

9. Anhang

9.1. PCR-Primer

Primername	Primersequenz (5' -> 3')	Annealing-temperatur [°C]	Zielsequenz
BNX104L	CTC TTC TAA GAT CCA AAG CC	46	bcl-x(Ct11) 5'-NTR
BNX53L	GTC CAA AAC ACC TGC TC	46	bcl-x(Ct11) 5'-NTR
BNX843R	CT TTA GGG TTT CGG AC	46	bcl-x(Ct11) 5'-NTR
BNX874R	CT CAC TGA AAC CTT GAA C	46	bcl-x(Ct11) 5'-NTR
BCX309L	ATC AAT GGC AAC CCA TCC TGG CAC C	60	bcl-x cod.
BCX840R	GAG GT AGA GTG GAT GGT CAG TGT C	60	bcl-x cod.
BCX105L	GCA GGT GTT TTG GAC AAT G	60	bcl-x cod.
BCX128L	TG TTG AGC CA TCC CTA TT	60	bcl-x cod.
B1A1683R	CAA CCA GTC CAT TGT CCA AAA CAC	62	bcl-x (B1A)
B1A1325L	CAC AAT GTG AGG AGG TAG AGA AAC	62	bcl-x (B1A)
F4D1140R	GAG TCT CTG CTC TGG TTA GTG ATT	62	bcl-x (F4D)
F4D775L	GGC GCT TTC ATT TTG CAC TCT AAC	62	bcl-x (F4D)
BXNTR982L	GAG CAG GTG TTT TGG ACA ATG GAC	63	bcl-x 5'-NTR
BXNTR949L	GAG AAT CAC TAA CCA GAG ACG AGA C	63	bcl-x 5'-NTR
BXNTR830L	TAC CTG GAG GGG GAATGG AA	63	bcl-x 5'-NTR
BXNTR779L	TGG AAC CTA GAC CCA GAC C	63	bcl-x 5'-NTR
BXNTR725L	CTG GTG GGA GAT TCA GAG TCC	63	bcl-x 5'-NTR
BXNTR672L	AGG GAG TGA CTT TCC GAG GA	63	bcl-x 5'-NTR
BXNTR594L	CCT GCC TGC CTT TGC CTA A	63	bcl-x 5'-NTR
BXNTR545L	CCA CCT CCT CTC CCG ACC	63	bcl-x 5'-NTR
BXNTR498L	TTT TTT TGC CAG CCA CCG CGA	63	bcl-x 5'-NTR
BXNTR370L	GCC CTC GAT CCG GGC GA	63	bcl-x 5'-NTR
BXNTR300L	AGC CAA GGG GCG TGC AA	63	bcl-x 5'-NTR
BXNTR204L	CT GGG CTG GTG CTT AAA TAG A	63	bcl-x 5'-NTR
BXNTR1281R	CAA ACT CGT CGT CGC CTG CCT CC	63	bcl-x 5'-NTR
BXNTR1200R	CGC AGT GGC TCC ATT CAC C	63	bcl-x 5'-NTR
BXNTR1011R	CTC CCG GTT GCT CTG AGA C	63	bcl-x 5'-NTR
BXNTR925R	GTC TCG TCT CTG GTT AGT GAT TCT C	63	bcl-x 5'-NTR
T3STRAT	AAG CTC GAA ATT AAC CCT CAC TAA AGG G	65	pBluescript SKII
T7TELE	CAG TGA ATT GTA ATA CGA CTC ACT ATA GGG C	65	pBluescript SKII
5'LUC	ATG GAA GAC GCC AAA AAC AT	55	ffLuciferase
3'LUC	CAC TGC ATT CTA GTT GTG GT	55	ffLuciferase
5'EGFP	ATG GTG AGC AAG GGC	55	eGFP
3'EGFP	TTA CTT GTA CAG CTC GTC CA	55	eGFP
5'5'NTR	AGC CCG CGG CTG CGG A	55	bcl-x(MT) 5'-NTR
3'5'NTR	TTT TAT AAT AGG GAT GGG CTC	55	bcl-x(MT) 5'-NTR

Alle PCRs mit den oben aufgeführten Primern wurden, wenn nicht anders aufgeführt, bei einer Mg^{2+} Konzentration von 1,5 mM durchgeführt. Sämtliche PCRs wurden nach einem „hot start“ Protokoll entweder mit einem Taq-Start™ Antikörper oder mit Ampliwax™ durchgeführt.

9.2. Abkürzungsverzeichnis

APS	Ammoniumpreoxodisulfat
ATP	Adenosintriphosphat
bp	Basenpaare (Größenangabe für doppelsträngige Nukleinsäuren)
BSA	Rinderserumalbumin (bovine serum albumine)
cDNA	complementary DNA
cm	Zentimeter
cpm	Zerfälle pro Minute (counts per minute)
°C	Grad Celsius
CTP	Cytidintriphosphat
D	Dalton
dATP	Desoxyadenosintriphosphat
dCTP	Desoxycytidintriphosphat
dGTP	Desoxyguanosintriphosphat
DNA	Desoxyribonukleinsäure (DNS)
DNase	Desoxyribonuklease
dNTP	Desoxynucleosidtriphosphat
DTT	1,4-Dithiothreitol
dTTP	Desoxythymidintriphosphat
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure (Titrplex III®)
eGFP	verstärkt grünfluoreszierendes Protein (enhanced green fluorescent protein)
FACS	Fluoreszenzaktivierter Zellanalysator (fluorescent activated cell scanner)
g	Gramm
GTP	Guanosintriphosphat
h	Stunde(n)
ICR	intercistronische Region
IRES	interne Ribosomeneintrittsstelle (internal ribosome entry site)
kb	Kilobasenpaare
l	Liter
LUC	<i>Luciferase</i> Gen
M	Molar (mol/Liter)
μ	Micro
m	milli
mA	Milliampère
min	Minute(n)
mJ	Millijoule
mm	Millimeter
mM	Millimolar
μF	Microfarad
μM	Micromolar
MOPS	N-Morpholinoethanesulphonsäure
mRNA	Messenger(Boten-)Ribonukleinsäure
MW	Molekulargewicht (molecular weight)
N	Nukleotide (Größenangabe für einzelsträngige Nukleinsäuren)
n	nano
nm	Nanometer
NCR	Nichtkodierender Bereich eines Gens (non coding region)
NP-40	Nonidet P40
NTR	Nichttranslatierter Bereich einer mRNA (non translated region)
OD	Optische Dichte (optical density)
ORF	offener Leserahmen (open reading frame)
p	pico
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung (phosphate buffered saline)
PCR	Polymerase Kettenreaktion (polymerase chain reaction)
PMSF	Phenylmethylsulfonylfluorid
RNA	Ribonukleinsäure (RNS)

RNase	Ribonuklease
rNTP	Nukleosidtriphosphat
rpm	Umdrehungen pro Minute (revolutions per minute)
RT	Raumtemperatur
s	Sekunde(n)
SDS	Natriumdodecylsulfat
TEMED	N,N,N',N'-Tetramethylethyldiamin
Tris	Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan
U	Enzymeinheiten (units)
ü.N.	Über Nacht
uORF	strangaufwärts gelegener Leserahmen (upstream open reading frame)
UV	Ultraviolett
V	Volt
v/v	Prozentangabe (Volumen pro Volumen)
W	Watt
w/v	Prozentangabe (Masse pro Volumen; z.B. 1g in 100ml = 1 % w/v)
xg	(mal) Erdbeschleunigung

9.3. Danksagung

Diese Arbeit wurde in der Arbeitsgruppe Wittig im Institut für Molekularbiologie und Biochemie der Freien Universität Berlin angefertigt.

Ich danke meinem Doktorvater Prof. Dr. Burghardt Wittig für die Bereitstellung wahrhaft luxuriöser Arbeitsbedingungen und seine Bereitschaft unorthodoxe Ideen sowohl zu diskutieren als auch umzusetzen.

Meinem Vater Dr. K.-P. Charlé danke ich für die sorgfältige Durchsicht des Manuskripts. Meiner Mutter möchte ich an dieser Stelle für die vielen verbalen Tritte in das verlängerte Rückgrat danken, die zur Fertigstellung dieser Arbeit nötig waren. Katja G. Charlé und Tochter Luise W. Charlé danke ich vor allem für die Geduld, die sie mit mir während der Anfertigung dieser Arbeit hatten. Bruder Ulrich Charlé danke ich für entspannende Gespräche über Saiteninstrumente und ihre Rolle in der Populärmusik.

Tomislav „Misha“ Dorbic danke ich für tiefe Einsichten in den Verwendungszweck von Bestellscheinen (“ Komm Charrly, nemma Bestellschein, gemma P...!"). Dank auch an Dr. Mieko Takeya für die geduldige Beantwortung der immer gleichen Frage wie 'rum der zusammengerollte Blot drehen muß und die Lehrgänge im Sushizusammenfalten. Dr. Wolfgang R. Vahrson danke ich für die Durchführung von Sequenzanalysen mit userunfreundlichen Programmpaketen. Frau Dr. Verena Müller-Wieprecht danke ich hier für ihre Diskussionsbereitschaft und vor allem für ihren Hinweis auf dicistronische Vektoren. Frau Ulla Thiesen danke ich für die liebevolle Behandlung der Zellen, die Zahllosen Transfektionen und die Westernblots. Iris Ziglowsky und Katrin Büttner danke ich für die Plasmidgroßpräparationen und die Sequenzierungen.

9.4. Lebenslauf

14. 06. 1964 Geboren in Berlin-Zehlendorf. Eltern: Elke Charlé, geb. Röhrig und Klaus-Peter Charlé
- 1970 – 1976 Besuch der Johannes-Tews-Grundschule in Berlin-Zehlendorf
- 1976 – 1982 Besuch des Werner von Siemens Gymnasiums in Berlin-Zehlendorf. Abschluß mit Abitur.
- 1983 –1984 Ausbildung als Bandagist bei der Firma M. Pech
- 1984 – 1992 Studium an der Freien Universität Berlin
19. 10. 1987 Vordiplom Chemie
21. 12. 1987 Vordiplom Biochemie
- 1987 – 1992 studentische Hilfskraft in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Wittig im Institut für Molekularbiologie und Biochemie der FU-Berlin
- 1991 – 1992 Anfertigung der Diplomarbeit in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Wittig. Titel der Arbeit: 'Entwicklung eines Konzepts zur Konstruktion von linking libraries'. Erstgutachter: Prof. Dr. Wittig; Zweitgutachter: Prof. Dr. Erdmann
28. 02. 1992 Abschluß Diplom
- 1992 - 1996 Lehrbeauftragter für das Praktikum „Physiologische Chemie für Studierende der Medizin“, sowie für das Seminar „Biochemie mit klinischen Bezügen“ am Institut für Molekularbiologie und Biochemie
- Seit 1992 Wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Abteilung Molekularbiologie *UND* Informatik am Institut für Molekularbiologie und Biochemie
-