

**Inhaltsverzeichnis:**

<b>1. Einleitung.....</b>	<b>6</b>
1.1 Die Muskeldystrophien.....	6
1.2 Die Duchenne Muskeldystrophie.....	6
1.3 Die Ursache der DMD.....	9
1.4 Tiermodelle der Duchenne Muskeldystrophie.....	12
1.5 Der Pathomechanismus der Dystrophindefizienz.....	14
1.6 Die DEG-/ENaC-Familie und die TRP-Familie von Kationenkanälen.....	16
1.6.1 Die Degenerin/ENaC-Familie.....	16
1.6.2 Die Transient Rezeptor Potential Superfamilie.....	17
<b>2. Fragestellung.....</b>	<b>19</b>
<b>3. Material und Methoden.....</b>	<b>20</b>
3.1 Materialien.....	20
3.1.1 Mausstämme.....	20
3.1.2 Zelllinien.....	20
3.1.3 Chemikalien.....	20
3.1.4 Enzyme.....	21
3.1.5 Kits für Molekularbiologie.....	22
3.1.6 Verwendete Lösungen.....	22
3.1.7 Plasmide.....	25
3.1.8 Bakterienkulturen.....	26
3.1.9 Primer und Sonden.....	27
3.1.9.1 Primer für die Standard-RT-PCR.....	27
3.1.9.2 Primer und Sonden für die „Real-time“ RT-PCR.....	29
3.1.9.3 cRNA-Sonden für die <i>in-situ</i> Hybridisierung.....	32
3.1.10 Antikörper.....	33
3.1.11 Geräte.....	33
3.2 Methoden.....	34
3.2.1 Präparation der Mäusegewebe und Herstellung von Gewebeschnitten.....	34
3.2.2 Präparation der Total-RNA aus „weichem“ Mausegewebe und C2C12-Zellen.....	34
3.2.3 Präparation der Total-RNA aus „faserhaltigem“ Mausegewebe.....	35
3.2.4 Umschreibung der RNA in cDNA.....	35
3.2.5 Standard RT-PCR (Polymerase chain reaction).....	35

---

3.2.6	Klonierung.....	36
3.2.7	DNA-Präparation aus Bakterien.....	37
3.2.8	DNA-Verdau mit Restriktionsendonukleasen.....	38
3.2.9	DNA-Sequenzierung.....	38
3.2.10	Quantitative „Real-time“ RT-PCR.....	39
3.2.11	Protein-Elektrophorese und Western Blot.....	41
3.2.12	<i>in vitro</i> Transkription.....	43
3.2.13	Tüpfeltest.....	43
3.2.14	<i>in-situ</i> Hybridisierung.....	44
3.2.15	Nachweis von TRP-Kanäle mittels der Immunfluoreszenz-Technik.....	45
<b>4.</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>46</b>
4.1	Nachweis von Transkripten von DEG/ENaC- und TRP-Kationenkanälen in Balb/c-Mäusen.....	46
4.2	Nachweis von Transkripten von DEG/ENaC- und TRP-Kationenkanälen in C57Bl/10Sc- und mdx-Mäusen.....	50
4.2.1	Quantifizierung der mRNA von TRPC1-7.....	51
4.2.2	Quantifizierung der mRNA von TRPV1-6 und TRPA1.....	53
4.2.3	Quantifizierung der mRNA von TRPM1-8.....	55
4.2.4	Quantifizierung der mRNA von SCN4A, 5A, SCNN1a, 1b und 1g sowie ACCN1-5.....	57
4.3	Analysen der dominanten TRP-Kanäle in 30 d, 100 d und 365 d alten C57Bl/10Sc- und mdx-Mäusen.....	59
4.3.1	Analyse von TRPC3.....	59
4.3.1.1	Quantifizierung der mRNA von TRPC3.....	59
4.3.1.2	Quantifizierung des TRPC3-Proteins.....	60
4.3.1.3	Lokalisation von TRPC3 in Gewebeschnitten.....	63
4.3.2	Analyse von TRPC6.....	66
4.3.2.1	Quantifizierung der mRNA von TRPC6.....	66
4.3.2.2	Quantifizierung des TRPC6-Proteins.....	68
4.3.2.3	Lokalisation von TRPC6 in Gewebeschnitten.....	70
4.3.3	Analyse von TRPV4.....	72
4.3.3.1	Quantifizierung der mRNA von TRPV4.....	72
4.3.3.2	Quantifizierung des TRPV4-Proteins.....	73
4.3.3.3	Lokalisation von TRPV4 in Gewebeschnitten.....	75

---

4.3.4	Analyse von TRPM7.....	77
4.3.4.1	Quantifizierung der mRNA von TRPM7.....	77
4.3.4.2	Quantifizierung des TRPM7-Proteins.....	78
4.3.4.3	Lokalisation von TRPM7 in Gewebeschnitten.....	80
4.4	Quantifizierungen der mRNAs von SCN4A, TRPA1, TRPM1 und TRPC5.....	82
4.4.1	Quantifizierung der mRNA von SCN4A.....	82
4.4.2	Quantifizierung der mRNA von TRPA1.....	85
4.4.3	Quantifizierung der mRNA von TRPM1.....	86
4.4.4	Quantifizierung der mRNA von TRPC5.....	88
<b>5.</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>90</b>
<b>6.</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>103</b>
<b>7.</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>105</b>
<b>8.</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>109</b>