

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung -	5
1.1 Das Neuroblastom	5
1.1.1 Definition und Epidemiologie	5
1.1.2 Klassifikation und Pathogenese	5
1.1.3 Symptomatik	8
1.1.4 Therapie und Prognose	9
1.2 Funktionen von p53	10
1.3 Aurorakinasen	14
1.4 Aurorakinase-Inhibitoren	16
1.5 Zelluläre Chemoresistenzmechanismen bei Tumorzellen	17
1.6 Wirkmechanismen der verwendeten Zytostatika	18
1.6.1 CDDP	18
1.6.2 Doxorubicin	18
1.6.3 Vincristin	19
1.6.4 Nutlin-3	19
1.6.5 WK-X-34	19
1.7 Zielsetzung dieser Arbeit	20
2 Material	21
2.1 Chemikalien und Reagenzien	21
2.2 Geräte	22
2.3 Medien und Lösungen	23
2.4 Plastikmaterial	24
2.5 PCR Material	25
2.5.1 Enzyme	25
2.5.2 Lösungen	25
2.5.3 Primer und Sonden	25
2.6 Verwendete Zelllinien	27
3 Methoden	29
3.1 Zellkultivierung	29
3.2 Auftauen von Zellen	29

3.3 Zellviabilitätstest (MTT-Test)	30
3.3.1 Grundlagen	30
3.3.2 Durchführung	30
3.4 Grundlagen zur „Downregulation“ von Genen mittels si-RNAs	31
3.5 PCR	33
3.5.1 Vorbereitung der Proben	33
3.5.2 RNA Isolation	33
3.5.3 RNA-Konzentrationsbestimmung	34
3.5.4 Reverse Transkriptase PCR (RT-PCR)	34
3.5.5 Real Time PCR	35
3.5.5.1 Grundlagen	35
3.5.5.2 Durchführung	36
3.5.5.3 Auswertung	37
4 Ergebnisse	39
4.1 Einfluss von Aurorakinase-inhibitoren auf die Zellviabilität	39
4.2 Resistenz durch MDR1 Überexpression	42
4.2.1 Aurorakinase-Inhibitoren in Kombination mit dem P-gp-Inhibitor WK-X-34	42
4.2.2 Aurorakinase-inhibitoren bei P-gp transduzierten Zellen	45
4.3 Resistenz durch p53 Mutation	48
4.3.1 Downregulation von p53 mittels si-RNAs	48
4.3.2 Regulation von p53 Zielgenen nach Behandlung mit Aurorakinase-inhibitoren	52
4.4 Zusammenfassung der Ergebnisse	58
5 Diskussion	60
6 Zusammenfassung/Summary	66
7 Literaturverzeichnis	69
8 Anhang	79
8.1 Kontrollgraphen	79
8.2 Lebenslauf	81
8.3 Schriftliche Erklärung	82