

9 Anhang

9.1 Abkürzungen

β -ME	Beta-Mercaptoethanol
^{32}P	radioaktives Nuklid des Phosphors
A	Adenin
Ab	Antikörper
Abb.	Abbildung
AS	Aminosäure
bp	Basenpaar(e)
BSA	Rinderserumalbumin
C	Cytosin
cDNA	komplementäre DNA
Ci	Curie
cpm	Zählereignisse pro Minute
dATP	2'-Desoxyadenosin-5'-triphosphat
DBD	DNA-Bindungsdomäne
dCTP	2'-Desoxycytidin-5'-triphosphat
ddNTP	2',3'-Didesoxynukleosid-5'-triphosphat
dGTP	2'-Desoxyguanosin-5'-triphosphat
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DNase	Desoxyribonuklease
dNTP	2'-Desoxynukleosid-5'-triphosphat
dsDNA	doppelsträngige DNA
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ELISA	Enzym-gebundener Immunoassay
Fa.	Firma
FCS	fötale Kälberserum
G	Guanosin
Gal4 _{AD}	Transaktivierungsdomäne des Transkriptionsfaktors GAL4

Gal4 _{DBD}	DNA-Bindungsdomäne des Transkriptionsfaktors GAL4
GCNF	germ cell nuclear factor
GFP	green fluorescent protein
h	Stunde(n)
kb	Kilobasenpaar(e)
kDa	Kilodalton
L	Liter
LacZ	β-Galaktosidase
LB	Luria Broth
LBD	Ligandenbindungsdomäne
M	mol/l
mA	Milliampère
Min	Minute(n)
mRNA	Boten RNA
MW	Molekulargewicht
NCoR _{ID-I/-II}	nuclear corepressor, Interaktionsdomäne I und II
nt	Nukleotid
OD _x	optische Dichte bei x nm Wellenlänge
PBS	Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung
PCR	Polymerasekettenreaktion
PEG	Polyethylenglykol
RNA	Ribonukleinsäure
RNase	Ribonuklease
rpm	Umdrehungen pro Minute
RT	Raumtemperatur
RT-PCR	PCR nach reverser Transkription
s	Sekunden
SDS	Natriumdodecylsulfat
SDS-PAGE	SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese
SSC	Natriumchlorid-Natriumzitat-Lösung
ssDNA	einzelsträngige DNA
T	Thymidin
TAE	Tris-Azetat-EDTA
TBE	Tris-Borat-EDTA
TBS	Trisbase-gepufferte Kochsalzlösung

TE	Tris-EDTA
TEMED	N, N, N', N'-Tetramethylethyldiamin
Tris	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
U	Einheiten
Ura	Uracil
UV	Ultraviolett
V	Volt
v/v	Volumen pro Volumen
w/v	Gewicht pro Volumen
wt	Wildtyp

Aminosäure	Einbuchstabenkode	Dreibuchstabenkode
Alanin	A	Ala
Arginin	R	Arg
Asparaginsäure	D	Asn
Cystein	C	Cys
Glutamin	Q	Gln
Glutaminsäure	E	Glu
Glycin	G	Gly
Histidin	H	His
Isoleucin	I	Ile
Leucin	L	Leu
Methionin	M	Met
Phenylalanin	F	Phe
Prolin	P	Pro
Serin	S	Ser
Threonin	T	Thr
Tryptophan	W	Trp
Tyrosin	Y	Tyr
Valin	V	Val

9.2 cDNA-Sequenzen

hGCNF:

```

1   CGGCGCGGAGCCGGGCGGCTCGGGGCCAGAGAGAGCCGCGGCCGGGAGCTCGCGGGCTC
61  CTGACAACCTCCTCCCTCGGCGGACGACGACCACGGCGACTAGGGCGCCGGTCATGGCG
121 GAGCAACAAACCCGGCGCGGACCCTAGGCACCACCGCATGGAGCGGGACGAACCGCCGCC
1   M E R D E P P P
181 TAGCGGAGGGGAGGCGGCGGGGGCTCGGCGGGGTTTCCTGGAGCCTCCCGCCGCGTCCC
9   S G G G G G G S A G F L E P P A A L P
      ><                                     ><
241 TCCGCCGCCGCGCAACGGTTTCTGTGTCAGGATGAATTGGCAGAGCTTGACCCAGGCACTAT
29  P P P R N G F C Q D E L A E L D P G T I
      _____
301 TTCTGTTTCAGATGATCGGGCTGAACAACGAACCTGTCTCATTGTGGGGACCGCGCTAC
49  S V S D D R A E Q R T C L I C G D R A T
361 AGGCTTGCACTATGGGATCATCTCCTGTGAGGGCTGCAAAGGGTTTTTCAAGCGGAGCAT
69  G L H Y G I I S C E G C K G F F K R S I
421 TTGCAACAAACGGGTATATCGATGCAGTCGTGACAAGAAGTGTGTCTGTCTCGGAAGCA
89  C N K R V Y R C S R D K N C V M S R K Q
      _____
481 GAGGAACAGGTGCCAGTACTGCCGCCTGCTCAAATGCCTCCAGATGGGGATGAACCGGAA
109 R N R C Q Y C R L L K C L Q M G M N R K
541 GGCTATCAGAGAAGATGGCATGCCTGGAGGCCGGAATAAGAGCATTGGGCCAGTCCAGAT
129 A I R E D G M P G G R N K S I G P V Q I
601 ATCGGAAGAAGAAATCGAAAGGATCATGTCTGGGCAGGAGTTTGAGGAAGAGGCCAATCA
149 S E E E I E R I M S G Q E F E E E A N H
661 CTGGAGCAACCATGGTGATAGTGACCACAGTTCCCTGGGAACAGGGCTTCGGAGAGCAA
169 W S N H G D S D H S S P G N R A S E S N
      (---)
721 CCAGCCCTCACCAGGCTCCACACTGTCTTCCAGTAGGTCTGTGGAAGTGAATGGATTTCAT
189 Q P S P G S T L S S S R S V E L N G F M
781 GGCCTTCAGGGAACAGTACATGGGAATGTCTGTGCCTCCACATTACCAATATATACCGCA
209 A F R E Q Y M G M S V P P H Y Q Y I P H
841 CCTTTTTAGCTATTCTGGCCACTCACCATTCTGCCCAACAAGCTCGCAGCCTGGATCC
229 L F S Y S G H S P L L P Q Q A R S L D P
901 CCAGTCATACAGTCTGATTCACCAGCTGTTATCAGCCGAGGACCTGGAACCATTTGGGCAC
249 Q S Y S L I H Q L L S A E D L E P L G T
961 GCCCATGTTGATTGAAGATGGATACGCTGTGACACAGGCAGAAGTATTTGCCCTGCTTTG
269 P M L I E D G Y A V T Q A E L F A L L C
1021 CCGCCTGGCCGACGAGCTGCTCTTTAGGCAGATTGCCTGGATCAAGAACTGCCTTTCTT
289 R L A D E L L F R Q I A W I K K L P F F
1081 CTGCGAGCTCTCAATCAAGGATTACACGTGCCTCTTGAGCTCTACGTGGCAGGAGCTAAT
309 C E L S I K D Y T C L L S S T W Q E L I

```

```

1141 CCTGCTGTCTTCCCTCACCGTTTACAGCAAGCAGATCTTTGGGGAACCTGGCTGATGTCAC
329 L L S S L T V Y S K Q I F G E L A D V T
1201 TGCCAAGTACTCGCCCTCCGATGAAGAACTACACAGATTTAGTGATGAAGGGATGGAGGT
349 A K Y S P S D E E L H R F S D E G M E V
1261 GATCGAGCGGCTCATCTACCTCTATCACAAGTTCCATCAGCTAAAGGTCAGCAACGAGGA
369 I E R L I Y L Y H K F H Q L K V S N E E
1321 GTATGCTTGCATGAAAGCAATTAACCTTCCATAAATCAAGATATCAGGGGTCTGACCAGTGC
389 Y A C M K A I N F L N Q D I R G L T S A
1381 CTCACAGCTGGAACAATTGAATAAACGATACTGGTACATTTGCCAGGATTTTACTGAATA
409 S Q L E Q L N K R Y W Y I C Q D F T E Y
1441 TAAATACACACATCAGCCGAACCGCTTTCCTGATCTCATGATGTGCTTACCTGAGATTTCG
429 K Y T H Q P N R F P D L M M C L P E I R
1501 ATATATTGCAGGAAAGATGGTGAATGTGCCCTGGAGCAGCTGCCCTCCTCTTTAAGGT
449 Y I A G K M V N V P L E Q L P L L F K V
1561 GGTGCTGCATTCTGCAAGACCAGTGTGGGCAAGGAATGACCTGTTCCAGGCGCCCTCCT
469 V L H S C K T S V G K E *
1621 CAGGCCAACACAGCGTCTTGGGTGGGCAGGACAGGCTCTGGAGGGAAAAGCCAGAGAGA
1681 CCAAGATGGAGGCTGTGGAGCAGCATTTCCTCCGTTGCCTCCATAGCAAGAAGAGTTTTTGT
1741 TTGTTTGTCTGTTTTTTTAACTCATTTCCTATATATTTATTTTACGACAGAGTTGAAT
1801 GTATGGCCTTCAACATGATGCACATGCTTTTTGTGTGAATGCAGCCAATGCATTTTCTTAC
1861 AGTTTACAGAATGTGAAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
      |
      (AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA)

```

Abb. 35: **Nukleotidsequenz und abgeleitete Aminosäuresequenz der beiden vollständigen *hGCNF*-cDNAs Klon#5 und Klon#1.** Die interne Deletion von 3 bp (Nukleotidposition 752-754) bei Klon#1, die zum Fehlen der Aminosäure Serin in der kodierten Proteinsequenz führt, und die alternative Polyadenylierungsstelle sind in Klammern dargestellt. Die Regionen, die den PCR-Primern zur Erstellung der 170 bp *hGCNF*-Sonde entsprechen, sind überstrichen. Die putative Lage zweier Introns im *hGCNF*-Gen (nach Position 257 und 299) sind durch (><) markiert. Die Sequenz ist in der Genbank unter der *accession number* U80802 abgelegt worden.

hNCoR:

1 AAGCATGAAGCTGCCAGGTTAGAAGAAAATTTGAGAAGCAGGTCAGCAGCAGTTAGTGAA
 1 K H E A A R L E E N L R S R S A A V S E
 61 CAGCAGCAGCTAGAGCAGAAAACCCTGGAGGTGGAGAAGAGATCTGTTTCAGTGTTTATAC
 21 Q Q Q L E Q K T L E V E K R S V Q C L Y
 121 ACTTCTTCAGCCTTTCCAAGTGGCAAGCCCAGCCTCATTCTTCAGTAGTTTATTCTGAG
 41 T S S A F P S G K P Q P H S S V V Y S E
 181 GCTGGGAAAGATAAAGGGCCTCCTCCAAAATCCAGATATGAGGAAGAGCTAAGGACCAGA
 61 A G K D K G P P P K S R Y E E E L R T R
 241 GGGAAGACTACCATTACTGCAGCTAACTTCATAGACGTGATCATCACCCGGCAAATTGCC
 81 G K T T I T A A N F I D V I I T R Q I A
 301 TCGGACAAGGATGCGAGGGAACGTGGCTCTCAAAGTTCAGACTCTTCTAGTAGCTTATCT
 101 S D K D A R E R G S Q S S D S S S S L S
 361 TCTCACAGGTATGAAACACCTAGCGATGCTATTGAGGTGATAAGTCTGCCAGCTCACCT
 121 S H R Y E T P S D A I E V I S P A S S P
 421 GCGCCACCCAGGAGAACTGCAGACCTATCAGCCAGAGGTTGTTAAGGCAAATCAAGCG
 141 A P P Q E K L Q T Y Q P E V V K A N Q A
 481 GAAAATGATCCTACCAGACAATATGAAGGACCATTACATCACTATCGACCACAGCAGGAA
 161 E N D P T R Q Y E G P L H H Y R P Q Q E
 541 TCACCATCTCCCAACAACAGCTGCCCCCTTCTTCACAGGCAGAGGGAATGGGGCAAGTG
 181 S P S P Q Q Q L P P S S Q A E G M G Q V
 601 CCCAGGACCCATCGGCTGATCACACTTGCTGATCACATCTGTCAAATATCACACAAGAT
 201 P R T H R L I T L A D H I C Q I I T Q D
 661 TTTGCTAGAAATCAAGTTTCCTCGCAGACTCCCCAGCAGCCTCCTACTTCTACATTCCAG
 221 F A R N Q V S S Q T P Q Q P P T S T F Q
 721 AACTCACCTTCTGCTTTGGTATCTACACCTGTGAGGACTAAAACATCAAACCGTTACAGC
 241 N S P S A L V S T P V R T K T S N R Y S
 781 CCAGAATCCCAGGCTCAGTCTGTCCATCATCAAAGACCAGGTTCAAGGTCTCTCCAGAA
 261 P E S Q A Q S V H H Q R P G S R V S P E
 841 AATCTTGTGGACAAATCCAGGGGAAGTAGGCCTGGAAAATCCCAGAGAGGAGTCACGTC
 281 N L V D K S R G S R P G K S P E R S H V
 901 TCTTCGGAGCCCTACGAGCCATCTCCCCACCCAGGTTCCGGTTGTGCATGAGAAACAG
 301 S S E P Y E P I S P P Q V P V V H E K Q
 961 GACAGCTTGCTGCTCTTGTCTCAGAGGGGCGCAGAGCCTGCAGAGCAGAGGAATGATGCC
 321 D S L L L L S Q R G A E P A E Q R N D A
 1021 CGCTCACCAGGGAGTATAAGCTACTTGCCTTCATTCTTCACCAAGCTTGAAAATACATCA
 341 R S P G S I S Y L P S F F T K L E N T S
 1081 CCCATGGTTAAATCAAAGAAGCAGGAGATTTTTTCGTAAGTTGAACTCCTCTGGTGGAGGT
 361 P M V K S K K Q E I F R K L N S S G G G
 1141 GACTCTGATATGGCAGCTGCTCAGCCAGGAAGTGGAGATCTTTAATCTGCCAGCAGTTACT
 381 D S D M A A A Q P G T E I F N L P A V T
 1201 ACGTCAGGCTCAGTTAGCTCTAGAGGCCATTCTTTTGCTGATCCTGCCAGTAATCTTGGG
 401 T S G S V S S R G H S F A D P A S N L G
 1261 CTGGAAGACATTATCAGGAAGGCTCTCATGGGAAGCTTTGATGACAAAGTTGAGGATCAT
 421 L E D I I R K A L M G S F D D K V E D H
 1321 GGAGTTGTCATGTCCCAGCCTATGGGAGTAGTGCCTGGTACTGCCAACACCTCAGTTGTG
 441 G V V M S Q P M G V V P G T A N T S V V
 1381 ACCAGTGGTGAGACACGAAGAGAGGAAGGGGACCCATCACCTCATTGAGGAGGAGTTTGC
 461 T S G E T R R E E G D P S P H S G G V C

```

1441 AAACCAAAGCTGATCAGCAAGTCAAACAGCAGGAAATCTAAGTCTCCTATACCTGGGCAA
481 K P K L I S K S N S R K S K S P I P G Q
1501 GGCTACTTAGGAACGGAACGGCCCTCTTCAGTCTCCTCTGTACATTCAGAAGGGGATTAC
501 G Y L G T E R P S S V S S V H S E G D Y
1561 CATAGGCAGACGCCAGGGTGGGCCTGGGAAGACAGGCCCTCTTCAACAGGCTCAACTCAG
521 H R Q T P G W A W E D R P S S T G S T Q
1621 TTTCCTTATAACCCTCTGACTATGCGGATGCTCAGCAGTACTCCACCAACACCGATTGCA
541 F P Y N P L T M R M L S S T P P T P I A
1681 TGTGCTCCCTCTGCGGTGAACCAAGCAGCTCCTCACCAACAGAACAGGATCTGGGAGCGA
561 C A P S A V N Q A A P H Q Q N R I W E R
1741 GAGCCTGCCCACTGCTCTCAGCACAGTACGAGACCCTGTTCGGATAGTGATGACTGA
581 E P A P L L S A Q Y E T L S D S D D *

```

Abb. 36: Nukleotidsequenz und abgeleitete Aminosäuresequenz der isolierten hNCoR-cDNA. Die isolierte cDNA entspricht dem 3'-Terminus der Maus NCoR-Sequenz von Nukleotidposition 5691-7478 (siehe Abb. 25).

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mich bei der Erstellung dieser Arbeit in der verschiedensten Weise unterstützt haben.

Herrn Dr. W.-D. Schleuning danke ich für die Ermöglichung der Arbeit am Institut für Zell- und Molekularbiologie der Schering AG, für die Bereitstellung der sehr guten Arbeitsbedingungen und seine vielfältigen Anregungen.

Bei Prof. Dr. V. Erdmann und Prof. Dr. P. Donner möchte ich mich für die bereitwillige Übernahme der Begutachtung der Arbeit bedanken.

Besonders bedanke ich mich bei Dr. Jörn Krätzschar für die intensive Betreuung, die ständige Ansprechbarkeit und Diskussionsbereitschaft und die Unterstützung mit Rat und Tat während der gesamten Arbeit.

Ein ganz herzliches Dankeschön gilt Dr. Hanna Beekmann, die sich stets Zeit genommen hat und mir mit vielen Ideen, Methoden, Diskussionen und ihrem großen Fachwissen immer wieder sehr geholfen hat.

Dr. Manfred Husemann und Dr. Austin Cooney (Baylor College of Medicine, Houston) danke ich für die inspirierenden Treffen zum Stand der Forschung, die bei mir jedesmal für neue Motivation gesorgt haben. Dazu hat auch Dr. Martin Fritsch beigetragen, dem ich eine fröhliche Zusammenarbeit und viele Diskussionen verdanke.

Unter allen langjährigen Labormitstreitern möchte ich mich ganz besonders bei Daniela Schilling bedanken, die mit ihrer enormen Hilfsbereitschaft immer zu Stelle war, wenn mal gar nichts mehr geklappt hat. Ihr Interesse an dieser Arbeit, ihr offenes Ohr für Probleme und die netten Gespräche zwischendurch haben mich sehr unterstützt. Auch allen Anderen, die zur angenehmen Arbeitsatmosphäre beigetragen haben und mit denen ich auch über das Labor hinaus viel Spaß hatte, möchte ich danken.

Meine Eltern haben mir durch ihre ständige Unterstützung und Hilfe in jeder Hinsicht den Rahmen und die Voraussetzungen für die Durchführung dieser Arbeit geschaffen. Danke!

Während der gesamten Arbeit hat sie mir durch ihr Verständnis und ihre Aufmunterungen den Rücken gestärkt, auch wenn die Arbeit zum Teil viel Zeit gekostet hat. Danke, Ulli für alles!

Lebenslauf

Angaben zur Person:	Name:	Marcus Kapelle
	Geburtstag:	30.12.68
	Geburtsort:	Berlin
	Staatsangehörigkeit:	deutsch
	Familienstand:	ledig
Schulbildung:	1975-1979	Grundschule in Grevenbroich
	1979-1988	Pascal-Gymnasium in Grevenbroich
	31.05.1988	Abschluß: Hochschulreife (Note 1,7)
Studium:	1988-1992	Studium der Chemie an der Freien Universität Berlin
	01.04.1992	Vordiplom im Fach Chemie
	1990-1995	Studium der Biochemie an der Freien Universität Berlin
	01.04.1992	Vordiplom im Fach Biochemie
	1994-1995	Diplomarbeit am Benjamin Franklin Klinikum Berlin, Institut für Immunologie der FU-Berlin, Prof. Dr. T. Diamantstein "Expression des P-Selektin-Glykoprotein- Liganden-1 (PSGL-1) als chimärisches Protein"
	21.03.1995	Abschluß als Diplom-Biochemiker (Prädikat "sehr gut")
	seit 1995	Promotion (Promotionsstipendiat von 1995-1999) bei der Schering AG in Berlin, Institut für Zell- und Molekularbiologie
Beruf:	seit 1999	Wissenschaftlicher Mitarbeiter der Schering Deutschland GmbH, Abteilung Medizin/Marketing Neurologie