

## 7 Anhang

### 7.1 Abkürzungen

AD	Activating domain = transkriptionsaktivierende Domäne
AP	Anaphase
AS	Aminosäure
BD	Binding domain = DNA-bindende Domäne
bp	Basenpaare
BNZ	Binukleäre Zelle(n)
BRCT	BRCA1 C-terminus
BrdU	5-Bromo-2'-deoxyuridin
CDS	Coding sequence
cDNA	Komplementäre DNA
cM	Centimorgan
DAPI	4',6-Diamidino-2-phenylindole dihydrochloride
DNA	Desoxyribonukleinsäure
FKS	fötale Kälberserum
FISH	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung
G1-PLC	Postmitotische Prophase-ähnliche Zelle in G1
G2-PLC	Prämitotische Prophase-ähnliche Zelle in G2
GFP	Green fluorescent protein
H3P	Histon H3
IQ	Intelligenzquotient
kDa	Kilodalton
kb	Kilobasen
MCPH	autosomal rezessive primäre Mikrozephalie
MCS	Multiple cloning site
MP	Metaphase
MPF	Mitosis promoting factor
MRT	Magnetische Resonanztomographie
n.a.	nicht auswertbar
NEBD	Nuclear envelope breakdown
ORF	Open reading frame
PCC	Premature chromosome condensation
PFA	Paraformaldehyd
PLC	Prophase-ähnliche Zelle (Prophase-like cell)
PMP	Prometaphase
RNA	Ribonukleinsäure
RNAi	RNA Interferenz
SD	Standard deviation
siRNA	Small interfering RNA
SMC	Structural maintenance of chromosomes - Untereinheit
STR	Short Tandem Repeats
TopoII	Topoisomerase II
TP	Telophase
UTR	Untranslated region
Y2H	Yeast-two-Hybrid-Screen

## 7.2 Eigene Publikationen

*Teile dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht. Im Folgenden sind die Originalarbeiten aufgeführt, in denen Ergebnisse publiziert wurden, die in dieser Arbeit beschrieben werden.*

Neitzel H, Neumann LM, Schindler D, Wirges A, Tonnies H, Trimborn M, Krebsova A, Richter R, Sperling K (2002) Premature chromosome condensation in humans associated with microcephaly and mental retardation: a novel autosomal recessive condition. *Am J Hum Genet* **70**:1015-1022

Trimborn M, Bell SM, Felix C, Rashid Y, Jafri H, Griffiths PD, Neumann LM, Krebs A, Reis A, Sperling K, Neitzel H, Jackson AP (2004) Mutations in microcephalin cause aberrant regulation of chromosome condensation. *Am J Hum Genet* **75**:261-266

Trimborn M, Richter R, Sternberg N, Gavvovidis I, Schindler D, Jackson AP, Prott EC, Sperling K, Gillessen-Kaesbach G, Neitzel H (2005) The first missense alteration in the MCPH1 gene causes autosomal recessive microcephaly with an extremely mild cellular and clinical phenotype. *Hum Mutat* **26**:496-497

Trimborn M, Schindler D, Neitzel H, Hirano T (2006) Misregulated chromosome condensation in MCPH1 primary microcephaly is mediated by condensin II. *Cell Cycle* **5**: 322-326

### 7.2.1 Weitere eigene Originalarbeiten

Kjellberg JM, Trimborn M, Andersson M, Sandelius AS (2000) Acyl-CoA dependent acylation of phospholipids in the chloroplast envelope. *Biochim Biophys Acta* **1485**:100-110

Trimborn M, Grueters A, Neitzel H, Tonnies H (2005) First small supernumerary ring chromosome carrying 10q euchromatin in a patient with mild phenotype characterized by molecular cytogenetic techniques and review of the literature. *Cytogenet Genome Res* **108**:278-282

Trimborn M, Liehr T, Belitz B, Pfeiffer L, Varon R, Neitzel H, Tonnies H (2005) Prenatal diagnosis and molecular cytogenetic characterization of an unusual complex structural rearrangement in a pregnancy following intracytoplasmic sperm injection (ICSI). *J Histochem Cytochem* **53**:351-354

Trimborn M, Wegner RD, Tonnies H, Sarioglu N, Albig M, Neitzel H Prenatal diagnosis and molecular cytogenetic characterisation of a small de novo interstitial duplication 16q11.2-q13. *Prenat Diagn* **26**: 273-276

## 7.2.2 Tagungsbeiträge

*Im Rahmen der vorliegenden Dissertation entstanden folgende Tagungsbeiträge.*

Trimborn M, Stumm M, Schindler D, Jackson A, Neitzel H (2004) Cell lines of patients with a congenital autosomal-recessive disorder characterised by premature chromosome condensation show in addition delayed chromosome decondensation and a DNA repair defect confined to the condensed chromatin. *Poster präsentiert bei der European Human Genetics Conference. München*

Gavvovidis I, Trimborn M, Schindler D, Neitzel H (2005) Prokaryotic and Eukaryotic Expression Studies of MCPH1. *Poster präsentiert bei der European Human Genetics Conference. Prag*

Richter R, Trimborn M, Neitzel H (2005) Analysis of the classical morphological mitotic transitions in cells of patients with premature chromosome condensation syndrome (PCC syndrome). *Vortrag präsentiert bei der 16. Jahrestagung der deutschen Gesellschaft für Humangenetik. Halle/Saale*

Trimborn M, Richter R, Sternberg N, Prott EC, Gillessen-Kaesbach G, Sperling K, Neitzel H (2005) PCC syndrome: The underlying gene defect, cellular and clinical characteristics of the first genetic disorder affecting chromosome condensation. *Poster präsentiert bei der 16. Jahrestagung der deutschen Gesellschaft für Humangenetik. Halle/Saale*

Trimborn M, Richter R, Prott EC, Gillessen-Kaesbach G, Sperling K, Jackson A, Neitzel H (2005) Cellular, genetic and clinical characteristics of PCC syndrome and the importance of routine cytogenetic analysis in the diagnosis of this disorder. *Vortrag präsentiert bei der 5th European Cytogenetics Conference. Madrid*

## 7.2.3 Weitere Tagungsbeiträge

Trimborn M, Wegner RD, Tonnies H, Sarioglu N, Albig M, Neitzel H (2002) Prenatal diagnosis and molecular cytogenetic characterisation of a small de novo interstitial duplication 16q11.2-q13. *Poster präsentiert bei der 13. Jahrestagung der deutschen Gesellschaft für Humangenetik. Leipzig*

Trimborn M, Grueters A, Neitzel H, Tonnies H (2003) First small supernumerary ring chromosome carrying 10q euchromatin in a patient with mild phenotype characterized by molecular cytogenetic techniques and review of the literature. *Poster präsentiert bei der 14. Jahrestagung der deutschen Gesellschaft für Humangenetik. Marburg*

Trimborn M, Liehr T, Belitz B, Pfeiffer L, Varon R, Neitzel H, Tonnies H (2004) Prenatal diagnosis and molecular cytogenetic characterization of an unusual complex structural rearrangement in a pregnancy following intracytoplasmic sperm injection (ICSI). *Poster präsentiert beim 14th Workshop on Fetal Cells and Fetal DNA: Recent Progress in Molecular Genetic and Cytogenetic Investigations for Early Prenatal and Postnatal Diagnosis. Jena*

### 7.3 Auflistung der verwendeten Primer

#### MCPH1 spezifische Primer:

cDNA-Primer für Sequenzierung und Yeast-Two-Hybrid-Klonierung:

Bezeichnung	Sequenz von 5' nach 3'
FOR1	<b>GTCGAC</b> -GCAAGCTTCGATGGCGGCC
FOR2	<b>GTCGAC</b> -GAGCACCAGGAGATCTATCATGCCG
FOR3	<b>GTCGAC</b> -AGTTGACTGTAACATGGAGACATCTAC
REV1	<b>GCGGCCGC</b> -GTCATTGTGACAATAGGTAGTTTTCAGTG
REV2	<b>GCGGCCGC</b> -CTCCCACCTTTCTTCAATTCCTCATG
REV3	<b>GCGGCCGC</b> -TCTCTTTACTGAGGAACCTCTGGGTC
REV4	<b>GCGGCCGC</b> -ATTTCCACATCCTGAGTTTCCACAAAG
2F	GAATCATTGTTCCCTGCAGC
3F	GTCACCACAGCGCAATGGAGAAG
4F	GGTAAAGTAGTCACCCCTCACCA
6F	CAACTTCGAGTTGCGTGACTTC
9F	CCTGCAGCTCCCCTGTGCCG
1R	CGAGCTTTACGCCTCTCTTC
3R	AGCTGAGATTCAGGAGGAAGATTC
4R	CCCTCTGGGCATGCGTC
5R	GGGTGCGAAGTGGCTTCCCG
SNP-Primer (80G>C)	TCCAATGGAACAGAAAATTATCAAAGA

\*Die eingeführten Schnittstellen für die Enzyme Sall und NotI sind fett markiert.

Mutageneseprimer:

Bezeichnung	Sequenz von 5' nach 3'
Kozak-F	GTGATTCGTTGCAAGC <b>A</b> CGATGGCGGCCCCCATC
Kozak-R	GATGGGGGCCGCCATCGT <b>G</b> CTTGCAACGAATCAC

\*Die eingeführte Mutation ist fett markiert.

Real Time PCR Primer:

Bezeichnung	Sequenz von 5' nach 3'
MCPH1-long S	CGTTTCGGTGCTCTGGGT
MCPH1-long R	AAATTAAAATCTTTGGGCTGCATACA
MCPH1-short F	CCTCTTCCCAAATGATTCAGCAG
MCPH1-short R	ATCAAAGATGAGTGTAAGCCACCAG

## Genomische Amplifikation:

<b>Bezeichnung</b>	<b>Sequenz von 5' nach 3'</b>
MCPH1 - EXON1F	CCGCCTCACCTACAGAGAAA
MCPH1 - EXON1R	GGCTCCTCCCACGAGTGC
MCPH1 - EXON2F	CTATTGGGCAGGGGATGCTG
MCPH1 - EXON2R	CCAATCAGAAGACTGTCATATGAATC
MCPH1 - EXON3F	CAGAATTGCTGGGGTAGAGG
MCPH1 - EXON3R	ATCTGGTTCCTGCGATCTGTG
MCPH1 - EXON4F	CATGTGCAGATTTAGTGTGTGT
MCPH1 - EXON4R	TCATCAATAGCATATTTAAGACA
MCPH1 - EXON5F	GCAGTTGCAGTACAGCATT
MCPH1 - EXON5R	AAGCTGCGTGGCTCTATTAT
MCPH1 - EXON6F	CATTCTGAAGTATGAAGGCACT
MCPH1 - EXON6R	AAGAAGCTTTCCACCATAATTGA
MCPH1 - EXON7F	TGCTGGCTTCATCTGCTAAG
MCPH1 - EXON7R	CAGAAGTTGCTACATGAAATTCTAAA
MCPH1 - EXON8F	TCCCCACTGCTATCCCATAC
MCPH1 - EXON8R	TGGATGCACTGTTACATGTTT
MCPH1 - EXON9F	TTGCTTAAGTTGTATTTGGTCCAT
MCPH1 - EXON9R	TTCATTGACCCAGAGAAGAACA
MCPH1 - EXON10F	ACAGTTTATTTCTGTGGGAAAAAT
MCPH1 - EXON10R	GCCTAAAGGCACCCAGAATTA
MCPH1 - EXON11F	GGCATGTGCAACAAAGTCAT
MCPH1 - EXON11R	ACCTCAGGGTGACCCACTC
MCPH1 - EXON12F	TTGGTTTATTGCTGCTAAGG
MCPH1 - EXON12R	GGCATAATTGTGCTTGACTGG
MCPH1 - EXON13F	TCGCCTACGCTATGGAGACT
MCPH1 - EXON13R	CCCTCCTATGTGGCTGGCTA
MCPH1 - EXON14 (CDS) F	CTTTCCTATGTGGCTGGCTA
MCPH1 - EXON14 (CDS) R	CGCCAGTTCCTTCTCTTCAC

## Maus MCPH1:

<b>Bezeichnung</b>	<b>Sequenz von 5' nach 3'</b>
Mm MCPH1_Ex2F	CCAAAATGGCAAGGATGATG
Mm MCPH1_Ex2R	GAGGAGATAGTCTTGGAGGC
Mm MCPH1_Ex7F	GATTGTGTGATCATGTTTGTGG
Mm MCPH1_Ex7R	GCTGGGTATCTATTGAAGTGC
Mm MCPH1_Ex8F	GGACAGACTCTCTCTTGAGTTCC
Mm MCPH1_Ex8R	CTGGCAGAACAACAATACTTGG

**PPP1R3B spezifische Primer:**

<b>Bezeichnung</b>	<b>Sequenz von 5' nach 3'</b>
PPP1R3B (E1F1)	GTGGGGAGGTTTACGGCTGCTTTAG
PPP1R3B (E1F2)	AGAATGAGACAAACCAGCCAAGCACG
PPP1R3B (E1R1)	TCCCTTTCCACGGTTCTAGCCTGTTT
PPP1R3B (E1R2)	AAGGCAGGACAGTCAAGAGTGGGGAC
PPP1R3B (E2F1)	GCGCCGCACCCACCTTTTGT
PPP1R3B (E2R1)	TTCCTCCACCGCCGACATC
PPP1R3B (S1F)	CTCCTAGACAACATTGTG
PPP1R3B (S2F)	ACATCAGCTTGCCCGAG
PPP1R3B (S1R)	CACGCCCTGTACCTGC
PPP1R3B (S1R)	TAAGTGTCTTTCACGTAC
PPP1R3B (S1R)	GAACACTTTGACCATTGTC
PPP1R3B (E1)	TGGCATAGGCTTGATTCCCATCCATAC
PPP1R3B (E2)	TCTCTCAAACGCATGTTGTGCTGGAC

**PPP2R2A spezifische Primer:**

<b>Bezeichnung</b>	<b>Sequenz von 5' nach 3'</b>
PPP2R2A-F1	TGAGTTCAGGAAGCGGAGACC
PPP2R2A-F2	GCCATGAACCAGAGTTTGAC
PPP2R2A-F3	GGATCTAATGGTTGAGGCCAG
PPP2R2A-F4	GCAGAATTTTCATCCAACAGC
PPP2R2A-F5	GTAAAATTCAGCCATAGTGGTC
PPP2R2A-F6	CATAACCCTAGAAGCATCGC
PPP2R2A-F7	GTTGCATTCCTAGCAGAAG
PPP2R2A-F8	GATTTACTCCACTTTTTTATGCC
PPP2R2A-F9	ACTGTGGCTTGTAGCATTC
PPP2R2A-F10	GAGACCCCGAGGAACCCAGCAGG
PPP2R2A-R1	CACGGCGAGGAGTGATTACAG
PPP2R2A-R2	CATAGCATGACTGAAGGCTTTC
PPP2R2A-R3	ATCTCAACTAAGCAGGAAGTGG
PPP2R2A-R4	GCGATGCTTCTAGGGTTATG
PPP2R2A-R5	GGGATCTTCAGGTTCTTCAAAC
PPP2R2A-R6	CTCAACCATTAGATCCATAGC
PPP2R2A-R7	CTGGATTTTGTTCCTGCTCC
PPP2R2A-R8	GAAGAGAATGTCAAGACGAAGAAGCC
PPP2R2A-R9	GTTCTACCCAATCTTGGTGAAT
PPP2R2A-R10	ACTGGAAAGGGGCGCCACAATGG

**PPP2CB spezifische Primer:**

<b>Bezeichnung</b>	<b>Sequenz von 5' nach 3'</b>
PPP2CB-3011F	CTAACTTCCACTAATCCATTAT
PPP2CB-3011F-FAM	6-FAM-CTAACTTCCACTAATCCATTAT
PPP2CB-ENDE	GCACAACACAATAAATGAATG

\*FAM-Markierung für SSCP-Analysen

**PPP2CA spezifische Primer:**

Bezeichnung	Sequenz von 5' nach 3'
PPP2CA-F1	GGTTCGCCGCTGTGCCACTG
PPP2CA-R1	ACTTCTGGCGGCTGTTGAGGCTG
PPP2CA-F2	TGGAGCCTCAGCGAGCGGAG
PPP2CA-R2	GGCTCTTGACCTGGGACTCGGACAG
PPP2CA-F3	GGTGGCATCATGGACGAGAAGGTG
PPP2CA-R3	TGACCAACAATGTCGCTTCAGCATG
PPP2CA-F4	GTAGTAACGATTTTCAGTGCTC
PPP2CA-R4	CTCTACCTGAAAACATGCTG
PPP2CA-F5	TCTGTGCTGCTTCAGTAAGACT
PPP2CA-R5	TTGACACAGGCTAATGCTTT

**Vektorspezifische Primer:**

Bezeichnung	Sequenz von 5' nach 3'
S11IN-F1	CGAGAGACAGAGACACTTCCC GCC
S11IN-R1	CCTTTGGCGAGAGGGGAAAGACC

**HPRT spezifische Primer (Endogene Kontrolle RT-PCR):**

Bezeichnung	Sequenz von 5' nach 3'
HPRT-F1	GAGGATTTGGAAAGGGTGTTTATTC
HPRT-R1	ACAATGTGATGGCCTCCCA

**7.4 Auflistung der verwendeten siRNA-Duplexe**

Bezeichnung	Sequenz des Sense-Strangs von 5' nach 3'
MCPH1 - Xu4	UGAUGUACCUAUUCUCUUAUU
MCPH1 - Xu5	GAUAAGAGAUUUCAGAAGAUU
MCPH1 - 2	CUCUCUGUGUGAAGCACCUTT
Mm MCPH1	GGGAGAGGAUUGUAAUGUATT
hCAP-H2a	GGAUUUCAGGAUGAACACGTT
hCAP-H2b	GCUGCAGGACUCCACCAGTT
hCAP-G2	UGAUUGCAUCCAGGACUUCTT
hCAP-Ha	GGGUAGAGACUGAGCAUUAUU
hCAP-Hb	CGAAGCAGAUCCGGAAGUGUUU
hCAP-E	UGCUAUCACUGGCUUAAAUTT
hCAP-G	GUCUCAUGAAGCAAACAGCTT
non-silencing RNA	UUCUCCGAACGUGUCACGUTT

Außerdem wurden Dhamacon SMARTpool siRNA gegen hCAP-G2 (M-018283-00-0005) und hCAP-G (M-006835-00-0005) verwendet.

## 7.6 Danksagung

Ich danke Mariam, Mohammed, Dunja, Nadim, Youssef und Noha. Viel Glück weiterhin.

Ganz besonders danke ich Fr. Prof. Heidemarie Neitzel für die Aufnahme in ihre Arbeitsgruppe und die Betreuung bei der Durchführung und Anfertigung dieser Arbeit.

Herrn Prof. Sperling danke ich für die Unterstützung meiner Arbeit an seinem Institut.

Herrn Prof. Erdmann danke ich für die Übernahme der Zweitbegutachtung meiner Arbeit.

Prof. Tatsuya Hirano (Cold Spring Harbor Laboratories, NY, USA) danke ich für die Aufnahme als Gastwissenschaftler in seine Arbeitsgruppe, die Vermittlung seiner Fachkenntnis und die Überlassung vieler Antikörper. Ebenso danke ich seinen Mitarbeitern Dr. Rita Gandhi, Dr. Ana Losada und Dr. Takao Ono für ihre Hilfe bei der Laborarbeit und viele Ratschläge.

Ich danke Dr. Andrew Jackson und seinem Team für die Zusammenarbeit.

Ich danke Reyk Richter, Nadine Sternberg, Charlotte Pöhlmann, Karolina Olejniczak und Ania Sobczynska, deren Diplom-, Doktor-, bzw. Projektarbeiten ich anleiten durfte, für die geleistete Arbeit.

Ich danke Sylke Niehage, Antje Gerlach und Véronique Dutrannoy für hervorragende technische Assistenz.

Ich danke Dr. Holger Tönnies, Dr. Juan Marchal, Mohsen Karbasyian und Reyk Richter für ihre Bereitschaft zur fachlichen Diskussion und viele Ratschläge.

Ich danke Herrn Prof. Dr. Schindler und Ioannis Gavvovidis für hervorragende Zusammenarbeit.

Ich danke allen Mitgliedern der AG Neitzel für die tolle Unterstützung bei anfallenden Problemen und die gute Atmosphäre in der Arbeitsgruppe. Es macht immer noch Spaß hier zu arbeiten.

Ich danke meiner Familie und meinen Freunden für eine ganze Menge.