

8. Verzeichnisse

8.1 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung	μm	Mikrometer
BCIP	5-Bromo-4-Chlor-3-Indolylphosphat	mM	Millimolar
BD	Brachydaktylie	mRNA	“messenger” Ribonucleinsäure
bp	Basenpaare	NaAc	Natriumacetat
BSA	Rinderserumalbumin	NaF	Natriumfluorid
cDNA	komplementäre DNA	NBT	Nitroblautetrazoliumchlorid
dNTP	Desoxyribonucleotid-triphosphat	nm	Nanometer
DEPC	Diethylpyrocarbonat	OMIM	<i>online mendelian inheritance in men</i>
DIG	Digoxigenin	PCR	Polymerase-Ketten-Reaktion
DMF	Dimethylformamid	PBS	“Phosphate Buffered Saline”
DMSO	Dimethylsulfoxid	PBST	PBS mit Triton
DNA	Desoxyribonucleinsäure	PEG	Polyethylenglykol
dNTP	Desoxyribonucleosidtriphosphat	Pen/Strep	Penicillin/Streptomycin
DTT	Dithiothreitol	PFA	Paraformaldehyd
E	Embryonalstadium der Maus	pH	potentium hydrogenii
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure	PMSF	Phenylmethylsulfonylfluorid
FCS	fetales Kälberserum	OD ₆₀₀	optische Dichte bei 600 nm
g	Gramm	RNA	Ribonucleinsäure
GAPDH	Glyceraldehyd-3-Phosphat Dehydrogenase	RNAse	Ribonuclease
h	Stunde	RT	Raumtemperatur
HEPES	4-(2-Hydroxyethyl-)piperazin-1-ethansulfonsäure	s	Sekunde
kb	Kilobasenpaare	S.	Seite
kDa	Kilodalton	SSC	“Standard Saline Citrate”
l	Liter	SDS	Natriumdodecylsulfat
LiAc	Lithiumacetat	Tris	Tris-(hydroxymethyl-)aminomethan
M	Molar	tRNA	Transfer Ribonucleinsäure
min	Minute	ü. N.	über Nacht
μl	Mikroliter	V	Volt
ml	Milliliter	X-Gal	5-Brom-4-Chlor-3-Indolyl-D-Galaktopyranosid

8.2 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Endochondrale Ossifikation	2
Abb. 2:	Modularer Aufbau des humanen ROR2	5
Abb. 3:	Darstellung von Mutationen in ROR2 und den daraus resultierenden Phänotypen	8
Abb. 4:	Schematische Darstellung der verschiedenen Brachydaktylien und der jeweils betroffenen Gene	9
Abb. 5:	Schematische Darstellung der verschiedenen Wtip-Köderproteine für den automatisierten “ <i>Yeast Two Hybrid</i> “-Screen	17
Abb. 6:	Schematischer Ablauf der “ <i>Yeast Two Hybrid</i> “- und “ <i>Yeast Three Hybrid</i> “-Experimente	21

Abb. 7:	Prinzip der "Yeast Two Hybrid"- und "Yeast Three Hybrid"- Systeme	32
Abb. 8:	Expression und Phosphorylierung des Köderproteins LexA-Ror2-CP	34
Abb. 9:	Expression und Phosphorylierung des Köderproteins LexA-Tpr-Ror2CP	35
Abb. 10:	Expression und Phosphorylierung des Köderproteins Gal4-Ror2-CP	36
Abb. 11:	NotI-Restriktionsverdau der isolierten Beuteplasmide aus dem "Yeast Two Hybrid"-Experiment	39
Abb. 12:	Lage verschiedener, im "Yeast Three Hybrid"-Screen identifizierter Fragmente innerhalb der codierenden Sequenz von Dlxin-1	42
Abb. 13:	Bestätigung der Ror2-Dlxin-1 Interaktion in AH109-Hefen durch Retransformation	44
Abb. 14:	Lage der im "Yeast Two Hybrid"- und "Yeast Three Hybrid"-Screen identifizierten Fragmente innerhalb der codierenden Sequenz von Wtip	46
Abb. 15:	Bestätigung der Ror2-Wtip Interaktion in L40-Hefen durch Retransformation der isolierten Plasmide	47
Abb. 16:	Wtip interagiert in L40 Hefen mit Ror2, aber nicht mit anderen getesteten Rezeptortyrosinkinasen	48
Abb. 17:	Vergleich der codierenden Sequenz von Wtip aus verschiedenen Spezies	50
Abb. 18:	Wtip Northern Blot	51
Abb. 19:	Co-Immunopräzipitation von Ror2 und Wtip (Y2H-Fragment)	52
Abb. 20:	Co-Immunopräzipitation von Ror2 und dem "volle Länge" Wtip	53
Abb. 21:	Untersuchung der subzellulären Lokalisation von Wtip, Ror2 und Ror2 Δ 745 in HEK293 Zellen	55
Abb. 22:	Whole Mount <i>in situ</i> Hybridisierung mit Wtip und Ror2 DIG-markierten RNA-Sonden	57
Abb. 23:	<i>In situ</i> Hybridisierung auf Maus-Gefrierschnitten mit Wtip und Ror2 DIG-markierten RNA-Sonden	58
Abb. 24:	Immunhistologische Analyse der Expression von Wtip und Ror2 auf Maus-Gefrierschnitten	59
Abb. 25:	Automatisierter, Matrix-basierter "Yeast Two Hybrid"-Screen mit verschiedenen, gepoolten Wtip-Köderproteinen	61
Abb. 26:	Konservierte Sequenz und Struktur einer LIM Domäne	69

8.3 Tabellenverzeichnis

Tab. 1:	Zusammenfassung der Zahlen der His3 ⁺ - und LacZ- positiven Hefekolonien aus den durchgeführten Hefe-Experimenten	38
Tab. 2:	Zusammenfassung der Ergebnisse des "Yeast Two Hybrid"-Screens mit Tpr-Ror2-CP als Köderprotein	39
Tab. 3:	Zusammenfassung der Ergebnisse des "Yeast Three Hybrid"-Screens mit Ror2-CP als Köderprotein und der co-exprimierten konstitutiv aktiven Src-Kinase	40
Tab. 4:	Zusammenfassung der Ergebnisse des automatisierten "Yeast Two Hybrid"-Screens mit trunkierten Wtip-Konstrukten als Köderprotein	62