

Motilitätsanalyse humaner epidermaler Keratinocyten auf Fibronektin

Diplomarbeit

zur Erlangung des Grades eines
Diplom-Biologen
an der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
Bonn

vorgelegt von
Thorsten Libotte

Bonn 2000

Zusammenfassung

Der Schwerpunkt dieser interdisziplinären Arbeit (Cytologie, Theoretische Biologie, Informatik) liegt auf der Verwendung und Weiterentwicklung bestimmter Methoden zur detaillierten Analyse der Migration und Motilität von humanen epidermalen Keratinocyten auf Fibronectin. Hierzu wurden einerseits praktische Experimente durchgeführt und andererseits bestehende Methoden der theoretischen Biologie angewandt und weiter entwickelt. Infolgedessen untergliedert sich die Arbeit in einen praktischen und einen theoretischen Teil. Der praktische Teil umfasst die Quantifizierung der Lamellendynamik (Geschwindigkeiten der Protrusionen, Retraktionen und ruffles) und der Migrationsgeschwindigkeit von Keratinocyten auf Fibronectin. Des weiteren wird der Einfluss (spezifische Inhibition) von GRGDS-Peptiden auf die Motilität untersucht. Dabei repräsentiert das Tripeptid mit den Aminosäuren Arg-Gly-Asp (RGD) die minimale Erkennungssequenz des Fibronectinmoleküls für bestimmte Integrinrezeptoren. In diesem praktischen Teil wurde die Methode SACED (Section Analysis of Cell Dynamics) nach Hinz (1998) verwendet und weiterentwickelt. Eine Veränderung der Lamellendynamik und der Migration in Abhängigkeit der Beschichtungskonzentration an Fibronectin konnte statistisch belegt werden. Eine spezifische Inhibition der Substratbindung an Fibronectin durch RGD-Peptide konnte ebenfalls gezeigt werden. Der theoretische Teil umfasst die Weiterentwicklung des Modells der visko-elastischen Kette zur Zellranderkennung nach Sahm (1999). Das Modell wurde verändert und für die Erkennung des Zellrandes für digitale Bildsequenzen erweitert. Dabei entstand ein Modell, das den groben Zellumriss für einen Großteil der beobachteten und aufgenommenen Keratinocyten erkennen und auf Bildfolgen angewandt werden kann. Mithilfe der errechneten Zellkonturen wurden einige Zellen exemplarisch einer Formanalyse (Fläche, Elongation, Dispersion und Extension) über die Zeit unterzogen. Dabei zeigte sich, dass die Elongation ein charakteristisches Attribut für zukünftige Zeitreihenanalysen sein könnte.