

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Myxobakterien.....	1
1.2	Polyketidsynthasen.....	3
1.3	Ambruticine.....	7
1.3.1	Postulierter Biosyntheseweg der Ambruticine.....	10
1.4	Dehydratasen in Polyketid-Biosynthesewegen.....	13
1.5	Methyltransferasen in Polyketid-Biosynthesewegen.....	15
1.6	Pyransynthasen in Polyketid-Biosynthesewegen.....	17
2	Zielsetzung.....	21
3	Ergebnisse und Diskussion.....	23
3.1	Synthese der Testsubstrate.....	23
3.1.2	Retrosynthese.....	23
3.1.2	Synthese des Aldehyds 54.....	24
3.1.3	Synthese des Testsubstrats 53.....	30
3.1.4	Synthese des vereinfachten Testsubstrates 81.....	33
3.2	Biologische Arbeiten.....	37
3.2.1	Klonierung von ambDH3, amb6 und ambM in verschiedene Expressionsvektoren.....	37
3.2.2	Heterologe Expression verschiedener Fusionsproteine von AmbDH3, Amb6 und AmbM.....	42
3.2.3	Reinigung und Isolierung des N-terminalen His ₆ -Fusionsproteins AmbDH3.....	49
3.2.4	Enzymatische Umsetzung des N-terminalen His ₆ -Fusionsproteins AmbDH3.....	51
4	Zusammenfassung und Ausblick.....	57
4.1	Zusammenfassung.....	57
4.2	Ausblick.....	58
5	Biologische Methoden.....	61
5.1	Geräte.....	61
5.2	Allgemeine Hinweise.....	62
5.3	Bakterienstämme.....	62

5.4 Desoxyribonukleinsäuren	62
5.4.1 Synthetische Gene	62
5.4.2 Vektoren und rekombinante Plasmide	62
5.4.3 Oligonukleotide	63
5.5 Medien, Puffer und Nährböden	63
5.5.1 Medien und Nährböden	64
5.5.2 Puffer und Lösungen	64
5.6 Molekularbiologische Methoden	67
5.6.1 Herstellung chemisch kompetenter E. coli Zellen	67
5.6.2 Chemische Transformation von Bakterienzellen	68
5.6.3 Isolierung von Plasmid-DNA durch alkalische Lyse	68
5.6.4 Konzentrationsbestimmung von DNA	68
5.6.5 Auftrennung von DNA durch Agarose-Gelelektrophorese	69
5.6.6 Restriktionsverdau von Plasmid-DNA und anschließende Reinigung	69
5.6.7 Ligation von DNA-Fragmenten	69
5.7 Polymerasekettenreaktion (PCR)	70
5.7.1 Amplifikation der synthetischen Gene amb6, ambDH3 und ambM	70
5.7.2 Kolonie-PCR	71
5.8 Proteinbiochemische Methoden	72
5.8.1 Heterologe Proteinexpression in E. coli BL21(DE3)-Zellen	72
5.8.2 Herstellung von Ganzzellextrakten	72
5.8.3 Bestimmung der Gesamtproteinkonzentration nach BRADFORD	72
5.8.4 Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamidgelelektrophorese (SDS-PAGE)	73
5.9 Proteinreinigung	73
5.9.1 Native Nickel-Affinitätschromatographie	73
5.9.2 Aufkonzentrierung	74
5.9.3 Entsalzung	74
5.10 Enzymassays	74
6 Chemische Methoden	75
6.1 Allgemeine Hinweise	75
6.2 Analytische Methoden	75
6.3 Synthese des Testsubstrats 53	76

6.4 Synthese des vereinfachten Substrates 81	83
7 Anhang	87
7.1 Plasmidkarten.....	87
7.2 Gensequenzen	89
7.3 Spektrenanhang	92