

**Analyse der Interaktionen  
des peroxisomalen Biogeneseproteins  
Pex13p  
und dessen Bindepartnern in *S. cerevisiae***

**Dissertation**

zur Erlangung des Grades  
eines Doktors der Naturwissenschaften  
der Fakultät für Chemie/Pharmazie/Biologie  
an der Freien Universität Berlin

angefertigt am  
Institut für Chemie/Biochemie

vorgelegt von  
**Katharina Stein**  
aus Ihringen  
Berlin 2002

**1. Gutachter: Prof. Dr. R. Erdmann**

**2. Gutachtet: PD Dr. M. Ziegler**

**Tag der Disputation: 28.08.2002**

**für Roland**

**Teile der vorliegenden Arbeit wurden unter folgenden Titeln veröffentlicht:**

Girzalsky, W., Rehling, P., Stein, K., Kipper, J., Blank, L., Kunau, W. H. and Erdmann, R. (1999) Involvement of Pex13p in Pex14p localization and peroxisomal targeting signal 2-dependent protein import into peroxisomes, *JCB*, Vol.144, (6), 1151-1162

Stein, K., Schell-Steven, A., Erdmann, R. and Rottensteiner, H. (2002) Interactions of Pex7p and Pex18p/Pex21p with the peroxisomal docking machinery: implications for the first steps in PTS2 protein import, *Mol Cell Biol*, Vol. 22, (17), 6056-6096

**Poster:**

Sonnenhol, E., Stein, K. and Erdmann, R. (1999)  
Functional analysis of components of the peroxisomal protein import machinery, European Research Conference on Protein Targeting, 01.-06. October 1999, Strasbourg, France

Stein, K., Hong, X., Schneider-Mergener, J. and Erdmann, R. (2000)  
Functional analysis of Pex13p: A key component of the peroxisomal protein import machinery, *Biol. Chem.* 381, p. 144

Stein, K., Hong, X., Schneider-Mergener, J. and Erdmann, R. (2000)  
Functional Characterization of Pex13p, an Essential Component of the Peroxisomal Docking Complex. GBM Herbsttagung, 10.-13. Oktober 2000, München, *Mol. Biol. Cell.* 11, p. 2198

Erdmann, R., Hong, X., Stein, K. and Schneider-Mergener, J. (2001)  
Structural and Functional Analysis of the Docking Complex of the Peroxisomal Protein Import Machinery, 3<sup>rd</sup> Cell Biology Symposium of the MDC on Protein Transport and Stability, Book of Abstracts, 2001, p. 49

Erdmann, R., Stein, K., Hong, X. und Rottensteiner, H. (2001)  
Struktur und Funktion des Pex13p/Pex14p-Rezeptorkomplexes der peroxisomalen Proteinimport-Maschinerie, SFB, Teilbereich A7, 20.-22. Aug. 2001, Berlin

Stein, K., Rottensteiner, H. and Erdmann, R. (2001)  
The peroxisomal PTS2 receptor Pex7p is able to bind the docking proteins Pex13p and Pex14p independently of Pex18p and Pex21p, *Biol Cell*, Vol. 93, Nr. 3, Nov. 2001

In dieser Arbeit verwendete Abkürzungen:

APS	Ammoniumperoxodisulfat
3AT	3-Aminotriazol
Abb.	Abbildung
AK	Antikörper
Amp	Ampicillin
APS	Ammoniumsulfat
AS	Aminosäure
bp/kbp	Basenpaare/Kilobasenpaare
BPB	Bromphenolblau
BSA	Rinderserumalbumin ( <i>engl. bovine serum albumen</i> )
CoA	Coenzym A
Da/kDa	Dalton/Kilodalton
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxyribonukleosidtriphosphate (dATP, dGTP, dCTP, dTTP)
DTT	1,4-Dithiothreitol
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
ECL	Verstärktes Chemolumineszenzsystem ( <i>engl. enhanced chemoluminescence</i> )
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ER	Endoplasmatisches Retikulum
Fa.	Firma
GFP	Grün fluoreszierendes Protein
GST	Gluthation S-Transferase
<i>H. polymorpha</i>	<i>Hansenula polymorpha</i>
<i>H. sapiens</i>	<i>Homo sapiens sapiens</i> (Mensch)
IgG	Immunglobulin G
IPTG	Isopropylthiogalaktosid
LB	Luria-Bertani (Medium)
LiAc	Lithiumacetat
MBP	Maltose-Bindeprotein
MCS	<i>engl. multiple cloning site</i>
MES	2-(N-Morpholino) Ethansulfonsäure
MG	Molekulargewicht
min	Minute
MOPS	3-(N-morpholino)-Propansulfonsäure
OD <sub>nm</sub>	Optische Dichte bei der angegebenen Wellenlänge (nm)
ORF	Offener Leserahmen ( <i>engl. open reading frame</i> )
PAGE	Polyacrylamid-Gelelektrophorese
PBDs	peroxisomale Biogenesestörungen ( <i>engl. peroxisomal biogenesis disorders</i> )
PBS	Phosphat gepufferte Salzlösung ( <i>engl. phosphate buffered saline</i> )

PCR	Polymerase Kettenreaktion (engl. <i>polymerase chain reaction</i> )
PG	Polyethylenglycol
Pex	„ <i>peroxisome assembly</i> “
PMP	peroxisomales Membranprotein
PMSF	Phenylmethylsulfonylfluorid
<i>P. pastoris</i>	<i>Pichia pastoris</i>
PTS1/PTS2	Peroxisomale Zielsteuerungssequenz (engl. <i>peroxisomal targeting sequence</i> )
PVDF	Polyvinylidendifluorid
rCDP	rhizomeler Typ des Chondrodysplasia-punctata-Syndroms
RNase	Ribonuklease
rpm	Umdrehungen pro Minute
RT	Raumtemperatur
<i>S. cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
SD	Synthetisches Tröpfelmedium (engl. <i>synthetic dropout</i> )
SDS	Natriumdodecylsulfat
sec	Sekunde
SH3	Src Homologie 3
TBS	Tris gepufferte Salzlösung (engl. <i>tris buffered saline</i> )
TCA	Trichloressigsäure
TEMED	N-,N-,N',N'-Tetramethylethylendiamin
TMD	Transmembrandomäne
Tris	2-Amino-2-(hydroxymethyl)-1,3-propandiol
T-TBS	Tris gepufferte Salzlösung (engl. <i>tris buffered saline</i> ) mit Tween
Tween® 40	Polyoxyethylensorbitanmonopalmitat
U	Einheiten (engl. <i>units</i> ) für die Aktivität von Restriktionsenzymen
üN	über Nacht
vol	Volumen
w/v	Gewicht pro Volumen
wt	Wildtyp
X-Gal	5-Brom-4-chlor-3-indolyl-β-D-galaktopyranosid
<i>Y. lipolytica</i>	<i>Yarrowia lipolytica</i>

## Nomenklatur

Weiterhin finden die Einheiten und Abkürzungen des *Systemé International d'Unités* (SI) Verwendung. Aminosäuren und Nukleotide werden nach den internationalen Regeln abgekürzt.

Die Peroxine und *PEX*-Gene wurden in der vorliegenden Arbeit nach den Richtlinien der einheitlichen Nomenklatur für die peroxisomalen Biogenese-Faktoren bezeichnet (Distel *et al.*, 1996). In der vorliegenden Arbeit werden einige gängige Fachausdrücke aus dem Englischen übernommen, soweit eine deutsche Entsprechung nicht vorliegt oder nicht gebräuchlich ist. Dies geschieht, um Unklarheiten zu vermeiden.

**INHALTSVERZEICHNIS**

<b>1</b>	<b><u>EINLEITUNG</u></b>	<b>1</b>
1.1	PEROXISOMEN	1
1.2	PEROXISOMALE ERKRANKUNGEN BEIM MENSCHEN	3
1.3	ISOLIERUNG VON MUTANTEN MIT DEFECTEN IN DER PEROXISOMALEN BIOGENESE	3
1.4	BIOGENESE VON PEROXISOMEN	6
1.5	PROTEINIMPORT IN PEROXISOMEN	9
1.6	ZIELSETZUNG DER ARBEIT	18
<b>2</b>	<b><u>MATERIAL UND METHODEN</u></b>	<b>19</b>
2.1	CHEMIKALIEN	19
2.2	GERÄTE	20
2.3	MIKROORGANISMEN	20
2.4	VEKTOREN	21
2.5	OLIGONUKLEOTIDE	24
2.6	ANTISEREN	25
2.7	ANALYTISCHE METHODEN	26
2.8	KULTIVIERUNG DER HEFE <i>S.CEREVISAE</i>	26
2.9	ANZUCHT ZUR BIOCHEMISCHEN CHARAKTERISIERUNG	28
2.10	ANZUCHT ZUR MIKROSKOPISCHEN ANALYSE	28
2.11	AUFSCHLUß VON <i>S.CEREVISAE</i> ZELLEN	29
2.12	KOMPETENTE ZELLEN UND TRANSFORMATION IN <i>S.CEREVISIAE</i>	30
2.13	HOMOLOGE REKOMBINATION	31
2.14	DELETION EINES GENS IM HEFEGENOM	31
2.15	METHODEN ZUR UNTERSUCHUNG VON PROTEIN-PROTEIN-INTERAKTIONEN	32
2.16	MOLEKULARBIOLOGISCHE METHODEN	34
2.17	PROTEINCHEMISCHE METHODEN	38
2.18	HETEOLOGE EXPRESSION	39
<b>3</b>	<b><u>ERGEBNISSE</u></b>	<b>43</b>
3.1	ANWENDUNG DES TWO-HYBRID-SYSTEMS	43
3.2	N- UND C-TERMINALE VERKÜRZUNGEN VON PEX13P	44
3.3	BINDUNG DES PTS2-REZEPTORS AN PEX14P	61
3.4	DIE ROLLE VON PEX18P UND PEX21P IM PTS2-ABHÄNGIGEN PROTEINIMPORT	67
3.5	BINDUNG VON PEX13P AN PEX14P	75
3.6	BINDUNG VON PEX13P AN PEX19P	84

---

<b>4</b>	<b><u>DISKUSSION</u></b>	<b>95</b>
<b>4.1</b>	PEX7P INTERAGIERT MIT PEX13P, EINE KOMPONENTE DER PEROXISOMALEN DOCKINGMASCHINERIE	<b>96</b>
<b>4.2</b>	DIE BETEILIGUNG DES AMINOTERMINUS VON PEX13P BEIM PTS2-ABHÄNGIGEN PROTEINIMPORT	<b>98</b>
<b>4.3</b>	PEX7P INTERAGIERT MIT PEX14P IN ABWESENHEIT VON PEX18P UND PEX21P	<b>99</b>
<b>4.4</b>	DIE BINDUNG ZWISCHEN PEX7P UND THIOLASE	<b>99</b>
<b>4.5</b>	DIE ROLLE VON PEX18P UND PEX21P IM PTS2-ABHÄNGIGEN PROTEINIMPORT	<b>100</b>
<b>4.6</b>	EXISTIERT IN PEX13P EINE ZWEITE BINDUNGSSTELLE FÜR PEX14P?	<b>102</b>
<b>4.7</b>	DIE ROLLE VON PEX14P IM PTS2-ABHÄNGIGEN PROTEINIMPORT	<b>103</b>
<b>4.8</b>	MODELL ZUM PEROXISOMALEN IMPORT	<b>104</b>
<b>4.9</b>	INTERAKTION ZWISCHEN PEX13P UND PEX19P	<b>106</b>
<b>5</b>	<b><u>ZUSAMMENFASSUNG</u></b>	<b>107</b>
<b>6</b>	<b><u>ABSTRACT</u></b>	<b>109</b>
<b>7</b>	<b><u>LITERATUR</u></b>	<b>111</b>

## Zusammenfassung

1. Two-Hybrid Studien mit N- und C-terminal verkürztem Pex13p zeigten, dass bereits die ersten 55 Aminosäuren von Pex13p eine Interaktion mit dem PTS2-Erkennungsrezeptor Pex7p eingehen. Diese Interaktion konnte *in vivo* durch eine Co-Immunopräzipitation gezeigt werden. Dass es sich hierbei um eine direkte Interaktion handelt, wurde in einer *in vitro* Bindungsstudie durch die Bindung zwischen GST-Pex13p<sub>1-100</sub> und His<sub>6</sub>-Pex7p belegt.
2. Pex13p<sub>1-100</sub> war in der Lage, sowohl mit Pex18p als auch mit Pex21p zu interagieren. Die Interaktion war hierbei von der Anwesenheit von Pex7p abhängig, wie in einer Two-Hybrid Studie gezeigt werden konnte.
3. Ein aminoterminal deletiertes Pex13p-Konstrukt (Pex13p<sub>56-386</sub>) war nicht in der Lage, eine *pex13Δ* Mutante zu komplementieren. Somit hat dieser aminoterminal Bereich für die Biogenese des Organells eine entscheidene Funktion inne. Es konnte weiterhin durch Fluoreszenzstudien gezeigt werden, dass dieser Bereich spezifisch für den PTS2-abhängigen Import benötigt wird. Da die PTS1-Signalerkennung [Elgersma, 1996 #192; Erdmann, 1996 #24; Gould, 1996 #239] über die SH3-Domäne von Pex13p erfolgt, sind zwei unterschiedliche Regionen in Pex13p an der PTS-Rezeptor-Erkennung beteiligt.
4.  $\beta$ -Keto-Acyl-CoA-Thiolase (Fox3p) interagierte mit dem peroxisomalen Dockingprotein Pex14p, jedoch nur in Anwesenheit von Pex18p, Pex21p und von Pex7p. Andererseits konnte eine Bindung an Pex13p nicht gezeigt werden, was bedeuten könnte, dass Pex14p beim Import von PTS2-haltigen Proteinen das initiale Dockingprotein darstellt. Das Andocken der PTS2-Cargoproteine erfolgte dabei offensichtlich sowohl in Abhängigkeit von Pex7p als auch von Pex18p/Pex21p.
5. Die Menge an mit Pex7p co-immunopräzipitiertem Fox3p war in einer *pex18Δpex21Δ* sowie in einer *pex14Δpex18Δpex21Δ* Mutante deutlich geringer als in einer *pex14Δ* Mutante. Daraus wurde geschlossen, dass die Anwesenheit von Pex18p und Pex21p bereits vor dem Andocken von Pex7p an die peroxisomale Membran gebraucht wird. Die Funktion der beiden cytosolisch lokalisierten, redundanten Proteine Pex18p und

Pex21p liegt wahrscheinlich in der Bildung eines importkompetenten PTS2-Substrat-Komplexes.

6. In einer *in vitro* Bindungsstudie mit heterolog exprimiertem His<sub>6</sub>-Pex14p und MBP-Pex7p konnte gezeigt werden, dass die Bindung zwischen Pex7p und Pex14p unabhängig von der Anwesenheit von Pex18p/Pex21p stattfinden kann und somit direkt ist.
7. Durch eine *in vitro* Bindungsstudie mit einem synthetischen PTS2-Protein gelang es zu zeigen, dass Pex7p direkt an das PTS2-Signal binden kann.
8. Mit der Methode des Two-Hybrid Systems konnte in Pex13p eine zweite Bindestelle für Pex14p identifiziert werden. Der Bindebereich umfasst die Aminosäuren 233-258 von Pex13p. Im Gegensatz zur SH3-Domäne erfolgt diese Bindung unabhängig von dem prolinreichen Motiv von Pex14p.
9. Durch heterologe Expression von Pex19p und seine Verwendung als Antigen konnte ein Antiserum gegen das Protein gewonnen und dessen Spezifität gezeigt werden.
10. In einer Two-Hybrid Studie konnte die Interaktion zwischen Pex19p und Pex13p gezeigt werden. Der Aminosäurebereich 173-258 von Pex13p war ausreichend, um die Bindung *in vivo* zu vermitteln. Mit einem Peptidscan gelang es außerdem, den notwendigen Bindebereich für Pex19p auf die Aminosäuren 203-213 von Pex13p einzuengen.
11. Auf der Suche nach einem möglichen allgemeinen Targetingsignal für Membranproteine wurde der über einen Peptidscan ermittelte Pex19p-Bindebereich 203-IMKFLKKILYR-213 umfassend substituiert. Die beiden Leucine in Position 207 und 211 erwiesen sich hierbei als entscheidend, womit sie vermutlich eine besondere Rolle bei der Bindung an Pex19p einnehmen.
12. Es wurde ein Modell erstellt, welches den möglichen Ablauf des PTS2-abhängigen Proteinimports beschreibt (Abb. 4.1).

## Abstract

1. Two Hybrid studies with N- and C-terminal deletions of Pex13p showed that the first 55 amino acids of Pex13p are sufficient to bind the PTS2-recognition protein Pex7p. This binding between Pex13p and Pex7p could also be demonstrated through a co-immunoprecipitation. An *in vivo* binding study proved direct binding between the first 100 amino acids of Pex13p and His<sub>6</sub>-Pex7p.
2. Pex13p<sub>1-100</sub> could also interact with Pex18p and Pex21p, though this interaction was shown to depend on the presence of Pex7p by two-hybrid studies.
3. The aminoterminal truncation of Pex13p<sub>56-386</sub> is unable to complement the growth defect of a *pex13Δ* mutant. As a consequence, this aminoterminal region possesses an essential function for the biogenesis of the peroxisome. Immunofluorescence studies demonstrated further, that this region is particularly necessary for PTS2-dependent protein import. As PTS1-signal recognition [Elgersma, 1996 #192; Erdmann, 1996 #24; Gould, 1996 #239] depends on the SH3-domain of Pex13p, two different regions of Pex13p are obviously involved in PTS-receptor recognition.
4.  $\beta$ -Keto-acyl-CoA-thiolase (Fox3p) is able to interact with Pex14p in a wild-type strain, though not in a *pex7Δ* or in a *pex18Δpex21Δ* mutant strain. On the other hand, binding could not be observed between Fox3p and Pex13p, suggesting that Pex14p represents the initial docking protein. Docking of PTS2 cargo proteins is obviously dependent on both Pex18p/Pex21p and Pex7p.
5. The amount of Fox3p coprecipitated with Pex7p in a *pex18Δpex21Δ* and in a *pex14Δpex18Δpex21Δ* mutant strain was significantly smaller than in a *pex14Δ* mutant strain. Therefore it was concluded that the presence of Pex18p and Pex21p is required previously to the docking of Pex7p to the peroxisomal membrane. The two redundant cytosolic proteins Pex18p and Pex21p seem to play an essential role in the formation of an import competent PTS2 substrate complex.

6. The ability of Pex7p for binding to Pex14p was analyzed by *in vitro* binding with bacterially expressed MBP-Pex7p and His<sub>6</sub>-Pex14p in the absence of Pex18p/Pex21p. The binding between these proteins thus occurs in a direct manner.
7. Pex7p binds a synthetic PTS2-Protein *in vitro*, implicating that Pex7p alone is sufficient to recognize the PTS2 targeting signal.
8. A second binding site for Pex14p could be identified in Pex13p using the yeast two-hybrid system. This second binding site comprises amino acids 223-258 of Pex13p. In contrast to the SH3-domain, this binding does not depend on the prolin-rich motif of Pex14p.
9. A polyclonal antibody against Pex19p could be generated from heterologously expressed and purified GST-Pex19p. Its specificity could be demonstrated.
10. The binding between Pex19p and Pex13p could be shown in a two-hybrid assay. A truncated version of Pex13p, representing the amino acids 173-258, was shown to be sufficient for Pex19p binding *in vivo*. The incubation of a Pex13p peptide-scan with GST-Pex19p could narrow this binding region for Pex19p down to amino acids 203-213 of Pex13p.
11. Searching for a probably common membrane-protein targeting signal, a Pex13p peptide, comprising the sequence 203-IMKFLKKILYR-213, was analyzed by substitutions. This studies elucidated that the leucine residues in position 207 and 211 seem to be particularly important for the ability for binding by Pex19p.
12. A revised model for the PTS2-dependent import of matrix proteins and its sequential steps was developed (Abb. 4.1).

## LEBENS LAUF

### PERSÖNLICHE ANGABEN:

Name	Katharina Stefanie Stein
Geburtsdatum	16. April 1971
Geburtsort	Breisach am Rhein
Nationalität	deutsch
Familienstand	ledig

### SCHULBILDUNG:

08/77- 06/81	Neunlinden-Grundschule, Ihringen
08/81- 06/90	Martin-Schongauer-Gymnasium, Breisach
<b>1990</b>	<b>Abschluss: Allgemeine Hochschulreife</b>

### STUDIUM:

10/90 - 10/97	Studium der Biologie an der Technischen Hochschule, Karlsruhe Hauptfächer: Ingenieurbiologie und Zoologie (Tierphysiologie) Nebenfächer: Biochemie und Organik
01/97 – 10/97	Diplomarbeit an der Staatlichen Lehr- und Forschungsanstalt, Neustadt a.d.W. zum Thema „Untersuchungen zur Reinigungsleistung und Prozeßstabilität von SBR-Verfahren in der Weinwirtschaft“
<b>1997</b>	<b>Abschluss: Diplom-Biologin, TH Karlsruhe</b>

### PROMOTIONSSTUDIUM:

03/98 - 10/98	Ruhr-Universität Bochum bei PD Dr. Ralf Erdmann
10/98 - 03/02	Freie Universität Berlin bei Prof. Dr. Ralf Erdmann
<b>2002</b>	<b>Promotion an der Fakultät für Chemie, Biologie und Pharmazie, FU Berlin</b>

### HOCHSCHULLEHRE:

SS 98	Betreuung des Biochemischen Praktikums für Mediziner, Ruhr-Universität Bochum
WS 98/99 - WS 00/01	Planung und Durchführung des biochemischen Fort- geschrittenenpraktikums, FU Berlin
WS 98/99 - SS 01	Einarbeitung und Betreuung von Biochemiestudenten des Hauptstudiums
WS 99/00 - WS 01/02	Organisation und Durchführung des biochemischen Grundpraktikums

## Danksagung

Am Ende dieser Arbeit möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Ralf Erdmann für die Überlassung des Themas, für seine Begeisterungsfähigkeit beim Thema Peroxisomen und die vielen Ideen und Anregungen bedanken.

Bei Herrn Dr. Mathias Ziegler bedanke ich mich für die freundliche Übernahme des Koreferates und für seine hilfsbereite Art.

Mein besonderer Dank gilt im beruflichen wie im freundschaftlichen Sinne Dr. Hanspeter Rottensteiner für eine sehr lehrreiche Zeit in vielen Belangen. Vor allem dafür, dass er sich meiner Arbeit angenommen hat und mit viel Optimismus, Tiroler Gelassenheit und dem nötigen Humor für ein gutes Arbeitsklima sorgte. Die sehr gute Zusammenarbeit bei gemeinsamen Projekten hat viel Spaß gemacht!

Weiterhin bin ich allen zu Dank verpflichtet, die mir Material und technische Ratschläge zur Verfügung gestellt haben:

- Christiane Landgraf, Dr. Rudolf Volkmer-Engert und Dr. Achim Kramer, aus der AG Schneider-Mergener, Charité Berlin für die sehr erfolgreiche Zusammenarbeit bei der Peptidsynthese.
- Michael Nündel für stete Hilfsbereitschaft und für alles rund um Chromatographie und Antikörper.
- Frau Wendel für ihre ausgezeichnet verwaltete Stammsammlung, ihre Ordnungsliebe und für gute Ratschläge in allen Lebenslagen.
- Frau Werth für ihre sehr freundliche und hilfsbereite Art und für alles rund um Sauberkeit und Ordnung.
- Frau Wiese und Frau Jäger für die zuverlässige Erledigung aller Sekretariatsaufgaben.
- Für zur Verfügung gestellte Konstrukte aus der Arbeitsgruppe bedanke ich mich bei Ronja Bahadori (PTS2), Xinji (Pex7p), Ines (GFP) und Hanspeter (PTS2-DsRed u.v.a.).
- Dr. Hennig Otto für gute Ratschläge und vor allem für den myc-Antikörper
- Der AG Prof. Schweiger für die Arbeitsmöglichkeit im Isotopenlabor und für die Mitbenutzung des Fluoreszenzmikroskops.
- Michael, Frau Wendel, Xinji, Katja, Jörg. E., Lars Funke und Martin Sichtung danke ich für die super Zusammenarbeit im Rahmen des Biochemischen Blockpraktikums.
- Ein Dankeschön geht auch an die AG von Prof. Dr. W.-H. Kunau nach Bochum: Für die freundliche Aufnahme in der Arbeitsgruppe, für das Überlassen zahlreicher Mutanten und Konstrukte und vor allem an Wolfgang Girzalsky für die lehrreiche Zeit im Bochumer Labor.
- Ein herzliches Dankeschön für die Korrekturarbeiten an Hanspeter, Jörg E. und an Annette!
- Allen meinen Kolleginnen und Kollegen der Arbeitsgruppe Ralf Erdmann gilt mein Dank für ihre Hilfsbereitschaft, Zuverlässigkeit, viele gute Gespräche, anregende Diskussionen, für das freundliche Arbeitsklima und für zahlreiche nette Stunden auch außerhalb des Labors mit dem Wunsch, dass wir uns trotz berufsbedingter Entfernung nicht ganz aus den Augen verlieren.
- Kerstin danke ich ganz besonders für den Einsatz als Umzugshelfer!
- Mein Dank gilt auch der FAZIT-Stiftung in Frankfurt a.M. für das Promotionsabschluss-Stipendium.

Ein Dankeschön an Herrn Schön, der für meine Probleme ein stets offenes Ohr hatte und immer wieder für kulinarische Abwechslung sorgte.

Meiner Oma Emi, die mit ihren 96. Jahren noch immer nicht verstehen kann, was man sooo lange an einer Uni macht, mich aber dennoch finanziell unterstützt hat.

Meinen Eltern gilt ein ganz herzliches Dankeschön, dass sie trotz größter eigener Sorgen, in Gedanken bei mir waren und mich auf vielfältigste Weise unterstützt haben. Ein Dankeschön auch an Christoph und Thomas mit ihren Familien.

Meinem Freund Jörg danke ich dafür, dass er (meistens) Verständnis zeigte, dass mir das Labor wichtiger war als die gemeinsame Wohnung und dass man Hefen und Colis am Wochenende nicht alleine lassen kann. Ohne seine liebevolle Unterstützung und seine Geduld wäre vieles nicht möglich gewesen.

Dankeschön !!!