

Aus der Klinik für Nephrologie und Endokrinologie
der Charité – Universitätsmedizin Berlin
Gemeinsame Einrichtung von Freier Universität Berlin und Humboldt Universität
Campus Benjamin Franklin
Geschäftsführender Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. W. Zidek

**Isolierung und Identifizierung von Diguanosinhexaphosphat
aus bovinem Nebennierengewebe**

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
der
der Charité – Universitätsmedizin Berlin
Gemeinsame Einrichtung von Freier Universität Berlin und Humboldt Universität
Campus Benjamin Franklin

vorgelegt von
Bertram Seibt
aus Berlin
2004

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. M. Paul
Referent: Priv. Doz. Dr. rer. nat. J. Jankowski
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. med. G. Schultz

Tag der mündlichen Prüfung: 15.02.2005

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	7
2	Problemstellung	19
3	Geräte und Materialien	20
3.1	Geräte	20
3.2	Materialien	22
4	Methodik	23
4.1	Aufreinigungsschema	23
4.2	Mechanische Desintegration	24
4.3	Extraktion	24
4.4	Präparative Reversed-Phase-Chromatographie	24
4.5	Grössenausschluss-Chromatographie	25
4.6	Affinitäts-Chromatographie	25
4.7	UV-photometrische Konzentrationsbestimmung	26
4.8	Reversed-Phase-Displacement-Chromatographie	26
4.9	Anionenaustausch-Chromatographie	26
4.10	Reversed-Phase-Chromatographie	27
4.11	Massenbestimmung durch MALDI-Massenspektrometrie	28
4.12	PSD MALDI-Massenspektrometrie	28
4.13	Enzymatische Spaltungsversuche	39
5	Ergebnisse	30
5.1	Präparative Reversed-Phase-Chromatographie	30
5.2	Grössenausschluss-Chromatographie	31
5.3	Affinitäts-Chromatographie	32
5.4	UV-photometrische Konzentrationsbestimmung	34
5.5	Reversed-Phase-Displacement-Chromatographie	35
5.6	Anionenaustausch-Chromatographie	36

5.7	Reversed-Phase-Chromatographie	37
5.8	MALDI-Massenspektrometrie	38
5.9	PSD MALDI-Massenspektrometrie	39
5.10	Enzymatische Spaltungsversuche	40
6	Diskussion	45
7	Zusammenfassung	57
8	Literaturverzeichnis	58
9	Anhang	67

Danksagung

Ich danke Herrn Univ.-Prof. Dr. med. W. Zidek für die Möglichkeit zur Durchführung der Dissertation in der Klinik für Nephrologie und Endokrinologie des Universitätsklinikums Benjamin Franklin. Herrn Prof. Dr. rer. nat. Harmut Schlüter danke ich für die Einblicke in den Facettenreichtum der wissenschaftlichen Arbeit und die hilfreichen Ratschläge.

Ganz besonders möchte ich mich an dieser Stelle bei Herrn Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Joachim Jankowski für die methodische Anleitung bedanken. Der Dank gilt seiner unermüdlichen, geduldigen und freundlichen Hilfestellung sowie der jederzeitigen Ansprechbarkeit bei der experimentellen Laborarbeit, sowie beim Erstellen des Manuskripts. Unvergesslich bleiben auch die Aktivitäten bezüglich der Schliessung des Universitätsklinikums Benjamin Franklin.

Mein Dank gilt ebenso Herrn Dipl. bioch. Lars Henning für die Einführung in die Arbeitstechniken des Labors und die geduldige Hilfe bei technischen Problemen, sowie Frau Vera Jankowski für die Unterstützung bei der Durchführung der Experimente.

Allen anderen hier nicht namentlich genannten Mitarbeitern der Arbeitsgruppe danke ich für geleistete Gesellschaft bei der Laborarbeit.

Meinen Eltern und Grosseltern gilt mein herzlichster Dank dafür, dass sie mir durch ihre Unterstützung die Ruhe und Sicherheit gegeben haben eine Ausbildung nach meinen Wünschen zu absolvieren und diese Arbeit zu erstellen.

Steffi danke ganz herzlich für die Motivation und die Unterstützung während des Studiums und bei der Durchführung der Arbeit.