationen mit rhBMP-2	
	Wertetabellen der Inkubationen mit rhBMP-3l	
	Lebenslauf und Kongressbeiträge	
	Danksagung	
	Ehrenwörtliche Erklärung	