

**Institut für Pathologie  
Universitätsklinikum Benjamin-Franklin  
der Freien Universität Berlin**

**Leiter: Prof. Dr. med. Harald Stein**

**Charakterisierung und Struktur des *cd30*-Gens**

**Inaugural-Dissertation  
zur  
Erlangung der Doktorwürde  
des Fachbereichs Humanmedizin  
der Freien Universität Berlin**

vorgelegt von Martin Oberbarnscheidt

aus Köln

2001

Referent: Priv.-Doz. Dr. med. H. Dürkop  
Institut für Pathologie  
Universitätsklinikum Benjamin-Franklin  
Freie Universität Berlin  
Hindenburgdamm 30  
12200 Berlin

Korreferent: Prof. Dr. W. Rosenthal

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Humanmedizin der  
Freien Universität Berlin

Promoviert am: 14.12.2001

## Inhaltsverzeichnis

|  |          |
|--|----------|
| <b>Inhaltsverzeichnis</b>  | <b>3</b> |
| <b>1. Einleitung</b>   | <b>5</b> |
| <b>2. Material und Methoden</b>  | <b>7</b> |
| <b>2.1. Material</b>   | <b>7</b> |
| 2.1.1. Enzyme, Vektoren, Nukleotide  | 7        |
| 2.1.2. Chemikalien   | 7        |
| 2.1.3. Stammlösungen und Nährlösungen  | 7        |
| <b>2.2. Methoden</b>   | <b>8</b> |
| 2.2.1. Herstellung von Agarosegelen, Elektrophorese  | 8        |
| 2.2.2. Gel-Extraktion von DNA  | 8        |
| 2.2.3. Southern Blot   | 9        |
| 2.2.4. Markierung synthetischer Oligonukleotide mit [ <sup>32</sup> P]-dCTP  | 9        |
| 2.2.5. Random priming von cDNA-Sonden  | 10       |
| 2.2.6. Markierung synthetischer Oligonukleotide mit Digoxigenin-markiertem dUTP  | 10       |
| 2.2.7. Detektion hybridisierter Digoxigenin-markierter Oligonukleotide   | 10       |
| 2.2.8. Hybridisierung von Membranen mit markierten Oligonukleotiden  | 11       |
| 2.2.9. Polymerasekettenreaktion (PCR)  | 12       |
| 2.2.10. Isolation genomischer λ-Phagen-Klone   | 12       |
| 2.2.11. Isolation genomischer CD30-Klone aus Cosmid-Banken   | 13       |
| 2.2.12. Isolation von <i>cd30-Gen</i> -Fragmenten mit Langstrecken-Polymerasekettenreaktion (LR-PCR) aus genomischen Genbanken | 13       |
| 2.2.13. Präparation der DNA eines Phagenklons  | 16       |
| 2.2.14. Klonierung von DNA-Fragmenten in pBlueScript   | 19       |
| 2.2.15. Klonierung von PCR-Fragmenten in den pCR II-TOPO Vektor  | 19       |
| 2.2.16. Transformation von kompetenten <i>E. coli</i> Zellen (TOP10)   | 19       |
| 2.2.17. Plasmidpräparation   | 20       |
| 2.2.18. DNA-Sequenzierung  | 21       |
| 2.2.19. Auswertung der Sequenzdaten  | 22       |

|           |  |           |
|-----------|--|-----------|
| <b>3.</b> | <b><i>Ergebnisse</i></b>   | <b>24</b> |
| 3.1.      | Isolation und Klonierung von <i>cd30</i> -Gen-Fragmenten         | 24        |
| 3.2.      | Sequenzierung der <i>cd30</i> -Gen-DNA-Fragmente                 | 27        |
| 3.3.      | Exon / Intron Struktur des <i>cd30</i> -Gens                     | 29        |
| 3.4.      | Promoterregion des <i>cd30</i> -Gens                             | 30        |
| 3.5.      | Mikrosatelliten-Sequenz  | 32        |
| 3.6.      | Karte des <i>cd30</i> -Gens                                      | 34        |
| 3.7.      | Vergleich des <i>cd30</i> -Gens mit der TNFR-Superfamilie        | 35        |
| <b>4.</b> | <b><i>Diskussion</i></b>   | <b>36</b> |
| 4.1.      | Analyse von Genbanken  | 36        |
| 4.2.      | Genstruktur des CD30   | 37        |
| 4.3.      | Promoterregion des <i>cd30</i> -Gens                             | 38        |
| 4.3.1.    | Genetischer Polymorphismus                                       | 39        |
| 4.3.2.    | Transkriptionsfaktorbindungsstellen und Transkriptionsstartpunkt | 40        |
| <b>5.</b> | <b><i>Zusammenfassung</i></b>                                    | <b>43</b> |
| <b>6.</b> | <b><i>Anhang</i></b>   | <b>44</b> |
| 6.1.      | Liste der Abkürzungen  | 44        |
| <b>7.</b> | <b><i>Literaturverzeichnis</i></b>                               | <b>46</b> |
| <b>8.</b> | <b><i>Lebenslauf</i></b>   | <b>55</b> |
| <b>9.</b> | <b><i>Danksagung</i></b>   | <b>57</b> |