

8. Anhang

8.1. Abkürzungsverzeichnis

μ	Mikro
A	Adenin
ALL	Akute lymphoblastische Leukämie
APS	Ammoniumpersulfat
bp	Basenpaare
BSA	Bovine serum albumin
C	Cytosin
c	Centi
C	Celsius
cDNA	Complementary DNA
Ci	Curie
DEPC	Diethylpyrocarbonat
dLMO, <i>dlmo</i>	Drosophila Protein und Gen
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DNase	Desoxyribonuklease
DTT	Dithiotreitol
E. coli	Escherichia coli
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EMSA	Electrophoretic mobility shift assay
FKS	Fötale Kälberserum
G	Guanin
g	Gramm
g	Relative Zentrifugalkraft (RCF)
Glu	Glutamin
HEPES	N-2-Hydroxyethylpiperazin-N'-2-Ethansulfonsäure
HSC	Hämatopoetische Stammzellen
Ig	Immunglobuline
IPTG	Isopropylthio-β-D-Galaktosid
J	Joule
kb	Kilobasenpaare
kDa	Kilodalton
l	Liter
LMO	LIM only
LMO2, <i>Lmo2</i>	Humanes und Maus Protein
<i>LMO2, Lmo2</i>	Humanes und Maus Gen
M	Molar
m	Milli
min	Minute
MOPS	3-(N-Morpholino)propansulfonsäure
n	Nano
N	Normal
OD	Optische Dichte
p	Piko

p	Kurzer Chromosomenarm (petite)
P/S	Penicillin/Streptomycin
P1	Promotor 1
P2	Promotor 2
PBS	Phosphate buffered saline
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PMSF	Phenylmethylsulfonylfluorid
PTO	Phosphothioat
PVP	Polyvinylpyrrolidon
q	Langer Chromosomenarm
RACE	Rapid amplification of cDNA ends
RNA	Ribonukleinsäure
RNase	Ribonuklease
rpm	Umdrehungen pro Minute
RT	Reverse Transkription
<i>S. cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
SDS	Natriumdodecylsulfat
sec	Sekunde
T	Thymin
t(11;13)(p13;q14)	Balancierte Translokation von 11p13 auf 14q11
TAE	Tris-Acetat-EDTA-Puffer
TBE	Tris-Borat-EDTA-Puffer
TCR	T-Zell-Rezeptor
TE	Tris-EDTA-Puffer
TEMED	N,N,N',N'-Tetramethylethylenediamin
Tris	Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan
U	Uracil
U	Unit
UTR	nicht-translatierte Region
UV	Ultraviolett
V	Volt
w/v	Gewichtsprozent
X-gal	5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl- β -D-Galaktosid

8.2. Abbildungsverzeichnis

1. Entwicklung der verschiedenen Blutzellen
2. Transkriptionsfaktoren der Hämatopoese
3. *LMO2*: Struktur und alternative Transkripte
4. Methoden-Schema zur Analyse der Transkriptionsregulation von *LMO2*
5. Southern Blot
6. Phasen nach der Ultrazentrifugation von Gesamt-RNA
7. Northern Blot aus HEL- und K562-Zellen - Expression erythroider Gene
8. Elektrophorese nach Mycoplasmen-PCR
9. Restriktionsfragment BamHI-6.7 kb mit Exon 1 von *LMO2* und
Transkriptionsstart
10. Genomische Sequenz stromaufwärts von *LMO2*
11. DHS-Kartierung in HEL- und B-Zellen für den Promotor P1-Bereich
12. DHS-Kartierung in HEL- und B-Zellen für Promotor P2
13. DHS-Kartierung in HEK293-Zellen für Promotor P2
14. EMSA mit 133 bp Promotor P1-Fragment
15. Supershift mit 133 bp Promotor P1-Fragment
16. EMSA mit Oligonukleotiden aus dem Bereich der kartierten DHS
17. Bindungsstudien und Konkurrenzexperiment mit PTOs und Kernprotein-
Extrakten aus erythroiden (K562- und HEL-) Zellen
18. Wachstumskurven von HEL-Zellen nach PTO-Behandlung
19. Transfektionsreagenzien zum Transfizieren von HEL-Zellen im Vergleich
20. Northern Blot von HEL-Zellen nach PTO-Behandlung
21. Reportergen/Luciferase-Assay mit P1 von *LMO2* in NIH3T3-Zellen
22. Sequenzierung von pGL2SK *mutant*
23. *LMO2* cDNA-Klone aus normalem adulten Nierengewebe, mittels Marathon
RACE
24. Alternative *LMO2* Transkripte in fötaler Leber
25. Verwandtschaftsverhältnis der LMO-Proteine

26. Lokalisation des putativen Promotors P2
27. Modell zur Regulation der *LMO2*-Transkription
28. Multipler Transkriptionsfaktorkomplex mit Beteiligung von *LMO2*

8.3. Tabellenverzeichnis

1. Zytogenetische Überprüfung der HEL-Zelllinie
2. DHS-Kartierung
2. Auswertung des Transfektionstests mit HEL-Zellen
3. Reporterogen/Luciferase-Assay

8.4. Sequenzverzeichnis

1. *LMO2* Promotor P1-Fragment (+253 bis -2960 bp, BamHI-BglIII-Fragment)
EMBL Acc. No.: AJ250281

8.5. Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Maik Martin Prüß
 Geburtsdatum: 8.7.1971
 Geburtsort: Otterndorf (Niederelbe)

Ausbildung:

1977 - 1990 Schulausbildung, Abitur am Gymnasium Otterndorf
 1990 - 1991 Zivildienst in Cadenberge
 1991 - 1997 Biochemiestudium an der Freien Universität Berlin. Diplom mit der Gesamtnote „sehr gut“, akad. Grad: Dipl.-Biochem.
 1996 - 1997 Diplomarbeit am MPI für Molekulare Genetik, Berlin
 1997 - 2000 Doktorarbeit am MPI für Molekulare Genetik, Berlin und Institut für Humangenetik und Anthropologie der Heinrich-Heine-Universität in Düsseldorf.

Angestellt:

1995 - 1996 Studentische Hilfskraft im Ressourcen-Zentrum des Deutschen Humangenomprojektes in Berlin
 1996 - 1997 Diplomarbeit bei Prof. Lehrach am MPI für Molekulare Genetik, Berlin zum Thema: „Physikalische Kartierung und Transkript Identifizierung im Bereich q24 des menschlichen X-Chromosoms“
 1997 - 2000 Doktorarbeit am MPI für Molekulare Genetik, Berlin und ab dem 1.1.98 am Institut für Humangenetik und Anthropologie der Heinrich-Heine-Universität in Düsseldorf bei Prof. Dr. Royer-Pokora zum Thema „Analyse der Transkriptionsregulation von *LMO2*, ein T-Zell Onkogen und essentieller hämatopoetischer Faktor“

8.6. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. Brigitte Royer-Pokora für die Überlassung des Themas, Ihrer Betreuung und die hervorragenden Arbeitsmöglichkeiten in Ihrer AG am MPI in Berlin und Ihrem Institut in Düsseldorf, und Herrn Prof. Dr. Dr. Manfred Schweiger für die Begutachtung meiner Dissertation.

Weiterhin danke ich:

- Dr. Valérie Schumacher, Dr. Matthias Drechsler und Prof. Dr. Tian Hui Zhu für die überaus kollegiale und freundschaftliche Zusammenarbeit während meiner Promotion. Eure Erfahrung und Hilfe bei den kleinen und großen Problemen eines Doktoranden war meine tägliche Stütze.

- Frau Dr. Barbara Hildebrand für die zytogenetische Überprüfung meiner Zellkulturen und Herrn Prof. Dr. Stuart H. Orkin, Harvard Medical School, Boston, für die FOG1- and GATA1-Expressionskonstrukte.

- Dr. Schulz, Urologie, HHU Düsseldorf, für das *c-Myc*-Konstrukt und die Benutzung des Luminometers und Dr. Köhler, BMFZ, Düsseldorf, für die Benutzung des Phosphorimagers.

- Frau Susanne Freyer und Prof. Dr. Ropers am MPI für Molekulare Genetik in Berlin für die Überlassung der immortalisierten B-Zellen und Dr. Georg Sczakiel am DKFZ, Heidelberg und Dr. Edgar Grienstein, Düsseldorf für die theoretische Hilfestellung bei meinen PTO-Experimenten.

- Frau Dipl.-Biol. Sandra Sonner und Herrn Dipl.-Biol. Gerald Pitschke für die freundschaftliche Atmosphäre im Labor und Monika Grigowski für die Rechtschreibkorrektur dieser Arbeit

- der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) für die Finanzierung

Zum Schluß wende ich mich an meine Mutter Birgitt Prüß, die auch in schweren Stunden immer für mich da war und an mich glaubte. Danke.