

11. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Schematische Darstellung des Zellzyklus mit den einzelnen Zellzyklus-phasen.	2
Abb. 2:	E2F-Subgruppen und deren Funktions-Bereiche	4
Abb. 3:	Mitglieder der E2F-Proteinfamilie.	5
Abb. 4:	Regulation der pRb-Aktivität durch Phosphorylierung innerhalb des Zellzyklus	6
Abb. 5:	pRb-EF2-Funktion: Übergangspunkt-Kontrolle.....	11
Abb. 6:	DNA-Schädigung und die möglichen Folgen für eine eukaryotische Zelle.....	16
Abb. 7:	Idealisierte Darstellung der Bindungskinetik einer Protein-Protein-Wechselwirkung in einem Biacore2000-System.....	45
Abb. 8:	E2F1-Deletionsmutanten mit ihren verschiedenen funktionellen Bindungsdomänen	54
Abb. 9:	Marked Box der verschiedenen E2F-Mitglieder und E2F1-Substitutionsmutanten.....	55
Abb. 10:	Aufgereinigte His-Fusionsprotein von E2F1 und Deletionsmutanten.	57
Abb. 11:	Silber-Färbung verschiedener Ku70-Eluate	58
Abb. 12:	Western-Blot mit Kernextrakt und in vitro.Translaten:	60
Abb. 13:	E2F6 agiert als E2F-spezifischer Repressor der transkriptionellen E2F-abhängigen Aktivität, gezeigt sind Luciferasewerte (Einkanal-Messung). HeLa-Zellen wurden mit oben angegebenen Plasmiden transient transfiziert.	62
Abb. 14:	Schematische Darstellung der Aktivierung der Chipoberfläche mit nachfolgender Ligand-Immobilisierung.	65
Abb. 15:	Reaktionsweg als Vorbereitung für eine Amin-Kopplung auf einem Biacore (CM5)-Immobilisierungschip.....	65
Abb. 16:	Immobilisierung von Ku70-GST auf dem später verwendeten CM5-Chip.....	66
Abb. 17:	Sensogramm der E2F1-His-Proteinmutanten in Interaktion mit immobilisierten Ku70-GST bei einer Analyt-Konzentration von 90 mM.	68
Abb. 18:	Sensogramm der Interaktion von Ku70-GST (immobilisiert) mit wtE2F1-His (Analyt).....	69
Abb. 19:	In vitro-Nachweis der Kinasierung von GST-wtE2F1 und GST-E2F1-Deletionsmutanten. .	72
Abb. 20:	Potentielle Phosphorylierungsstellen von E2F1.....	73
Abb. 21:	Ergebnisse der dualen Luciferase-Messung nach transienter Transfektion.....	76
Abb. 22:	Schematische Darstellung der Zellzyklusphasen-Verteilung bei CHO-K1-Zellen.	78
Abb. 24:	Darstellung einer FACS-Messung nach einem Zellzyklus-Experiment.	81
Abb. 26:	Flowchart für die Zellzyklus-Experimente.....	85
Abb. 27:	Darstellung der Zellzyklusphasen-Verteilung von CHO-K1 nach transienter Transfektion mit verschiedenen Ansätzen (I-V)) ohne Bestrahlung.....	86
Abb. 28:	Darstellung der Zellzyklusphasen-Verteilung von CHO-K1-Zellen nach transienter Transfektion mit verschiedenen Ansätzen (I-V) mit anschließender γ -Bestrahlung (5,5 Gy).	

11. Abbildungsverzeichnis

Abb. 29:	Vergleich der transkriptionellen Aktivität des E2F-abhängigen Promoters E2F,wt-Luc bei verschiedenen Transfektionsansätzen während des Zellzyklus nach transienter Transfektion ohne Bestrahlung.	93
Abb. 30:	Vergleich der transkriptionellen Aktivität des E2F-abhängigen Promoters E2F,wt-Luc in verschiedenen Transfektionsansätzen während des Zellzyklus nach transienter Transfektion und anschließender Bestrahlung (5,5 Gy).	95
Abbi 31:	Modell für die Interaktion von Ku70 und Ku80 mit der Marked Box von E2F1.	104
Abb. 32:	Übersichtsdiagramm für verschiedene Protein-Wechselwirkungen im Vergleich zu der im Biacore-System nachweisbaren Bindungsstärke (rot markiert).	105
Abb. 33:	Modell für die eine mögliche Inaktivierung von E2F1 durch die DNA-PK nach DNA-Schädigung.....	115