

# Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	4
Abkürzungsverzeichnis.....	8

## I. Einleitung

<b>1. Embryonalentwicklung</b> .....	10
<b>2. Zellkompartimente</b> .....	16
2.1 Zellkern .....	16
2.2 Endoplasmatisches Retikulum und Golgi-Komplex .....	18
2.3 Zytoskelett.....	19
<b>3. Molekulare Chaperone</b> .....	21
3.1 Das HSP70/HSP40 System .....	24
3.2 Das HSP40-Chaperon Mdg1 .....	25
3.3 Hitzeschockproteine in der Individualentwicklung.....	27

## II. Fragestellung und Zielsetzung ..... 28

## III. Material und Methoden

### 3.1 Material

3.1.1 Chemikalien.....	29
3.1.2 Nährmedien und Lösungen für Bakterien .....	30
3.1.3 Nährmedien und Lösungen für eukaryontische Zellen.....	30
3.1.4 Puffer zur Arbeit mit Nukleinsäuren .....	30
3.1.5 Puffer für elektrophoretische Verfahren.....	31
3.1.6 Puffer zum Arbeiten mit Proteinen.....	31
3.1.7 Lösungen für immunhistologische Nachweisverfahren .....	33
3.1.8 Plastikwaren .....	34

3.1.9	Verwendete Kits .....	34
3.1.10	Antikörper .....	34
<b>3.2 Molekularbiologische Methoden</b>		
3.2.1	Polymerasekettenreaktion (PCR) .....	36
3.2.2	Klonierung der PCR-Fragmente und Sequenzierung .....	37
3.2.3	Vektoren .....	38
3.2.4	Wirtsbakterien .....	38
3.2.5	Ligation .....	39
3.2.6	Herstellung kompetenter Bakterienzellen .....	39
3.2.7	Transformation .....	40
3.2.8	Plasmid-DNA-Präparation .....	41
3.2.9	DNA-Spaltung mit Restriktionsenzymen .....	41
3.2.10	Agarosegelelektrophorese von DNA-Fragmenten .....	42
3.2.11	Glycerinstock .....	42
3.2.12	Phenolisierung .....	43
3.2.13	DNA-Fällung .....	43
<b>3.3 Zellbiologische Methoden</b>		
3.3.1	Kultivierung der Zellen .....	44
3.3.2	Ausplattieren der Zellen .....	44
3.3.3	Klonierung der Konstrukte für die Lokalisationsstudien .....	45
3.3.4	Transfektion von COS7-Zellen .....	48
3.3.5	Hitzeschock .....	48
3.3.6	Fixieren der transfizierten Zellen .....	49
3.3.7	Tiere .....	49
3.3.8	Organentnahme und Fixation .....	49
3.3.9	Anfertigung der Schnitte .....	50
3.3.10	Immunhistologie .....	50
<b>3.4 Methoden zur Arbeit mit Proteinen</b>		
3.4.1	Fraktionierung .....	52
3.4.2	SDS-PAGE .....	53
3.4.3	Western-Blot .....	54

## IV. Ergebnisse

### 4.1 Immunlokalisierung von Mdg1 in der Maus

4.1.1 Der Antikörper 2983 .....	55
4.1.2 Immunlokalisierung von Mdg1 während der Organogenese.....	57
4.1.3 Immunlokalisierung von Mdg1 im adulten Organismus .....	67
4.1.4 Vergleich der Organe zu verschiedenen Entwicklungszeitpunkten .....	75

### 4.2 Identifizierung der Proteindomänen, die die subzelluläre Lokalisation von Mdg1 kontrollieren

4.2.1 Verwendete Konstrukte.....	78
4.2.2 Fluoreszenzmikroskopische Untersuchung .....	80
4.2.3 Detektion des Mdg1-Proteins in den zellulären Fraktionen unter Kontrollbedingungen und nach Hitzeschock .....	90

## V. Diskussion

### 5.1 Lokalisation des Mdg1-Proteins in der Maus

5.1.1 Lokalisation und Funktion des Mdg1-Proteins während der Embryo- und Organogenese .....	98
5.1.2 Lokalisation und Funktion des Mdg1-Proteins im adulten Organismus .....	103

### 5.2 Subzelluläre Lokalisation von Mdg1 .....

### 5.3 Identifizierung der Kompartiment-spezifischen Proteindomänen

5.3.1 Mdg1-Proteindomänen, welche für die Lokalisation am Zytoskelett notwendig sind .....	108
5.3.2 Mdg1-Proteindomänen, welche für die Lokalisation in der mikrosomalen Fraktion notwendig sind .....	109
5.3.3 Mdg1-Proteindomänen, welche für die Kernlokalisierung notwendig sind .....	110

### 5.4 Funktionen des Mdg1 .....

### 5.5 Ausblick.....

## VI. Zusammenfassung ..... 117

VI. Summary .....	118
VII. Literaturverzeichnis .....	119
VIII. Anhang	
<b>8.1 Sequenzen</b>	
8.1.1 Sequenz des Mdg1 .....	128
8.1.2 Sequenz des Mdg1(96-222).....	128
8.1.3 Sequenz des Mdg1(96-153).....	128
8.1.4 Sequenz des Mdg1(125-180).....	129
8.1.5 Sequenz des Mdg1(154-222).....	129
8.1.6 Sequenz des Mdg1-myc-intern.....	129
<b>8.2 Vektoren</b>	
8.2.1 pEGFP-C3 .....	130
8.2.2 pEGFP-N3 .....	130
IX. Lebenslauf.....	131
X. Danksagung.....	134
XI. Selbständigkeitserklärung.....	135