

**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>