

## **INHALT**

1 Einleitung	1
1.1 <i>Toxoplasma gondii</i> : Lebenszyklus, Epidemiologie und medizinische Bedeutung	1
1.2 Interaktion von <i>T. gondii</i> mit seiner Wirtszelle	3
1.3. Der Zelltod	4
1.4 Veränderung der Wirtszellapoptose durch Infektionserreger	8
1.5 Zielsetzung	10
2 Material und Methoden	12
2.1 Material	12
2.1.1 Geräte	12
2.1.2 Medien und Verbrauchsmaterialien für die Zellkultur	13
2.1.2.1 Medien und deren Zusätze	13
2.1.2.2 Zelllinien	13
2.1.3 Chemikalien und Reagenzien	14
2.1.4 Antikörper	16
2.2 Methoden	18
2.2.1 Zellkultur	18
2.2.1.1 Kultur und Isolierung von <i>T. gondii</i>	18
2.2.1.2 Kultur der Wirtszelllinien	18
2.2.1.3 Isolierung und Kultur von murinen Knochenmarksmakrophagen (KMM)	20
2.2.1.4 Einfrieren und Auftauen von Zellen	21
2.2.1.5 Induktion von Apoptose und Infektion mit <i>T. gondii</i>	21
2.2.2 Hitzeinaktivierung und UV-Bestrahlung von <i>T. gondii</i>	22
2.2.3 Herstellung von <i>T. gondii</i> -Antigenlysat	23
2.2.4 DNS-Fragmentationstest	24
2.2.5 Immunfluoreszenzfärbungen	25
2.2.5.1 Apoptose- und <i>Toxoplasma</i> -Nachweis	25
2.2.5.2 Cytochrom c-Nachweis in apoptotischen und infizierten Zellen	27
2.2.6 Vitalitätsfärbung mit Trypanblau	27

2.2.7 Electromobility Shift Assay mit NF $\kappa$ B-spezifischen Oligonukleotidproben	27
2.2.8 SDS-Gelelektrophorese	31
2.2.9 Western Blotting und Immunfärbung	33
2.2.10 Nachweis der subzellulären Verteilung von Cytochrom c im Immunblot	35
2.2.11 Inhibierungsversuche von Mcl-1	35
2.2.12 Statistik	36
3 Ergebnisse	37
3.1 Effekt von <i>T. gondii</i> auf die Apoptose unterschiedlicher Wirtszelllinien	37
3.2 Apoptoseinhibierung durch <i>T. gondii</i> in HL-60- und U937-Zellen	39
3.2.1 Untersuchungen auf Zellpopulationsebene	39
3.2.2 Untersuchung der Apoptosebeeinflussung auf Einzelzellebene	42
3.3 Der Einfluss von inaktivierten <i>T. gondii</i> und Antigen-Extrakten auf die Wirtszellapoptose	45
3.4 Mechanismen der <i>T. gondii</i> -induzierten Inhibierung der Wirtszellapoptose	47
3.4.1 Nukleärer Faktor $\kappa$ B (NF $\kappa$ B)	47
3.4.2 Hitzeschockprotein 60/65 (HSP 60/65)	49
3.4.3 Caspasen	50
3.4.4 Poly-(ADP-Ribose) Polymerase (PARP)	53
3.4.5 Novel Proteinkinase C $\delta$ (nPKC $\delta$ )	54
3.4.6 Cytochrom c	55
3.4.7 Proteine der Bcl-2-Familie	57
3.4.8 Inhibierungsversuche von Mcl-1	59
4 Diskussion	63
4.1 Die Beeinflussung der Wirtszellapoptose	63
4.2 Voraussetzungen seitens des Parasiten zur Inhibierung der Wirtszellapoptose	67
4.3 Zellbiologische Mechanismen der Inhibierung der Wirtszellapoptose durch <i>T. gondii</i>	68

5 Zusammenfassung	79
6 Summary	82
7 Literatur	85
8 Anhang	97