

**Inhaltsverzeichnis**

Geleitwort .....	V
Institutsprofil .....	VII
Vorwort .....	IX
Inhaltsverzeichnis .....	XI
Abkürzungsverzeichnis .....	XV
Abbildungsverzeichnis .....	XIX
Tabellenverzeichnis .....	XXI
Symbole für die proteinogenen Aminosäuren .....	XXIII
<b>1 Einleitung .....</b>	<b>1</b>
1.1 Krebs .....	1
1.2 Apoptose .....	3
1.3 Zellzyklus .....	6
1.4 Kemtransport .....	8
1.5 Survivin .....	10
1.6 Zielsetzung .....	14
<b>2 Material .....</b>	<b>15</b>
2.1 Geräte .....	15
2.2 Verbrauchsmaterialien .....	17
2.3 Chemikalien .....	18
2.4 Puffer und Lösungen .....	19
2.5 Antibiotika .....	22
2.6 Bakterienstämme .....	22
2.7 Zelllinien .....	22
2.8 Nährmedien und Medienzusätze .....	23
2.9 Plasmide .....	24
2.10 Primer .....	26
2.11 Enzyme .....	27
2.12 Antikörper .....	27
2.13 Größenstandards .....	28
2.14 Kits .....	28
2.15 Software .....	29
<b>3 Methoden .....</b>	<b>30</b>

3.1	Molekularbiologische Methoden .....	30
3.1.1	Polymerasekettenreaktion .....	30
3.1.2	Splice Overlap Extension PCR (SOE-PCR) .....	31
3.1.3	Agarose-Gelelektrophorese .....	31
3.1.4	Reinigung von PCR-Produkten .....	32
3.1.5	DNA-Extraktion aus Agarose-Gelen .....	32
3.1.6	Restriktionsverdau .....	32
3.1.7	Ligation .....	32
3.1.8	Photometrische Bestimmung der DNA-Konzentration .....	33
3.1.9	Sequenzanalyse .....	33
3.2	Mikrobiologische Methoden .....	33
3.2.1	Transformation chemisch kompetenter <i>E. coli</i> Bakterien .....	33
3.2.2	Langfristige Lagerung transformierter <i>E. coli</i> Bakterien .....	34
3.2.3	Expression rekombinanter Proteine in <i>E. coli</i> Bakterien .....	34
3.2.4	Plasmidisolierung aus <i>E. coli</i> Bakterien .....	34
3.3	Proteinbiochemische Methoden .....	35
3.3.1	Reinigung von rekombinanten GST-Fusionsproteinen .....	35
3.3.2	Bestimmung der Proteinkonzentration .....	37
3.3.3	SDS-Gelelektrophorese .....	38
3.3.4	Coomassie-Färbung .....	39
3.3.5	Western Blotting .....	40
3.3.6	Gelfiltration .....	41
3.3.7	CD-Spektroskopie .....	42
3.4	Zellbiologische Methoden .....	42
3.4.1	Kultivierung eukaryotischer Zellen .....	42
3.4.2	Zellpassage .....	43
3.4.3	Transiente Transfektion eukaryotischer Zellen .....	43
3.4.4	Herstellung von Zelllysaten .....	44
3.5	Fluoreszenzmikroskopische Methoden .....	44
3.5.1	Konfokale Fluoreszenzmikroskopie .....	44
3.5.2	Föster-Resonanz-Energie-Transfer (FRET) .....	45
4	Ergebnisse .....	46
4.1	Auswirkungen der Acetylierung an Lysin 129 auf die Dimerisierung von Survivin .....	47

---

4.1.1	Testexpression der Acetylierungs-Mutanten in <i>E. coli</i> SoluBL21	48
Bakterien		
4.1.2	Herstellung der Acetylierungs-Mutanten in <i>E. coli</i> SoluBL21	50
Bakterien		
4.1.3	Analyse der Acetylierungs-Mutanten mittels Gelfiltration	53
4.2	Einfluss des nukleären Exportsignals (NES) auf die Dimerisierung von	
Survivin	.....	58
4.2.1	Herstellung der NES-Mutanten in <i>E. coli</i> SoluBL21 Bakterien	59
4.2.2	Analyse der NES-Mutanten mittels Gelfiltration	62
4.2.3	CD-spektroskopische Analyse der NES-Mutanten	66
4.3	Effekt des Survivin-Antagonisten S12 auf die Dimerisierung von	
Survivin	.....	68
4.4	Etablierung eines FRET-Assays zur Analyse der Dimerisierung von	
Survivin <i>in vivo</i>	.....	71
4.4.1	Analyse der Expression der FRET-Konstrukte im eukaryotischen	
System	.....	73
4.4.2	Testtransfektion der FRET-Konstrukte	75
4.4.3	<i>Sensitized Emission</i> FRET-Assay	77
5	Diskussion	80
5.1	Auswirkungen der Acetylierung an Lysin 129 auf die Dimerisierung von	
Survivin	.....	80
5.2	Einfluss des nukleären Exportsignals (NES) auf die Dimerisierung von	
Survivin	.....	84
5.3	Effekt des Survivin-Antagonisten S12 auf die Dimerisierung von	
Survivin	.....	87
5.4	Etablierung eines FRET-Assays zur Analyse der Dimerisierung von	
Survivin <i>in vivo</i>	.....	89
5.5	Ausblick	94
6	Literaturverzeichnis	95