

2. Problemstellung

Im Unterschied zu der Vielzahl von Untersuchungen zur *in vivo* Suppression gibt es in der Literatur keine einzige systematische Untersuchung über die Suppressionseffizienz von *in vitro* transkribierten *amber*-Suppressor-tRNAs in der *in vitro* Translation. Ziel dieser Arbeit ist es, mehr Licht auf die besonderen Verhältnisse beim Einsatz von *in vitro* transkribierten *amber*-Suppressor-tRNAs in der *in vitro* Suppression zu werfen. Hierdurch sollten die Voraussetzungen dafür geschaffen werden, in der Arbeitsgruppe eine generelle Nutzung des Prinzips „Einführung unnatürlicher Aminosäuren in Proteine mit Hilfe chemisch aminoacylierter *amber*-Suppressor-tRNAs“ zu ermöglichen. Im Mittelpunkt der Arbeit standen folgende Fragen:

- Lassen sich die umfangreichen in der Literatur vorhandenen Arbeiten zur *amber*-Suppression *in vivo* auf die speziellen Verhältnisse bei der Verwendung *in vitro* transkribierter tRNAs innerhalb eines *in vitro* Translationssystems übertragen?
- Durch welche Reaktionen innerhalb der Proteinbiosynthese *in vitro* werden die Aktivitäten von *amber*-Suppressor-tRNAs limitiert?
- Welche *amber*-Suppressor-tRNAs zeigen *in vitro* die beste Suppressionseffizienz?
- Gibt es in tRNAs allgemeine Strukturelemente, die zu einer guten Suppressionseffizienz *in vitro* führen?
- Sind die in der Literatur für die Einführung unnatürlicher Aminosäuren verwendeten *amber*-Suppressor-tRNAs gute oder schlechte Suppressoren?
- Gibt es möglicherweise für die Einführung unnatürlicher Aminosäuren *in vitro* besser geeignete *amber*-Suppressor-tRNAs?