

# Anhang

## Geräte:

|                         |  |
|-------------------------|--|
| Autoklav                | Sterico, Vapoklav 500D   |
| DNA/RNA Synthesizer     | Applied Biosystems, Modell 391 PCR-MATE™EP                       |
| Heizblock               | Eppendorf  |
| HPLC-System             | Beckmann, System Gold  |
|                         | Programmable Solvent Module 126                                  |
|                         | Diode Array Detector 168   |
| HPLC-System             | Shimadzu   |
| Kühlfalle               | Unicryo MC 2L  |
| Magnetrührer            | IKA, Combimag RCT  |
| Minischüttler           | Bender & Hobein, Vortex Genie                                    |
| pH-Meter                | Knick, Digital pH-Meter 646, Ingold Elektrode                    |
| Pipetten                | Gilson, Pipetman P2, P10, P100, P200, P500, P1000, P5000, P10000 |
| Power Supply            | Pharmacia, ECPS 3000/150   |
| Quarzküvetten           | Helma, 104-QS, 105-QS  |
| Reinstwasseranlage      | Millipore, MilliQ  |
| Röntgenfilme            | Fuji, Medical X-ray Film RXOG                                    |
| Röntgenfilmkassetten    | Kodak, X-OMATIC C2   |
| Sterilfiltrationsanlage | Schleicher & Schuell   |
| Szintillationszähler    | Beckmann, LS 6000 SC   |
| UV-Spektralphotometer   | Shimadzu UV 260  |
| Vakuumpumpe             | Vakuubrand, Membran-Pumpe  |
| Vakuumtrocknungsanlage  | Savant, Speed Vac Concentrator                                   |
| Waagen                  | Mettler, PC 4400 und Satorius                                    |
| Wasserbäder             | Julabo, U3, 6A   |
| Zentrifugen             | Sigma Kühlzentrifuge 3 K 12, Tischzentrifuge 112                 |

## Chemikalien:

Alle Chemikalien wurden, wenn nicht anders vermerkt, im höchstmöglichen Reinheitsgrad verwendet und über Sigma-Fluka-Aldrich Chemie GmbH oder Lancaster bezogen.

|   |                              |
|---|------------------------------|
| $\gamma$ -[ <sup>32</sup> P]-ATP        | Amershem Pharmacia           |
| 10x TBE                                 | Gibco                        |
| 5'-[ <sup>32</sup> P]-pCp               | Amershem Pharmacia           |
| Acetonitril (H <sub>2</sub> O < 10 ppm) | Roth, Karlsruhe              |
| Acetonitril (H <sub>2</sub> O < 30 ppm) | Baker, Phillipsburg, NJ, USA |
| Acrylamis/Bis-Acrylamid 40:2            | Roth, Karlsruhe              |
| Ammoniumperoxodisulfat                  | Merck™, Darmstadt            |
| Bromphenolblau                          | Merck™, Darmstadt            |
| DCI                                     | Proligo                      |
| EDTA                                    | Serva, Heidelberg            |
| Ethidiumbromid                          | Serva, Heidelberg            |
| Glycogen                                | Boehringer, Mannheim         |
| Methylamin (40% in H <sub>2</sub> O)    | Fluka,                       |
| RNA-Phosphoramidite                     | ChemGenes, Proligo           |
| Röntgenfilm-Entwickler G150             | Agfa-Gevaert, Leverkusen     |
| Röntgenfilm-Fixierer G334               | Agfa-Gevaert, Leverkusen     |
| TEMED                                   | Serva, Heidelberg            |
| tert.-Butylhydroperoxid                 | Merck™, Darmstadt            |
| Xylencyanol                             | Serva, Heidelberg            |

**Enzyme:**

|  |                                 |
|--|---------------------------------|
| Alkalische Phosphatase, Kälberdarm               | Boehringer, Mannheim            |
| Nuclease P1 ( <i>Penicillium citrium</i> )       | Boehringer, Mannheim            |
| Phosphodiesterase I ( <i>Crotalus durissus</i> ) | Boehringer, Mannheim            |
| T4-Polynucleotid-Kinase                          | Promega,                        |
| T4-RNA-Ligase                                    | MBI Fermentas, Vilnius, Litauen |

**Puffer:**denaturierender Probenpuffer

0.02% BPB  
0.02% XC  
7M Harnstoff in 1x TBE

Stoppuffer

7 M Harnstoff  
50 mM EDTA  
0.02% BPB  
0.02% XC

**RP-HPLC:**

Puffer A: 50 mM TEAAc, pH 7.0  
Puffer B: 80% MeCN in Puffer A

Gradient 1: 1-8% Puffer B in 5 min  
8-13% Puffer B in 21 min  
13-100% Puffer B in 5 min  
100 % Puffer B 10 min  
100-1% Puffer B in 5 min  
1% Puffer B 5 min  
Temperatur des Säulenofens: 45°C  
Flußrate: 1ml/min  
RP-C18-Säule (4,6 x 250 mm)

Gradient 2: 1-16,6% Puffer B in 25 min  
16,6-100% Puffer B in 5 min  
100 % Puffer B 10 min  
100-1% Puffer B in 5 min  
1% Puffer B 5 min  
Temperatur des Säulenofens: 45°C  
Flußrate: 1ml/min  
RP-C18-Säule (4,6 x 250 mm)

**HPLC:**

Eluens A: Dichlormethan  
Eluens B: 3% Isopropanol in Dichlormethan

Gradient ribo: 0-30% B in 10 min  
30% B in 30 min  
100% B in 5 min  
100% B 25 min  
0% B in 5 min  
Flußrate: 1 ml/min  
Kieselgel 100 Säule  
(4 X 250 mm)

Gradient deoxy: 0-60% B in 10 min  
60% B in 30 min  
100% B in 5 min  
100% B 25 min  
0% B in 5 min  
Flußrate: 1 ml/min  
Kieselgel 100 Säule  
(4 X 250 mm)

**Verwendete Software:**

- GraFit, Version 3.04, Erithacus Software Ltd.
- ImageQuant, Version, Molecular Dynamics
- CS Chem Draw Ultra, Version 5.0, Cambridge Soft
- WebLab ViewerPro, Version 3.5, MSI
- POV Ray for Windows

**Synthesezyklus:**

| Step | Function | Function Name     | Time |
|------|----------|-------------------|------|
| 1    | 10       | 18 to waste       | 2    |
| 2    | 9        | 18 to column      | 15   |
| 3    | 2        | reverse flush     | 5    |
| 4    | 1        | block flush       | 3    |
| 5    | 28       | phos prep         | 3    |
| 6    | 61       | tet to waste      | 3    |
| 7    | 19       | B + tet to column | 4    |
| 8    | 4        | wait              | 600  |
| 9    | 90       | tet to column     | 2    |
| 10   | 19       | B + tet to column | 3    |
| 11   | 4        | wait              | 600  |
| 12   | 16       | cap prep          | 3    |
| 13   | 10       | 18 to waste       | 3    |
| 14   | 2        | reverse flush     | 5    |
| 15   | 1        | block flush       | 3    |
| 16   | 22       | cap to column     | 12   |
| 17   | 4        | wait              | 8    |
| 18   | 10       | 18 to waste       | 3    |
| 19   | 2        | reverse flush     | 5    |
| 20   | 1        | block flush       | 3    |
| 21   | 81       | 15 to waste       | 3    |
| 22   | 13       | 15 to column      | 10   |
| 23   | 10       | 18 to waste       | 5    |
| 24   | 4        | wait              | 180  |
| 25   | 1        | block flush       | 3    |
| 26   | 9        | 18 to column      | 10   |
| 27   | 2        | reverse flush     | 5    |
| 28   | 9        | 18 to column      | 10   |
| 29   | 2        | reverse flush     | 5    |
| 30   | 9        | 18 to column      | 20   |
| 31   | 2        | reverse flush     | 5    |

| Step | Function | Function Name | Time |
|------|----------|---------------|------|
| 32   | 1        | block flush   | 3    |
| 33   | 33       | cyc entry     | 1    |
| 34   | 10       | 18 to waste   | 3    |
| 35   | 9        | 18 to column  | 10   |
| 36   | 2        | reverse flush | 5    |
| 37   | 1        | block flush   | 3    |
| 38   | 6        | waste port    | 1    |
| 39   | 5        | advance fc    | 1    |
| 40   | 82       | 14 to waste   | 3    |
| 41   | 14       | 14 to column  | 6    |
| 42   | 108      | trityl flush  | 5    |
| 43   | 14       | 14 to column  | 6    |
| 44   | 4        | wait          | 7    |
| 45   | 108      | trityl flush  | 5    |
| 46   | 14       | 14 to column  | 6    |
| 47   | 4        | wait          | 7    |
| 48   | 108      | trityl flush  | 5    |
| 49   | 14       | 14 to column  | 6    |
| 50   | 4        | wait          | 7    |
| 51   | 108      | trityl flush  | 5    |
| 52   | 9        | 18 to column  | 20   |
| 53   | 108      | trityl flush  | 8    |
| 54   | 7        | waste bottle  | 1    |
| 55   | 9        | 18 to column  | 20   |
| 56   | 2        | reverse flush | 1    |
| 57   | 1        | block flush   | 3    |
| 58   | 34       | cyc end       | 1    |



# Lebenslauf

## **Diana Beyer**

Geburtsdatum: 27. Juni 1970

Geburtsort: Berlin

### **Schulbildung:**

1975-1982 Renee-Sintenis-Grundschule Berlin-Frohnau

1982-1989 Gabriele-von-Bülow-Gymnasium Berlin-Tegel

24. Mai 1989 Allgemeine Hochschulreife

### **Studium:**

1989-1992 Grundstudium der Chemie, FU Berlin

21. Januar 1992 Vordiplom in Studiengang Chemie

1992-1997 Hauptstudium der Chemie, FU Berlin

25. März 1997 Diplom im Studiengang Chemie

Juli 1996-März 1997 Diplomarbeit am Institut für Medizinische Immunologie der Humboldt Universität Berlin in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. J. Schneider-Mergener mit dem Thema: „Darstellung und Anwendung eines selektiv spaltbaren Ankersystems zur multiplen Peptidsynthese an Cellulose“

seit Juli 1997 Doktorarbeit am Institut für Biochemie der Freien Universität Berlin in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. V.A. Erdmann

### **Tätigkeiten neben dem Studium:**

1. Oktober 1993-31. März 1997 Studentische Hilfskraft mit Unterrichtsaufgaben (Tutor) begleitend zu den Vorlesungen „Mathematik für Chemiker, Biochemiker und Mineralogen, Teil I und II“

15. Juli 1997-30. September 2000 Stipendiatin der DFG im Graduiertenkolleg „Modellstudien zu Struktur, Eigenschaften und Erkennung biologischer Moleküle auf atomarer Ebene“

## Publikationen

Beyer, D., Erdmann, V.A. & Fürste, J.P. (2000) A New Tag for RNA Interference Mapping, *EMBO J.* eingereicht