

Anhang

A Geräte, Enzyme und Chemikalien

Geräte

Autoklav	Vapoklav 500-D, 150 1, Sterico
DNA/RNA-Synthesemachine	PCR-Mate 391 und 394, Applied Biosystems
Elektrophoresekammer	IBI und entsprechende Nachbauten
Gefriertrockner	Beta A, Christ
Heizblock	Thermomixer 5436, Thermomixer comfort, Eppendorf
Heizschränke	Horo, Dr. Hoffmann GmbH
Peristaltikpumpe	Minipuls 2, Gilson
Pipetten	Gilson Pipetman P2, P20, P200, P1000
Photometer	UV-160 A, Shimadzu
PCR-Geräte	UNO II, Biometra
pH-Meter	Digital pH-Meter 646, Knick, Ingold Elektrode
Reinstwasseranlage	Milli-Q, Millipore
Röntgenfilmcassetten	X-Omatic mit Regular-Verstärkerfolien, Kodak
Schüttler	Vortex Genie 2, Scientific Industries
Spannungsquelle	2197, LKB Bromma ECPS 3000/150, Pharmacia
Szintillationszähler	LS 6000 SC, Beckman
UV-Transilluminator	Reprostar II, CAMAG
Vakuumpumpe	Drehschiebervakuumpumpe RC5, Vacuubrand
Vakuumentrifugen	Speed Vac Concentrator, Savant
Videosystem	Cybertech CS I mit Videoprozessor, Mitsubishi
Waage	1401 MP8, Sartorius (2200 g) PC 4400, Mettler
Zentrifugen	Biofuge 13R, Heraeus Sepatech Biofuge A, Heraeus Sepatech

Verbrauchsmaterial

Entwickler	G150, Agfa-Gefaert N. V.
Fixierer	G350, Agfa-Gefaert N. V.
Nap 5, 10, 25-Säulen	Pharmacia Biotech, Freiburg
Nick-Säulen	Pharmacia Biotech, Freiburg
Nitrocellulosefilter	Protran BA83, 0,2 µm, Schleicher & Schüll Protran BA79, 0,1 µm, Schleicher & Schüll
Spin-Column	Centri-Sep, Princeton Separation Centriflex, Advanced Genetic Technologies Corp.

Nucleobond AX20	Macherey-Nagel
Mobicols	Mo Bi Tech
Econo-Säulen	Bio-Rad, München
Pipettenspitzen P20/P200, P1000	Greiner Labortechnik
Pipettenspitzen P2	C-10, Gilson
Reaktionsgefäße 1,5 ml, 2 ml	Eppendorf
Reaktionsgefäße 1,5 ml silikonisiert	Carl Roth
Röntgenfilme	Medical X-Ray Film RX, Fuji
Spritzenfilter	25 mm, PP, steril, 0,2 µm, Nylon, Roth
Szintillationsröhrchen 20 ml	Polyvial, Zinsser Analytic, Frankfurt

Enzyme

<i>Pfu</i> DNA Polymerase, cloned	Stratagene, Heidelberg
SuperScript™ II RNase H	
Reverse Transkriptase	Life Technologies, Eggenstein
T7-RNA Polymerase	Stratagene, Heidelberg
T4-RNA-Ligase	MBI Fermentas
T4-DNA-Ligase	Stratagene, Heidelberg
T4-Polynukleotid-Kinase	Stratagene, Heidelberg
T1-Ribonuklease (<i>Aspergillus oryzae</i>)	Pharmacia Biotech, Freiburg
T2-Ribonuklease (<i>Aspergillus oryzae</i>)	Pharmacia Biotech, Freiburg
S1-Ribonuklease (<i>Aspergillus oryzae</i>)	Pharmacia Biotech, Freiburg
V1-Ribonuklease (Cobra Venom)	Pharmacia Biotech, Freiburg
alkalische Phosphatase (Shrimps)	United States Biochemical (USB)
Klonierungs-Kit (PCR-Script™ Amp Cloning Kit)	Stratagene, Heidelberg
Sequenzierungs-Kit (radioaktiv)	Pharmacia Biotech, Freiburg
Sequenzierungs-Kit (für ABI-Sequencer)	Perkin Elmer

Chemikalien für die Oligonukleotidsynthese:

DNA-Phosphoramidite	Applied Biosystems, Weiterstadt
CPG (dC bz, dG ibu, 500/1000Å)	Applied Biosystems, Weiterstadt
Acetonitril <30 ppm	J. T. Baker, Phillipsburg, NJ, USA
Acetonitril <10 ppm	Carl Roth, Karlsruhe
Reagenzien für die Oligonukleotidsynthese	Applied Biosystems; Carl Roth
Ammoniak 33%	Riedel de Haën, Seelze
Tetrabutylammoniumfluorid 1,1M (THF)	Aldrich, Steinheim

Radioisotope

[α- ³² P]-Cytidin-5'-triphosphat	Amersham Buchler, Braunschweig
[α- ³² P]-Desoxyadenosin-5'-triphosphat	ICN, Meckenheim
[α- ³⁵ S]-Desoxyadenosin-5'-triphosphat	ICN, Meckenheim

Weitere verwendete Chemikalien:

Acetonitril	J. T. Baker, Phillipsburg, NJ, USA
Acrylamid	Gerbu, Gaiberg
Agarose	Eurogentec
Ammoniumperoxodisulfat	Merck, Darmstadt
Ampicillin	Serva, Heidelberg
Borsäure	Riedel de Haën, Seelze
Bromphenolblau	Serva, Heidelberg
Coomassie	Pierce
Desoxynukleotidtriphosphate	Boehringer, Mannheim
1,4-Dithiothreitol (DTT)	Fluka, Neu-Ulm
EDTA (Ultrapure bioreagent)	J. T. Baker, Phillipsburg, NJ, USA
Essigsäure	J. T. Baker, Phillipsburg, NJ, USA
Ethanol, absolut	Merck, Darmstadt
Ethidiumbromid	Fluka, Neu-Ulm
Formamid	Merck, Darmstadt
Glykogen	Boehringer, Mannheim
Harnstoff	Gerbu, Gaiberg
HEPES	Carl Roth, Karlsruhe
Hexafluorisopropanol	Aldrich, Steinheim
Isopropylthio- β ,D-galactosid (IPTG)	Bissendorf Biochemicals, Hannover
<i>N,N'</i> -Methylen-bisacrylamid	Serva, Heidelberg
Nukleosidtriphosphate ATP, GTP, UTP	Boehringer, Mannheim
CTP	Sigma, Deisenhofen
Phenol, Tris gesättigt, pH 7-7,5	Carl Roth, Karlsruhe
Rinderserumalbumin (BSA)	Boehringer, Mannheim
Salzsäure	Riedel de Haën, Seelze
Spermin	Fluka, Neu-Ulm
<i>N,N,N',N'</i> -Tetramethylethylendiamin	Serva, Heidelberg
Triethylamin	BASF, Ludwigshafen
Tris(hydroxymethyl)-aminomethan (Tris)	AppliChem, Darmstadt
Wasser	Reinstwasseranlage Milli-Q, Millipore, steril
5-Brom-4-chlor-3-indolyl- β ,D-galactopyranosid (Xgal)	Bissendorf Biochemicals, Hannover
Xylencyanol	Serva, Heidelberg

Andere Salze und Lösungsmittel wurden von Merck, Darmstadt oder Riedel de Haën, Seelze in p.a.-Qualität bezogen.

B Puffer und Medien

Agarplatten:

12 g/l Agar
in LB- Medium ohne Ampicillin
autoklavieren 20 min / 120 °C
abkühlen auf ca. 55 °C
100 µg/ml Ampicillin
in sterile Petrischalen gießen

A-Mix (G-, C-, T-Mix analog):

840 µM je dCTP, dGTP, dTTP
93,5 µM dATP
14 µM ddATP
40 mM Tris-HCl, pH 7,6
50 mM NaCl

Annealing-Puffer:

1 M Tris-HCl, pH 7,6
100 mM MgCl₂
160 mM DTT

Bindungspuffer:

10 mM Tris-HCl pH 7,5
150 mM NaCl
5 mM MgCl₂
1 mM EDTA

Elutionspuffer:

10 mM Tris-HCl pH 7,5
50 mM DTT

Labelling-Mix:

1,375 µM je dCTP, dGTP, dTTP
333,5 mM NaCl

LB-Medium:

1 % (w/v) Pepton Nr. 140
0,5 % Yeast extract
1 % (w/v) NaCl
autoklavieren 20 min / 120 °C
abkühlen auf ca. 55 °C
100 µg/ml Ampicillin

Lyse-Puffer I:

50 mM Glucose
25 mM Tris-HCl, pH 8
10 mM EDTA, pH 8

Lyse-Puffer II (frisch ansetzen):

200 mM NaOH
1 % SDS

Lyse-Puffer III:

60 ml NaOAc (5 M)
11,5 ml Eisessig
28,5 ml H₂O

Pfu-Puffer (10x):

200 mM Tris-HCl, pH 8,2
100 mM KCl
60 mM (NH₄)₂SO₄
1 % Triton X-100
15 mM MgCl₂

Phosphatase-Puffer (10 x):

Kinase-Puffer (10 x):

Ligase-Puffer (3 x):

Probenpuffer (nativ):

40 % (w/v) Sucrose
0,05 % Bromphenolblau
0,05 % Xylencyanol
in 1 x TBE-Puffer

Probenpuffer (denaturierend):

80 % Formamid
0,05 % Bromphenolblau
0,05 % Xylencyanol
in 1 x TBE-Puffer

RT-Puffer (5x):

250 mM Tris-HCl, pH8,3
375 mM KCl
15 mM MgCl₂

Sequenzierungsmix:

A-, C-, G-, T-Dye Terminator
dITP, dATP, dCTP, dTTP
Tris-HCl, pH 9
MgCl₂

Pyrophosphatase, thermostabil
AmpliTaq DNA Polymerase, FS

SOB-Medium:

2 % (w/v) Bactotrypton Nr. 140
0,5 % (w/v) Yeast extract
10 mM NaCl
autoklavieren 20 min / 120 °C
2,5 mM KCl
10 mM MgCl₂
10 mM MgSO₄

SOC-Medium (immer frisch ansetzen):

1 ml Glucose (2 M, sterilfiltriert)
ad 100 ml SOB-Medium

Stop-Lösung:

0,3 % Bromphenolblau
0,3 % Xylencyanol
10 mM EDTA, pH 7,5
97,5 % Formamid

T1-Spaltungspuffer:

33 mM Natriumcitrat, pH 5
7 M Harnstoff
1,7 mM EDTA
1 mg/ml t-RNA

TBE (5x):

445 mM Tris
445 mM Borsäure
10 mM Na₂EDTA

TE-Puffer:

10 mM Tris-HCl, pH 7,5
1 mM EDTA

Transkriptionspuffer (10x):

800 mM Hepes, pH 7,5
210 mM MgCl₂
10 mM Spermidin

C Lebenslauf

Name:	Francisco Ylera Dahmen
Geburtsdatum:	27. August 1969
Geburtsort:	Krefeld
Schulbildung:	
1975 – 1979	Grundschule in Krefeld
1979 – 1989	Gymnasium Horkesgath in Krefeld
18. Mai 1989	Abitur
01.06.1989 – 31.08.1990	Wehrdienst
Studium:	
10/90 – 09/95	Studium der Chemie an der RWTH Aachen
28.09.1992	Vordiplom Fachrichtung Chemie
10/93 – 7/95	Betreuung von Studenten im Sicherheitstutorium in Bezug auf Sicherheitsfragen und Umweltaspekten
06/94 – 08/94	Forschungsarbeit in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. I. Manners, Department of Chemistry, University of Toronto, Kanada, Synthesis and Characterization of Phosphorous-Bridged [1]Ferrocenophanes and their Ring-Opened Polymers
4/95 – 09/95	Diplomarbeit über "Enzymatische Synthese höherer Kohlenhydrate mit der Galactose-Oxidase und der L-Rhamnulose-1-phosphat-Aldolase" in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. W.-D. Fessner, RWTH Aachen
29.09.1995	Diplom Fachrichtung Chemie
seit 01/96	Doktorarbeit in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. V. A. Erdmann, Institut für Biochemie, Freie Universität Berlin

D Eigene Publikationen

Honeyman, C. H., Foucher, D. A., Ylera Dahmen, F., Rulkens, R., Lough, A. J., Manners, I. (1995) Thermal Ring-Opening Polymerization (ROP) of Strained, Ring-Tilted, Phosphorus-Bridged [1]Ferrocenophanes: Synthesis of Poly(ferrocenylphosphines) and poly(ferrocenylphosphine sulfides). *Organometallics* **14**, 503-512.

Patent: Amyloidspezifisches Aptamer (angemeldet)

Ylera Dahmen, F., Erdmann, V. A., Fürste, J. P. Selection of RNA Aptamers That Bind to the Alzheimer's Disease Amyloid Peptide, in Arbeit.