

7. Anhang

7.1 Abkürzungsverzeichnis

Aminosäuren

A	Ala	Alanin	N	Asn	Asparagin
C	Cys	Cystein	P	Pro	Prolin
D	Asp	Aspartat	Q	Gln	Glutamin
E	Glu	Glutamat	R	Arg	Arginin
F	Phe	Phenylalanin	S	Ser	Serin
G	Gly	Glycin	T	Thr	Threonin
H	His	Histidin	V	Val	Valin
I	Ile	Isoleucin	W	Trp	Tryptophan
K	Lys	Lysin	Y	Tyr	Tyrosin
L	Leu	Leucin			
M	Met	Methionin	X		beliebige Aminosäure

Sonstige Abkürzungen

2xYT	Doppelt konzentriertes Bakterienvollmedium
A	Ampere
AD	„Alzheimers Disease“, Alzheimer Krankheit
AICD	APP intrazelluläre Domäne
Amp	Ampicillin
APP	„Amyloid Precursor Protein“, Amyloid-Vorläuferprotein
APS	Ammoniumperoxodisulfat
AS	Aminosäure
BACE	„ β -site-APP-cleaving-Enzyme“, β -Sekretase
BACE-NT	rekombinante BACE Ektodomäne (1-461)
BACE-VL	Volllängenform der β -Sekretase
bp	Basenpaare

CT	C-Terminus
β CTF	β -geschnittenes C-terminales APP Fragment
α CTF	α -geschnittenes C-terminales APP Fragment
Da	Dalton
DMEM	„Dulbeccos Modified Eagle Medium“
DTT	Dithiothreitol
ECL	„Enhanced Chemiluminescence“
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ER	Endoplasmatisches Retikulum
EtOH	Ethanol
FAD	Familiäre AD
FCS	„Fetal calf serum“ fötales Kälberserum
FPLC	„Fast Performace Liquid Chromatography“
fwd	„forward“, 5' – 3' Primer
HRP	„Horse radish peroxidase“, Meerrettichperoxidase
hyg	Hygromycin
IEC	„Ionexchange chromatography“, Ionenaustauschchromatographie
IMAC	Immobilisierte Metallchelate-Affinitätschromatographie, Immobilisierte Metallionenchelate-Adsorptionschromatographie
IP	Immunpräzipitation
kDa	Kilodalton
KO	„Knock out“
LB	Luria Bertani Bakterienmedium
MALDI-MS	„Matrix assisted Laser Desorption Ionization mass spectrometry“
MEM	„Minimum essential Medium“
MetOH	Methanol
min	Minute
NEAA	„Non essential aminoacids“, nicht essentielle Aminosäuren
NT	N-Terminus
p.A.	pro Analyse
PA	Polyacrylamid
PAGE	Polyacrylamidgelelektrophorese
PBS	„Phosphat buffered saline“, Phosphatgepufferte Salzlösung
PM	Plasmamembran

Pos.	Position
QC	Quadrupel Cysteinmutation (AS 457-460) am C-Terminus der rekombinanten BACE Ektodomäne 1-461.
rev	„reverse“, 3' – 5' Primer
rpm	„rounds per minute“, (Umdrehungen pro minute)
RT	Raumtemperatur
RT-SPR	“Real Time Surface Plasmon Resonance”
sAPP β	β -geschnittene APP Ektodomäne
sAPP α	α -geschnittene APP Ektodomäne
SDS	„Sodiumdodecylsulfat“, Natriumdodecylsulfat
SEC	„Size exclusion chromatography“, Größenausschlusschromatographie, Gelfiltration
sec	Sekunde
TBE	Tris-Borat-EDTA Puffer
U	„Units“, Enzymeinheiten
ÜN	über Nacht
ÜS	Überstand
V	Volt
v/v	Volumen / Volumen
Vol	Volumen
WB	„Western Blot“, Immunblot
wt	Wildtyp
w/v	„weight / volume“, Gewicht / Volumen
zeo	Zeocin
ZMBH	Zentrum für Molekulare Biologie Heidelberg

7.2 Klonierungsstrategie

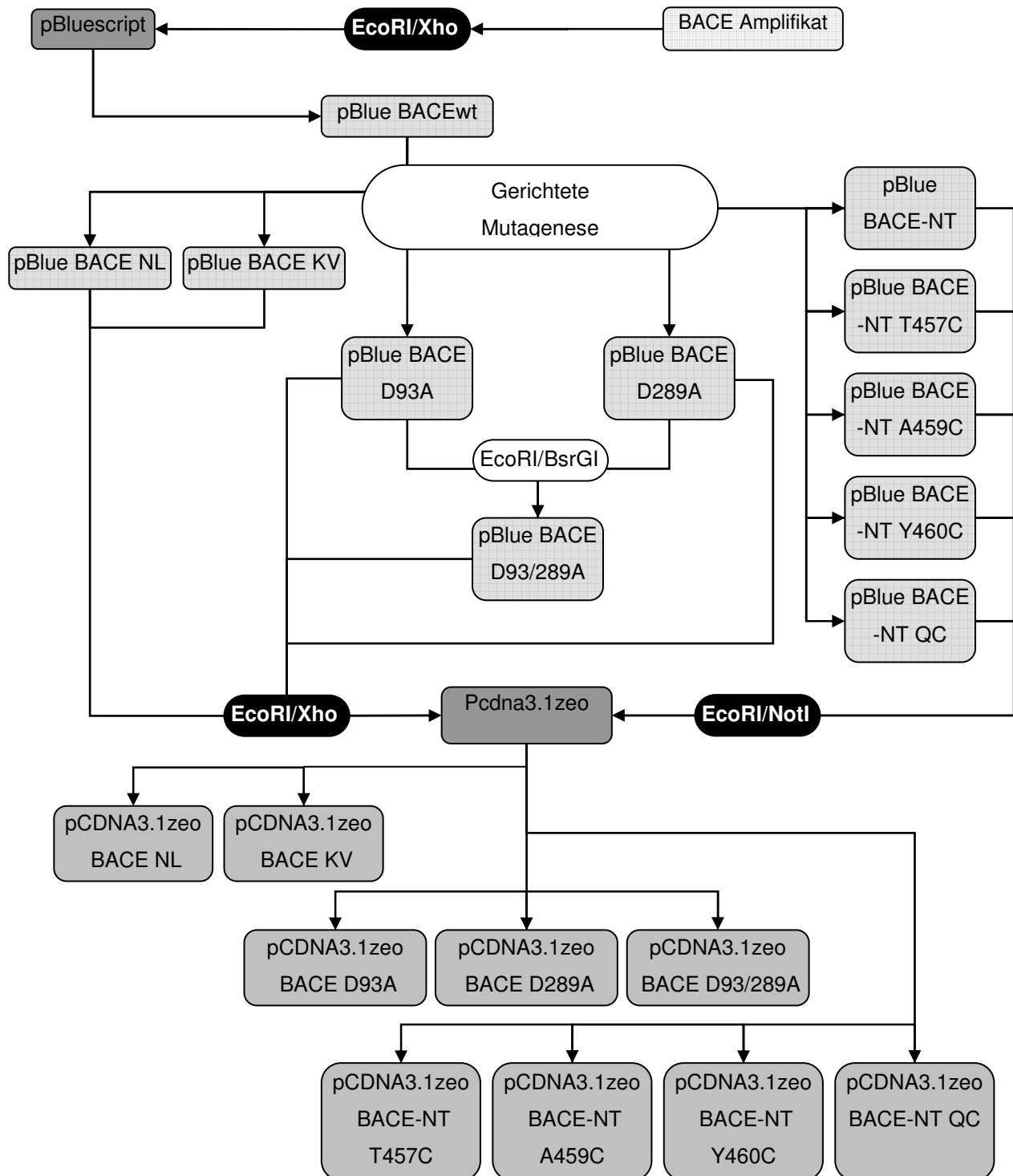


Abbildung 7.1

Klonierungsschema zur Übersicht der erstellten Subklone in pBluescript zum Zweck der Mutagenese und den Expressionskonstrukten in pCDNA 3.1zeo+ (Invitrogen). Die Enzyme in den schwarzen Kästen geben die verwendeten Restriktionsschnittstellen an. BACE-NT: C-terminal trunkeertes BACE ohne Transmembrandomäne und zytoplasmatische Domäne, NL: BACE K275N, M276L, KV: BACE M276V, pBlue: pBluescript, QC: Quadrupel Cysteinmutation.