

9. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildung 1.1: Der BER-Mechanismus.....	1
Abbildung 1.2: Mechanismus von „short patch BER“ und „long patch BER“.....	5
Abbildung 1.3: Poly(ADP-Ribosyl)ierung	8
Abbildung 1.4: Funktionelle Domänen von PARP-1.....	9
Abbildung 1.5: Mögliche Rolle von PARP-1 im SSBR-Mechanismus	12
Abbildung 1.6: Mechanismus der Gewinnung von ATP aus PAR.....	13
Abbildung 1.7: Derzeit bekannte Interaktionen innerhalb des BER/SSBR-Komplexes	14
Abbildung 1.8: Endonukleolytische Spaltung einer abasischen Stelle durch APE 1.....	15
Abbildung 1.9: Pol β : Nukleotidyltransferase- und dRP-Lyase-Aktivität.....	17
Abbildung 1.10: Katalysemechanismus von ATP-abhängigen DNA-Ligasen	18
Abbildung 1.11: Funktionelle Domänen von Lig III.....	19
Abbildung 1.12: Funktionelle Domänen von XRCC1	21
Abbildung 2.1: Erzeugung von AP-Substraten mit UDG	39
Abbildung 2.2: Erzeugung eines Ligasesubstrats	40
Abbildung 2.3: Analyse der Ligationsaktivität durch denaturierende PAGE.....	53
Abbildung 2.4: Reparatur von künstlichen Nick- oder Gap-Substraten	55
Abbildung 2.5: Prinzip der Reparatur von AP-Substraten	56
Abbildung 3.1: Die isolierten rekombinanten Proteine des BER-Komplexes	59
Abbildung 3.2: Die Enzymaktivität von isolierter rekombinanter APE 1	60
Abbildung 3.3: Ligationsaktivität von isolierter rekombinanter Lig III.....	61
Abbildung 3.4: Proteingehalt von PARP-1 und Lig III in DOG-behandelten Zellen	63
Abbildung 3.5: Die PARP-1-Aktivität ist in Abwesenheit von ATP erhöht	64
Abbildung 3.6: Die Pol β -Aktivität wird nicht direkt durch ATP beeinflusst.....	66
Abbildung 3.7: BER und SDDS am AP-Substrat.....	67
Abbildung 3.8: Stimulierung von SDDS durch XRCC1	68
Abbildung 3.9: SDDS durch Pol β am Nick-Substrat.....	69
Abbildung 3.10: Einfluss von ATP auf SDDS durch Pol β am Nick-Substrat	70
Abbildung 3.11: FEN 1 und XRCC1 stimulieren die SDDS durch Pol β	72
Abbildung 3.12: Einfluss von FEN 1 und XRCC1 auf die Pol β -Aktivität in Gegenwart von Lig III.....	73
Abbildung 3.13: Die Ligationsaktivität von Lig III wird nicht durch XRCC1 stimuliert	74
Abbildung 3.14: Das Verhältnis von „long patch BER“ zu „short patch BER“ ändert sich mit der ATP-Konzentration	75
Abbildung 3.15: SDDS und NAD ⁺ ermöglichen die Ligation im Kernextrakt	78
Abbildung 3.16: Die inaktive Mutante Lig III K421V	80
Abbildung 3.17: Der ATP-abhängige Wechsel zwischen „short patch BER“ und „long patch BER“ tritt in Gegenwart von Lig III K421V nicht auf	81

Abbildung 3.18: Die Enzymaktivität der Mutante Lig III D423N.....	83
Abbildung 3.19: Die Enzymaktivität der Mutante Lig III D423A.....	84
Abbildung 3.20: Der ATP-abhängige Wechsel zwischen „short patch BER“ und „long patch BER“ in Gegenwart von Lig III D423A	85
Abbildung 3.21: Der ATP-abhängige Wechsel zwischen „short patch BER“ und „long patch BER“ in Gegenwart von Lig III D423N	86
Abbildung 3.22: Bindung von Lig III WT, D423A und K421V an DNA-Einzelstrangbrüche .	87
Abbildung 4.1: Einfluss der Energiesituation auf den BER-Mechanismus	90
Abbildung 4.2: Der Einfluss von ATP auf Pol β benötigt die Adenylierung von Lig III	93
Abbildung 4.3: Unterschiedliche Einflüsse von Lig III, FEN 1 und XRCC1 auf die Aktivität von Pol β	97
Abbildung 4.4: XRCC1 koordiniert die Aktivitäten von Pol β und Lig III	99
Abbildung 10.1: Vektorkonstrukte zur Expression von APE 1, FEN 1, PARP-1 und Pol β	120
Abbildung 10.2: Vektorkonstrukte zur Expression von Lig III und XRCC1	121
Tabelle 1.1: Die Protein-Protein-Interaktionen von XRCC1	22
Tabelle 2.1: Vektorkonstrukte mit für Reparaturproteine kodierenden Sequenzen	27
Tabelle 2.2: Durch die PCR eingefügte Restriktionsschnittstellen	35
Tabelle 2.3: Programm für die PCR	36
Tabelle 2.4: Programm für die gerichtete Mutagenese	38
Tabelle 2.5: Bedingungen für die Proteinexpression.....	43
Tabelle 2.6: Entnahme von Proben für die Expressionskontrolle.....	43
Tabelle 2.7: Expressions- und Säulenvolumen für die Proteinreinigung	45
Tabelle 2.8: Waschbedingungen für die Proteinreinigung.....	45
Tabelle 2.9: Mengen an Protein und Säulenmatrix für die Antikörperreinigung	47
Tabelle 2.10: Bestimmung der PARP-Aktivität.....	51
Tabelle 2.11: DNA-Reparaturansätze mit Nick- oder Gap-Substraten.....	56
Tabelle 2.12: DNA-Reparaturansätze mit AP-Substraten	57
Tabelle 2.13: DNA-Reparaturansätze mit Kernextrakten	58