

1. Inhaltsverzeichnis

1. INHALTSVERZEICHNIS	6
2. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	8
3. EINLEITUNG	11
3.1. NUKLEOTIDE	11
3.2. NUKLEINSÄUREN	12
3.3. KRISTALLOGRAPHIE ALS METHODE DER STRUKTURBESTIMMUNG	14
4. DIE NICOTINAMID-MONONUKLEOTID-ADENYLYLTRANSFERASE VON HOMO SAPIENS	17
4.1. EINLEITUNG.....	17
4.1.1. <i>Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid NAD⁺</i>	17
4.1.2. <i>Nicotinamid-Mononukleotid-Adenylyltransferase NMNAT</i>	18
4.1.3. <i>Strukturen von NMNATs</i>	20
4.2. MATERIAL UND METHODEN	22
4.2.1. <i>Expressionsklonierung und Proteinreinigung</i>	22
4.2.2. <i>Aktivitätstest und Massenspektrum</i>	22
4.2.3. <i>Kristallisation und Kryoprotektion</i>	23
4.2.4. <i>Röntgendiffraktion, Phasenbestimmung und Verfeinerung</i>	24
4.3. ERGEBNISSE UND DISKUSSION	24
4.3.1. <i>Genexpression, Proteinqualität und -aktivität</i>	24
4.3.2. <i>Nachweis von Selen</i>	26
4.3.3. <i>Kristallisation und Kryoprotektion</i>	28
4.3.4. <i>Diffraction</i>	29
4.3.5. <i>Phasenbestimmung und Verfeinerung</i>	30
4.3.6. <i>Anzahl der Monomere pro asymmetrischer Einheit</i>	34
4.3.7. <i>Struktur von hNMNAT</i>	38
4.3.8. <i>Vergleich mit anderen Strukturen von humaner NMNAT</i>	39
4.3.9. <i>Vergleich mit Strukturen von NMNAT anderer Spezies</i>	45
4.3.10. <i>Superfamilie, Rossmann-Faltungstyp</i>	49
4.3.11. <i>Oligomerisierung, Protein-Protein-Kontakte</i>	51
4.3.12. <i>Ligandenbindung in humaner NMNAT</i>	55

5.	DIE HOMING ENDONUKLEASE PI-SCEI VON SACCHAROMYCES CEREVISIAE	65
5.1.	EINLEITUNG.....	65
5.1.1.	<i>Inteine und Homing Endonukleasen</i>	65
5.1.2.	<i>Die Homing Endonuklease PI-SceI</i>	66
5.1.3.	<i>PI-SceI Domäne II: Endonuklease-Aktivität</i>	67
5.1.4.	<i>PI-SceI Domäne I: Protein-Splicing-Aktivität</i>	69
5.1.5.	<i>DNA-Bindung</i>	70
5.1.6.	<i>Warum Struktur Nummer Fünf?</i>	73
5.2.	MATERIAL UND METHODEN	76
5.2.1.	<i>Genexpression und Proteinreinigung</i>	76
5.2.2.	<i>DNA-Bindung</i>	77
5.2.3.	<i>Kristallisation</i>	78
5.2.4.	<i>Röntgendiffraktion, Datenreduktion und Strukturbestimmung</i>	78
5.3.	ERGEBNISSE UND DISKUSSION	79
5.3.1.	<i>Expression, Proteinreinigung und Kristallisation</i>	79
5.3.2.	<i>DNA-Bindungsversuche</i>	81
5.3.3.	<i>Diffraction und Strukturbestimmung</i>	83
5.3.4.	<i>Struktur der Domäne I von S. cerevisiae PI-SceI</i>	87
5.3.5.	<i>Vergleich aller Strukturen von PI-SceI Domäne I</i>	89
5.3.6.	<i>Protein-Splicing-Stelle</i>	96
5.3.7.	<i>DNA-Bindung</i>	99
5.3.8.	<i>Geometriebasiertes Docking</i>	103
6.	ZUSAMMENFASSUNG - SUMMARY	109
6.1.	DEUTSCH - GERMAN	109
6.1.1.	<i>Nicotinamid-Mononukleotid-Adenylyltransferase von Homo sapiens im Komplex mit Nicotinamid-Mononukleotid</i>	109
6.1.2.	<i>Domäne I der Homing Endonuclease PI-SceI von Saccharomyces cerevisiae</i> <i>111</i>	
6.2.	ENGLISCH - ENGLISH.....	113
6.2.1.	<i>Nicotinamide mononucleotide adenylyltransferase of Homo sapiens in complex with nicotinamide mononucleotide</i>	113
6.2.2.	<i>Domain I of the homing endonuclease PI-SceI of Saccaromyces cerevisiae</i> <i>115</i>	
7.	VERÖFFENTLICHUNGEN	117
8.	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	118
9.	TABELLENVERZEICHNIS	121
10.	LITERATURVERZEICHNIS	123
11.	DANKSAGUNG	131
12.	CURRICULUM VITAE	133
13.	EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG	135