Inhaltsverzeichnis

ABBILDUNGSVERZEICHNIS	V
TABELLENVERZEICHNIS	VI
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	VII
<u>1. ZUSAMMENFASSUNG</u>	1
<u>2. EINLEITUNG</u>	3
2.1 FRAGESTELLUNG DER ARBEIT	3
2.2 DIE MERKELZELLE UND DAS MERKELZELLKARZINOM	3
2.2.1 Der anatomische Aufbau Der Haut	3
2.2.2 Die Merkelzelle	4
2.2.3 Das Merkelzellkarzinom	5
2.3 DIE PHOTOKARZINOGENESE	7
2.3.1 Physikalische Aspekte des UV-Lichtes bei der Karzinogenese von Hauttumoren	7
2.3.2 Biologische Aspekte des UV-Lichtes bei der Karzinogenese von Hauttumoren	10
2.3.3 Natürlicher Lichtschutz der Haut	13
2.4 DIE DNA-REPARATURMECHANISMEN	14
2.4.1 Nukleotid-Exzisionsreparatur (NER)	14
2.4.2 Mismatch-Reparatur-System (MMR)	16
2.4.2.1 Human MutS Homologon 2 (hMSH-2)	19

3. MATERIAL UND METHODIK	20
3.1 DER IMMUNHISTOCHEMISCHE NACHWEIS VON hMSH-2	20
3.1.1 Gewebe von Merkelzellkarzinomen	20
3.1.2 Puffer und Lösungen	20
3.1.3 Immunhistochemischer Nachweis von hMSH-2	22
3.1.3.1 Paraffinschnitte	22
3.1.3.2 Entparaffinieren	22
3.1.3.3 Mikrowellenbehandlung	23
3.1.3.4 Reaktion mit hMSH-2-Antikörper	23
3.1.3.5 Inkubation mit Sekundäantikörper	23
3.1.3.6 Inkubation mit Streptavidin	24
3.1.3.7 Optische Färbung	24
3.1.3.8 Negativkontrolle	24
3.1.4 Semiquantitative Auswertung	24
3.1.5 Fotografie	25
3.2 DER MOLEKULARBIOLOGISCHE NACHWEIS VON hMSH-2	26
3.2.1 Zelllinien und deren UV-Behandlung	26
3.2.2. Aufarbeitung der Zelllinien	28
3.2.2.1 RNA-Isolierung	28
3.2.2.2 Elektrophorese	29
3.2.2.3 Umschreibung von RNA in cDNA	30
3.2.3 Polymerasekettenreaktion (PCR) zum Nachweis und zur Quantifizierung der hMSH-2-mRNA	32
3.3 DIE SEQUENZIERUNG VON hMSH-2 IN DER MERKELZELL- KARZINOM-ZELLINIE MZ-MA 12	35

<u>4.</u>	<u>ERGEBNISSE</u>	39
4.1	IMMUNHISTOCHEMISCHER NACHWEIS VON hMSH-2 IM MERKELZELLKARZINOM	39
4.1.1	Histologie des Merkelzellkarzinoms	39
4.1.2	Immunhistochemischer Nachweis von hMSH-2	40
4.2	MOLEKULARBIOLOGISCHER NACHWEIS DER hMSH-2-mRNA	42
4.2.1	Expression der hMSH-2-mRNA in Zelllinien	42
4.2.1.1	Expression von hMSH-2 in Merkelzellkarzinom-Zelllinien	42
4.2.2.2	Expression von hMSH-2 in anderen Zelllinien	42
4.2.2	Regulation der hMSH-2-Expression in Merkelzellkarzinom-Zelllinien durch UV-Licht in vitro	42
4.2.3	Regulation der hMSH-2-Expression durch UV-Licht in anderen malignen Zelllinien	45
4.3	DIE SEQUENZIERUNG VON hMSH-2 IN DER MERKELZELL-KARZINOM-ZELLINIE MZ-MA 12	48
<u>5.</u>	<u>DISKUSSION</u>	49
5.1	DIE BEDEUTUNG VON hMSH-2 BEI DER PHOTOKARZINOGENESE DES MERKELZELLKARZINOMS	49
5.1.1	Die Bedeutung von p53 bei der Photokarzinogenese des Merkelzellkarzinoms	50
5.1.1.1	p53 als Wildtyp	50
5.1.1.2	Mutiertes p53	51
5.1.2	Einfluß von hMSH-2 auf die Apoptose	52
5.1.3	Einfluß genetischer Faktoren bei der Pathogenese des Merkelzellkarzinoms	53

5.2	DIE BEDEUTUNG DER NER BEI DER PHOTOKARZINOGENESE DES MERKELZELLKARZINOMS	54
5.3	ZUSAMMENHANG VON MMR UND NER	55
5.4	EINFLUSS VON UV-LICHT AUF DIE hMSH-2-EXPRESSION	55
5.5	VERGLEICH MIT ANDEREN ZELLINIEN	56
5.5.1	Vergleich mit MeWo-Zelllinie	56
5.5.2	Vergleich mit SCL-1-Zelllinie	57
5.6	SCHLUSSFOLGERUNGEN	58
<u>6.</u>	<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	59
<u>7.</u>	<u>DANKSAGUNG</u>	69
<u>8.</u>	<u>LEBENS LAUF</u>	70

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Immunhistochemische Darstellung von hMSH-2 im Merkelzellkarzinom (Fall Nr.3)	41
Abbildung 2: Immunhistochemische Darstellung von hMSH-2 im Merkelzellkarzinom (Fall Nr.9)	41
Abbildung 3: Relative Werte der hMSH-2-RNA-Expression in der Merkelzellkarzinom-Zelllinie MZ-MA 12 nach Bestrahlung mit UV-B	43
Abbildung 4: Relative Werte der hMSH-2-Expression in der Merkelzellkarzinom Zelllinie MZ-MA 8 nach Bestrahlung mit UV-B	44
Abbildung 5: Relative Werte der hMSH-2-Expression in der Melanom-Zelllinie MeWo nach Bestrahlung mit UV-B	46
Abbildung 6: Relative Werte der hMSH-2-Expression in der Plattenepithelkarzinom-Zelllinie SCL-1 nach Bestrahlung mit UV-B	47

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1:	Darstellung der verschiedenen Hauttypen	8
Tabelle 2:	Vergleich des Mismatch-Reparatur-Systems von E.Coli, Hefe und Mensch	18
Tabelle 3:	Semiquantitative Ermittlung des immunreaktiven Scores (IRS) für hMSH-2 in Merkelzellkarzinomen	39
Tabelle 4:	Expression der hMSH-2-mRNA in der Merkelzellkarzinom-Zelllinie MZ-MA 12 nach Bestrahlung mit UV-B (LightCycler)	42
Tabelle 5:	Expression der hMSH-2-mRNA in der Zelllinie MZ-MA 8 nach Bestrahlung mit UV-B (LightCycler)	44
Tabelle 6:	Expression der hMSH-2-mRNA in der Melanom-Zelllinie MeWo nach Bestrahlung mit UV-B (LightCycler)	45
Tabelle 7:	Expression der hMSH-2-mRNA in der kutanen Plattenepithel-Karzinom-Zelllinie SCL-1 nach Bestrahlung mit UV-B (LightCycler)	47

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abb.	Abbildung
et al.	et alii
AEC	3-Amino-9-Ethylcarbazol-Lösung
APS	Ammoniumpersulfat
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
BSA	bovine serum albumin
°C	Grad Celsius
C	Cytosin
ca	circa
cDNA	komplementäre Desoxyribonukleinsäure
ddNTP	Didesoxynukleotid
dest	destilliert
d.h.	das heißt
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DNase	Desoxyribonuklease
dNTP	Desoxy-Nukleosidtriphosphat
E. Coli	Escherichia Coli
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
FCS	fetales Kälberserum
FE 11	monoklonaler Maus-Antikörper Klon FE 11
For	forward
G	Guanin
h	Stunde
H ₂ O	Wasser
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxyd
HIV	human immunodeficiency virus
hMLH-1	human MutL-homologon
hMSH-2	human MutS-homologon 2
HNPCC	Hereditary non-polyposis colorectal cancer
IRS	Immunreaktiver Score
J	Joule

VIII

KCl	Kaliumchlorid
KH_2PO_4	Kaliumphosphat
l	Liter
M	Molar
m^2	Quadratmeter
MeWo	Zelllinie eines humanen malignen Melanoms
mg	milligramm
MgCl_2	Magnesiumchlorid
ml	milliliter
mM	millimolar
MMR	Mismatch-Reparatur-System
mRNA	Messenger-RNA
MZ-MA	Zelllinie eines humanen Merkelzellkarzinoms
μl	mikroliter
μm	mikrometer
Na_2HPO_4	Natriumhydrogenphosphat
NaCl	Natriumchlorid
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NER	Nukleotid-Exzisionsreparatur
nm	nanometer
Nr.	Nummer
NTP	Nukleosidtriphosphat
p53	Tumorsuppressorgen
PBS	Phosphat buffered saline
PCR	Polymerasekettenreaktion
pH	pondus hydrogenii (Konzentration der Wasserstoffionen)
pmol	pikkomol
PP	prozentualer Anteil
Rev	reverse
RNA	Ribonukleinsäure
RNase	Ribonuklease
rpm	revolutions per minute
rRNA	ribosomale RNA

IX

SCL-1	Zelllinie eines humanen Plattenepithelkarzinoms
SI	Färbeintensität
T	Thymin
TBE-Puffer	Tris-Borsäure-EDTA-Puffer
TEMED	N,N,N',N'-Tetramethylethylendiamin
usw.	und so weiter
UV	Ultraviolett
z.B.	zum Beispiel