

Aus dem Fachbereich Humangenetik
Klinische Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität des Saarlandes, Homburg/Saar
Direktor: Prof. Dr. Eckart Meese

Intersectin 2 und seine Spleissvarianten

Dissertation zur Erlangung des Grades einer Doktorin der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität des Saarlandes
2010

Unter der Leitung von
Prof. Dr. med. Cornelius Welter

vorgelegt von: Christina Ampofo
geb. am: 08. 11. 1978 in Quierschied

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen, Einheiten, Symbole

1.	Zusammenfassung	1
	Summary	3
2.	Einleitung	4
2.1	Genetische Information	4
2.1.1	Transskription	4
2.1.2	Spleissen	4
2.2	Posttranskriptionale Modifikationen	5
2.2.1	Chemische Veränderungen des mRNA-Moleküls	5
2.2.1.1	Modifikation des 5`-Endes: CAP-Struktur	5
2.2.1.2	Modifikation des 3`-Endes: Polyadenylierung	6
2.2.2	RNA-Editing	6
2.2.3	RNA-Spleissen	7
2.2.3.1	GT-AG-Introns	7
2.3	Alternatives Spleissen	9
2.4	Medizinische Bedeutung von Spleissvarianten	10
2.5	Humane Intersectine	11
2.5.1	Aufbau, Bindungspartner und Funktionen	12
2.5.1.1	Aufbau	12

2.5.1.2	Bindungspartner	13
2.5.1.3	Funktionen	14
2.6	Hirntumoren	14
2.6.1	Epidemiologie, Inzidenz und Ätiologie	14
2.6.2	Symptomatik	16
2.6.3	Diagnostik und Therapie	17
2.6.4	Oligodendrogliome	18
2.7	Ziele der Arbeit	20
3.	Material und Methoden	21
3.1	Reagentien und Medien	21
3.1.1	Puffer und Stammlösungen	21
3.1.2	Antibiotikastammlösungen	23
3.1.3	Bakterienagars und Bakterienmedien	23
3.2	Arbeiten mit Nukleinsäuren	24
3.2.1	RNA-Isolierung	24
3.2.1.1	Guanidin-Thiocyanat-Extraktion	24
3.2.1.2	Isolierung mit RNeasy	25
3.2.2	RNA-Gelelektrophorese	26
3.2.3	Reverse Transkription	28
3.2.4	Polymerase-Kettenreaktion	29
3.2.5	Primer	32
3.2.6	DNA-Gelelektrophorese	32
3.2.7	Färbung und Auswertung von Agarosegelen	33
3.2.8	Reinigung von DNA-Fragmenten	34
3.2.8.1	DNA-Isolierung aus Agarosegel	34

3.2.8.2	Reinigung von PCR-Produkten	35
3.2.9	Konzentrationsmessung von Nukleinsäuren	35
3.2.10	DNA-Sequenzierung	36
3.2.11	Bearbeiten der Sequenzen am Computer	38
3.3	Arbeiten mit Bakterien	38
3.3.1	Klonierung und Transformation	38
3.3.2	Kultur in Flüssigmedium	41
3.3.3	Anlegen einer E. coli-Kultur	41
3.3.4	Plasmidisolierung	41
3.3.5	Analyse durch Restriktionsendonukleasen	42
4.	Ergebnisse	44
4.1	Minor-Spleissvarianten unterschiedlicher Gewebe	44
4.1.1	Exon 7	45
4.1.2	Exon 18	47
4.1.3	Exon 26	48
4.1.4	Exon 16	49
4.2	Gewebsspezifische Expression von Exon 16	49
4.2.1	Exon 16 in gesundem Hirngewebe	49
4.2.2	Exon 16 im Oligodendrogliom	50
4.3	Exon 16 als Transmembrandomäne	51
5.	Diskussion	53
5.1	Allgemeine Bedeutung von Spleissvarianten	53
5.2	Medizinische Bedeutung von Spleissvarianten	54
5.3	Spleissvarianten von ITSN2	54

5.3.1	Exon 7	55
5.3.2	Exon 26	56
5.3.3	Exon 18	56
5.3.4	Exon 16	57
5.4	Interectin 2 und Signaltransduktion in T-Zellen	59
5.5	Intersectine und M. Alzheimer	59
6.	Literaturverzeichnis	61
7.	Publikationen	68
8.	Danksagung	69
9.	Lebenslauf	70

Abkürzungen, Einheiten, Symbole

A	Adenin
Ac	Acetat
Ag	Antigen
Ak	Antikörper
APS	Ammoniumpersulfat
AS	Aminosäure
ATP	Adenosintri-phosphat
BD	Bindungsdomäne
bp	Basenpaare
bzw.	beziehungsweise
C	Cytosin
°C	Grad Celsius
ca.	circa
CaCl ₂	Kalziumchlorid
cm	Zentimeter
CTP	Cytosintri-phosphat
d. h.	das heißt
DMEM	Dulbecco`s modified Eagle`s medium
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DNase	Desoxyribonuklease
dNTP	Desoxyribonukleotidtri-phosphat
ds	doppelsträngig
E. coli	Escherichia coli
EDTA	Ethylendiamidtetraessigsäure
EtBr	Ethidiumbromid
EtOH	Ethanol
FCS	Fötale Kälberserum
G	Guanosin
g	Gramm
GITC	Guanidiumisothiocyanat
GTP	Guanosintri-phosphat

h	Stunde
HBS	HEPES buffered Saline (HEPES gepufferte Kochsalzlösung)
HEPES	2-(4-(2-Hydroxyethyl) - 1-piperazinyl)- Ethansulfonsäure
H ₂ O dest.	destilliertes Wasser
ITSN	Intersectin
Kap.	Kapitel
kb	Kilobasen
kg	Kilogramm
l	Liter
LB	Lysogeny broth medium
Lsg.	Lösung
M	Molar
mg	Milligramm
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
MOPS	N-Morpholino-Propan-Sulfonsäure
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
N ₂	Stickstoff
Na(O)Ac	Natriumacetat
NaCl	Natriumchlorid
nm	Nanometer
OD	Optische Dichte
PBS	Phosphat buffered Saline (Phosphat gepufferte Kochsalzlösung)
PCI	Phenol-Chloroform-Isoamylalkohol
PCR	Polymerasekettenreaktion
RE	Restriktionsendonuklease
Rpm	rounds per minute (Umdrehungen pro Minute)
RNA	Ribonukleinsäure
Rnase	Ribonuklease
S.	Seite
SDS	sodium dodecyl sulfate (Natriumdodecylsulfat)
sec	Sekunde

SOC	Super optimal broth medium mit 20 mM Glucose
Strep	Streptomycin
T	Thymin
Tab.	Tabelle
TEMED	N·N·N´·N´-Tetramethylethylendiamin
Tris	Tris-Hydroxymethylaminomethan
TTP	Thymintriphosphat
U	Uracil
UTP	Uridintriphosphat
UV	Ultraviolett
V	Volt
VE	Volumeneinheit
X-Gal	5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-galactoside
z.B.	zum Beispiel