

9 Verzeichnisse

9.1 Abkürzungsverzeichnis

3D	dreidimensional	h	human (vor Genbezeichnungen)
Abb.	Abbildung	HBSS	<i>Hanks buffered saline solution</i>
AER	apikal ektodermale Randleiste	HH	Hamburger Hamilton Entwicklungsstadium des Hühnchens
ALP	alkalische Phosphatase	IHH	<i>Indian Hedgehog</i>
ANZ	anterior nekrotische Zone	kb	Kilobase(n)
BD	Brachydaktylie	kDa	Kilodalton
BMP	<i>Bone Morphogenetic Protein(s)</i>	L-Gln	L-Glutamin
BMPR	BMP Rezeptor	LMX1B	<i>LIM homeobox transcription factor 1 beta</i>
bp	Basenpaar(e)	m	Maus (vor Genbezeichnungen)
<i>bp</i>	<i>brachypodism</i>	M	molar (Mol/l)
ch	<i>chicken</i>	MAPK	<i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
CS	<i>chicken serum</i>	min	Minute(n)
dest.	destilliert(es)	NANDOR	<i>Non-Activating-Non- Down-Regulating</i>
DIG	Digoxigenin	n. d.	nicht dargestellt
DMSO	Dimethylsulfoxid	NCBI	National Center for Biotechnology Information
dNTP	Desoxyribonukleotidtriphosphat	NOG	<i>NOGGIN</i>
Dpp	<i>Decapentaplegic</i>	OD	optische Dichte
E	Embryonalstadium der Maus	OMIM	<i>online mendelian inheritance in men</i>
ECL	<i>enhanced chemiluminescence</i>	OP	<i>opaque patch</i>
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure	PBS	<i>phosphate buffered saline</i>
EGFP	<i>enhanced green fluorescence protein</i>	PBST	PBS mit Triton
EN1	<i>Engrailed</i>	PCR	Polymerasekettenreaktion
f.c.	<i>final concentration</i>	PDB	<i>protein data bank</i>
FCS	fötales Kälberserum	Pen/Strep	Penicillin/Streptomycin
FGF	<i>Fibroblast Growth Factor(s)</i>	PFA	Paraformaldehyd
Gapdh	Glyceraldehyd-3- Phosphat Dehydrogenase		
GDF	<i>Growth and Differentiation Factor(s)</i>		
GS-Box	Glycin-Serine-reiche Region		

PMSF	Phenylmethylysulphonylfluoride
PNZ	posterior nekrotische Zone
PTHrP	<i>Parathyroid Hormone related Protein</i>
RT	Raumtemperatur
SDS	Natrium-Laurylsulfat
sec	Sekunde(n)
SHH	<i>Sonic Hedgehog</i>
SYM1	proximaler Symphalangismus
SYNS1	multiples Synostose Syndrom
Tab.	Tabelle
TGF β	<i>Transforming Growth Factor beta</i>
TGF β R	TGF β Rezeptor
Tm	Schmelzpunkt
U	<i>Unit</i>
ü. N.	über Nacht
UpM	Umdrehungen pro Minute
V	Volt
WNT	<i>Wingless-related MMTV integration site</i>
WT	Wildtyp
ZPA	Zone der polarisierenden Aktivität

9.2 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1	Das menschliche Skelett.....	1
Abb. 2	Darstellung der Wachstumsfuge	2
Abb. 3	Darstellung der Entwicklung der oberen Extremität	4
Abb. 4	Signalwege, welche die Extremitätenentwicklung steuern.....	5
Abb. 5	Apoptose während der Extremitätenentwicklung	6
Abb. 6	Regulation der interdigitalen Apoptose durch Bmp	7
Abb. 7	Schematische Darstellung der Mitglieder der TGF β -Superfamilie am Beispiel des namengebenden Signalmoleküls TGF β (Prototyp)	10
Abb. 8	BMP-Signaltransduktion.....	11
Abb. 9	GDF5 Expression	12
Abb. 10	Schematische Darstellung der unterschiedlichen Brachydaktylie Typen, klassifiziert nach Bell mit Angabe der bekannten molekulargenetischen Ursache.....	15
Abb. 11	Mikromass-Kultur – ein in vitro Modell für die Knorpelzelldifferenzierung ...	40
Abb. 12	Expression von Gdf5 und Bmpr1b während der Extremitätenentwicklung..	41
Abb. 13	Klinische Ausprägung der Brachydaktylie Typ A2 (BDA2)	42
Abb. 14	Schematische Darstellung der BMPR1B Struktur und relative Positionen der Mutationen	44
Abb. 15	Retroviral-vermittelte Überexpression von <i>Bmpr1b</i> -Mutationen und Kontrollproteinen in der Mikromass-Kultur	45
Abb. 16	Membranständige Lokalisation von Bmpr1b in COS-7 Zellen	46
Abb. 17	Phänotypische Ausprägungen von Extremitätenfehlbildungen von Patienten mit heterozygoten Mutationen in <i>GDF5</i> (R438C, R438L, L441P und N445T)	48
Abb. 18	Sequenz-Alignment und 3D-Modelle von GDF5 und anderen Mitgliedern der TGF β -Superfamilie im Komplex mit Interaktionspartnern	50
Abb. 19	Sequenz-Alignment des hochkonservierten Bereiches der Mitglieder der TGF β -Superfamilie	51
Abb. 20	Retroviral-vermittelte Überexpression der GDF5-Mutanten R438C und L441P in der Mikromass-Kultur	52
Abb. 21	Retroviral-vermittelte Überexpression der Gdf5-Mutanten R438L und N445T in der Mikromass-Kultur	53
Abb. 22	Analyse der Sezernierung von WT GDF5 und mutiertem GDF5.....	54

Abb. 23 Charakterisierung der ALP-Induktion der GDF5-Mutanten in der chondrogenen Zelllinie ATDC5	56
Abb. 24 Einfluss der GDF5-Mutanten auf das Differenzierungsverhalten der prämyoblastischen Zelllinie C2C12	59
Abb. 25 Charakterisierung der ALP-Induktion von GDF5-Mutanten in C2C12 Zellen, die stabil den Bmpr1b exprimieren (C2C12-1B)	60
Abb. 26 Expressionsanalyse während der Gelenkentwicklung.....	61
Abb. 27 Schematische Darstellung der Entwicklung des metakarpalphalangealen Gelenks und die Expression von Gdf5, Nog und Bmp2 während der Mausentwicklungsstadien E12.5 bis E14.5.....	74
Abb. 28 Schematische Darstellung des GDF5-Signalweges mit assoziierten Krankheitsbildern	76

9.3 Tabellenverzeichnis

Tab. 1 Mitglieder der TGF β -Superfamilie mit ihren alternativen Bezeichnungen, einer kurzen Beschreibung ihrer Funktion und der Referenznummer in der humangenetischen Datenbank des NIH (Online Mendelian Inheritance in Men, OMIM).	8
Tab. 2 Verwendete Kits	18
Tab. 3 Verwendete Vektoren.....	19
Tab. 4 Verwendete Bakterienstämme	19
Tab. 5 Mutagenese-Primer.....	20
Tab. 6 Realtime-PCR-Primer	20
Tab. 7 Sequenzierungs-Primer	21
Tab. 8 Verwendete Zelllinien.....	22
Tab. 9 Verwendete Datenbanken und Server	23
Tab. 10 Verwendete Sonden.....	33