

9 ANHANG

9.1 Materialien

9.1.1 Geräte:

Autoklav	Sterico AG
DNA-Synthesizer	Applied Biosystems 394 oder Pharmacia Gene Assembler oder Expedite (Perseptive Biosystems)
Präparativer DNA-Synthesizer	Milligen 8800
Elektrophoresekammern	Bio-Rad, MINI SUB™ DNA CELL Pharmacia, GNA-200 Eigenbau für PAGE
Expositionskassetten	Kodak X-Omatic
Fluoreszenzdetektor (HPLC)	RF-535, Shimadzu
Fluoreszenzküvette	Quarzglas SUPRASIL, HELLMMA
FPLC™-Station	Pharmacia LKB
HBO 200	Quecksilberdampf-Lampe, 200 W
Heizschrank	Heraeus, T5042 EK
HPLC-Anlage	Beckmann, System Gold
IR-MALDI-TOF Massenspektrometer	Vison 2000, Thermo Bioanalysis, Hemel, Hempstead, UK; Er-YAG-Laser, 2,94µm, Fa. Schwartz, Modell SEQ 1-2-3, 10 mJ, 150 ns Beckmann (ODS C ₁₈ , 5 µm, 250 x 4.6 mm)
HPLC-Säulen (Ultrasphere)	Knauer (100 C ₁₈ , 10 µm, 250 x 20 mm)
HPLC-Säulen (Eurosphere)	Vakuubrand
Kühlfalle	LS50B, Perkin Elmer
Lumineszenz/Fluoreszenz-Spektrometer	Spektron, SL800 G und SL404 G
Laser (Nd-YAG, 355 nm)	IKA-Combimag RCT
Magnetrührer	Bruker A250, Bruker AMX500
NMR-Spektrometer	Heraeus, DS1
Ölpumpe	Modell 501, Fischer Labor- und Verfahrenstechnik (300 mA, O ₂ = 75 l/h, O ₃ = 3,5 g/h)
Ozon-Generator	Biometra Uno II
PCR-Geräte	Knick, Calimatic 761
pH-Meter	Storm 840, Molecular Dynamics
Phosphorimager	Gilson, Pipetman P2, P20, P200, P1000
Pipetten	Milli-Q, Millipore
Reinstwasseranlage	Büchi, Rotavapor R
Rotationsverdampfer	Fuji, Medical X-ray Film RXOG (Safety)
Röntgenfilme	Kodak, X-OMATIC
Röntgenfilmkassetten	Vortex Genie, Bender & Hobein
Schüttler	Pharmacia, ECPS 3000/150 und 500/400
Spannungsgeber	Schleicher & Schuell
Sterilfiltrationsanlage	Beckmann LS 6000 SC
Szintillationszähler	Eppendorf, Thermomixer 5436
Thermoschüttler	Quarzglas SUPRASIL, HELLMMA
UV-Küvetten	Bruker Reflex
UV-MALDI-TOF Massenspektrometer	

UV-Spektrometer	Shimadzu, UV-160A
UV-Transilluminator	CAMAC Reprstar II
Vakuumpumpe	Vakuubrand, Membran-Vakuumpumpe
Vakuuzentrifuge	Savant, Speed Vac Concentrator
Videosystem	Mitsubishi, CS I mit Videoprocessor
Waagen	Mettler AE 163 und AC 88; Sartorius
Wasserbäder	Julabo, U3; Heidolph HBR 2
Zentrifugen	Heraeus Christ, Biofuge 13R, A Du Pont, Sorvall RC28S

9.1.2 Chemikalien:

Alle Chemikalien wurden, wenn nicht anders vermerkt, in der höchstmöglichen Reinheitsstufe verwendet (in der Regel p.a.).

Aceton	Merck
Acetonitril für HPLC	J. T. Baker
[γ - 32 P]-Adenosin-5'-triphosphat	Amersham Buchler
Agar	GIBCO BRL
Agarose	GIBCO BRL
Allyltrimethylsilan	Aldrich
Aluminiumchlorid	Merck
Aminoalkyl-CPG (500 Å)	Sigma
Ammoniak-Lösung 33 %	Riedel de Haen
Ammoniumperoxodisulfat (APS)	Merck
Ampicillin	Fluka
Argon	Messer
Biotinmaleimid	Sigma
Boran-Lösung 1M in THF (BH ₃ ·THF)	Aldrich
Borsäure, reinst kristallisiert	Riedel de Haen
Bromphenolblau	Merck
Calciumhydrid	Aldrich
Capronsäure	Aldrich
Chloroform	J. T. Baker
6-Chloropurin	Aldrich
Cobalt(II)-chlorid	Merck
Cytidin-3'-[5'- 32 P]-diphosphat (pCp)	Amersham Buchler
[α - 32 P]-Cytidin-5'-triphosphat	Amersham Buchler
[α - 32 P]-Desoxycytidin-5'-triphosphat	Amersham Buchler
1, 2-Dichloressigsäure	Sigma/Aldrich
Dichlormethan	J. T. Baker
Dicyclohexylcarbodiimid	Aldrich
Diethylether	Merck
Diisopropylethylamin	Aldrich (sureseal)
N,N-Dimethylformamid (DMF)	Adrich (sureseal)
Dimethylsulfoxid (DMSO)	Adrich (sureseal)
d ⁶ -DMSO	Fluka
Dithiothreitol (DTT)	Sigma
[α - 32 P]-Desoxyadenosin-5'-triphosphat	Amersham Buchler

[α - ³² P]-Desoxycytidin-5'-triphosphat	Amersham Buchler
Desoxynukleotidtriphosphate (dNTP's)	MBI Fermentas
Essigsäure	J. T. Baker
Ethanol	Merck
Ethidiumbromid	Fluka
Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)	J. T. Baker
Formamid	Merck
Glycerol	Merck
Glycogen	Boehringer Mannheim
HABA/Avidin Reagenz H2153	Sigma
Harnstoff	Merck
Hefeextrakt	Merck
N-2-Hydroxyethylpiperazin-N'-2-ethansulfonsäure (HEPES)	GERBU und Roth
N-Hydroxysuccinimid	Aldrich
Isopropylthio- β ,D-galactopyranosid (IPTG)	Bachem Feinchemikalien
Kaliumchlorid	Riedel de Haën
Kaliumhydrogenphosphat	Merck
Kupfer(II)-chlorid	Merck
Magnesiumchlorid	Merck
Magnesiumchlorid-6-Hydrat	Riedel de Haën
Mangan(II)-chlorid	Merck
β -Mercaptoethanol	Serva
Methanol (wasserfrei)	Aldrich
4-[2-Methoxy-4-(1-hydroxyethyl)-5-nitrophenoxy]-butansäure	Novabiochem
Natriumacetat	Riedel de Haën
Natriumborhydrid	Aldrich
Natriumchlorid	Merck
Natriumhydrogencarbonat	Merck
<i>di</i> -Natriumhydrogenphosphat-2-hydrat	Riedel de Haën
Natriumhydroxid 1M	Fluka
NaOD 1M	Fluka
Natrium (4-hydroxy) butyrat	Aldrich
Natriumsulfat	Merck
Nicotinsäure	Sigma
<i>o</i> -Nitrobenzaldehyd	Aldrich
Nukleosidtriphosphate (NTP's)	Boehringer Mannheim
Orotsäure	Sigma
Pepton Nr.140 aus Casein	GIBCO BRL
Petroleumbenzin (40°C - 60	Merck
Phenol (wassergesättigt, pH 7.9)	Amresco
Phosphorigsäure(2-cyanoethylester)diisopropylamidchlorid	Aldrich
Phosphorpentoxid	Fluka
Pyridin	Merck
Rinderserumalbumin (BSA)	Boehringer Mannheim
Röntgenentwickler	AGFA-Gevaert G150
Röntgenfixierer	AGFA-Gevaert G334
Salzsäure 1M	Fulka
Sequenziergel-Stammlösung	LongRanger, BIOZYM
Spermidin-trihydrochlorid	Fluka
Sulfosuccinimidyl-6-(biotinamido)-hexanoat	Sigma
Streptavidin-Agarose	Sigma

Tetrabutylammoniumfluorid (1M in THF)	Aldrich
N,N,N',N'-Tetramethylethyldiamin (TEMED)	Fluka
TiCl ₄ in CH ₂ Cl ₂ , 1M	Aldrich
Trichloressigsäure	Merck
Triethylamin (Micro Select)	Fluka
Triethylammonium-Trihydrofluorid	Aldrich
Triisopropylbenzolsulfonsäurechlorid	Aldrich
Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan (Tris), enzyme grade	AppliChem
TRNA, RNase-frei	Boehringer Mannheim
5-Brom-4-chlor-3-indoyl-β,D-galactopyranosid (X-gal)	Sigma
Xylencyanol FF	Eastman Kodak & Co
Zink(II)-chlorid	Merck

9.1.3 Chemikalien für die Oligonukleotidsynthese:

Acetonitril (Wasser < 9 ppm)	J. T. Baker
Biscyanoethyl N,N-diisopropyl-phosphoramidit	Chemgenes
dC-Controlled Pore Glass (500/2000 Angström)	Glen Research
DMTr-HEG-Phosphoramidit	Chemgenes
DNA-Phosphoramidite	Glen Research oder Roth
(1-DMTrO-6-N-Fmoc-hexan-2-succinoyl)-lcaa-CPG (500 Å)	Chemgenes
BiotinTEG-CPG 500 Å	Glen Research
Fmoc-aminohexyl-phosphoramidit	Chemgenes
RNA-Phosphoramidite	Chemgenes
Reagenzien für die DNA/RNA-Synthese	Glen Research oder Roth

9.1.4 Enzyme:

Desoxyribonuclease I (RNase-frei)	Boehringer Mannheim
Pyrophosphatase, HPLC purified	Sigma
RNase-Inhibitor (RNasin)	MBI Fermentas
Shrimp Alkaline Phosphatase	USB
SuperScript™ II RNase H RT	GIBCO BRL
Taq-Polymerase	GIBCO BRL
T1-Ribonuklease	Pharmacia
T4-RNA-Ligase	MBI Fermentas
T4-Polynukleotidkinase	MBI Fermentas
T7-RNA-Polymerase	Stratagene

9.1.5 Oligonukleotide:

Die Primer [41](#), [42](#) und [48](#) sowie das DNA-Templat mit dem vorgegebenen Helix-Blase-Helix-Motiv und den 18 randomisierten Positionen aus Abbildung 26 wurden bei MWG Biotech, Ebersberg, Deutschland bestellt.

9.1.6 Wasser:

Das verwendete Wasser wurde täglich frisch von einer Milli Q-Anlage von Millipore abgefüllt.

9.1.7 Sonstige Materialien:

100bp-DNA-Leiter	MBI Fermentas
Braune Reaktionsgefäße	Roth
DC-Alufolien Kieselgel 60 F ₂₅₄	Merck
Gelfiltrationssäule Superose 12	Pharmacia
Kieselgel (0.063-0.200 mm)	J.T. Baker
Mikrozentrifungenfilter Durapore, 0.45 µm	Ultrafree-MC UFC 3/4, Millipore
Mikrozentrifungenfilter CA oder Nylon	Roth
NAP-Säule	Pharmacia
QIAquick Gel Extraction Kit	Qiagen
Sephadex G 10	Pharmazia (XK16)
Sephadex A 25	Pharmazia
TOPO TA Cloning-Kit D	Invitrogen

9.2 Lebenslauf

Name: Felix Hausch
Geburtsdatum: 21. Februar 1971
Geburtsort: Stuttgart

Schulbildung

1978-1981 Grundschole am Weinberg, Langenselbold
1981-1983 Gymnasiale Förderstufe, Gesamtschule Freigericht
1983-1990 Hohe Landesschule Hanau
Juni 1990 Abitur

Studium

Sept. 1990 - Juli 1993 Chemie-Studium an der Technischen Hochschule Darmstadt
Oktober 1992 Vordiplom im Studiengang Chemie
Sept. 1993 - Juni 1994 Erasmusaufenthalt an der Université de Bordeaux III
Projekt (Makromolekulare Chemie): Acetale als Initiatoren bei der kationischen, lebenden Polymerisation
Okt. 1994 Okt. 1996 Chemie-Studium an der Freien Universität Berlin
März 1996 – Okt. 1996 Diplomarbeit in der Arbeitsgruppe von Dr. Jäschke/ Prof. Erdmann, Thema: Entwicklung eines *in vitro* Selektionssystems mit photospaltbaren Linkern
Oktober 1996 Diplom im Studiengang Chemie
seit Nov. 1996 Doktorarbeit in der Arbeitsgruppe von Prof. V. A. Erdmann am Institut für Biochemie der Freien Universität Berlin

9.3 Eigene Publikationen

Veröffentlichungen:

Felix Hausch und Andres Jäschke (1997), Libraries of Multifunctional RNA Conjugates for the Selection of New RNA Catalysts, *Bioconjugate Chem.* **8**, 885-890.

Felix Hausch und Andres Jäschke (1998), A novel Carboxy-functionalized Photocleavable Dinucleotide Analog for the Selection of RNA catalysts, *Tetrahedron Lett.*, **39**, 6157-6158.

Andres Jäschke, Christian Frauendorf und Felix Hausch (1999), *In Vitro* selected Oligonucleotides as Tools in Organic Chemistry, *Synlett*, **6**, 825-833.

Felix Hausch und Andres Jäschke (2000), Multifunctional DNA conjugates for the *in vitro* selection of new catalysts, *Nucleic Acids Res.*, **28**, e35.

Felix Hausch und Andres Jäschke (2000), Multiplex-Analyse von DNA-Gemischen mittels photolytisch ablesbarer DNA-Chips, *Deutsche Patentschrift*, DE 100 15 797 A1.

Felix Hausch and Andres Jäschke (2000), Multifunctional Dinucleotide Analogs for the Generation of Complex RNA Conjugates, *eingereicht zur Veröffentlichung bei Tetrahedron*.

Vorträge:

Hausch, F.: "Regiospezifische Selektion mit photospaltbaren Linkern", 14. Rabensteiner Kolleg, Molekulargenetischer Arbeitskreis e.V., 6.6.96-8.6.1996, Pottenstein, Deutschland.

Hausch, F.: 'In vitro Selection with Photocleavable Linkers', Arbeitstreffen 'Selection in RNA Biochemistry' des DFG-Schwerpunktprogrammes „RNA-Biochemie“, 26.2-28.2.1997, Mittelwihr, Strasbourg, Frankreich.

Hausch, F.: 'In vitro Selection of new RNA Catalysts using Photocleavable Linkers', 5th Young Scientist's View on Molecular Biotechnology, 21.3-28.3.1998, Goslar, Deutschland.