

Anhang

8.1 Geräte

Gerät	Typ	Hersteller
Absauganlage	(manuell)	Sartorius
Analysenwaage	AE 163	Mettler
Autoklav	Vapoclav 500 D	Sterico
BIACore-Gerät	BIACORE X	Biacore
Brutschrank	B 5042	Heraeus
Elektrophoresekammern	Agagel Mini	Biometra
	Mini-Sub Cell GT	Bio Rad
	Mini-Protean II	Bio Rad
Elektroseparationssystem	BIOTRAP	Schleicher & Schuell
Geldokumentationsanlage	Gel Doc 2000	Biorad
Gefriertrockner	Beta A mit	Heraeus Christ
	Speed Vac Concentrator	Savant
Geltrockner	Mididry	Biometra
Inkubationsschüttler	Thermomixer 5436	Eppendorf
	Modell G25	New Brunswick Scientific
Magnetrührer	IKA Combimag RCT	Janke & Kunkel
Mikrowellenofen	ER-7720DC	Toshiba
Netzgerät	ECPS 3000/150	Pharmacia
pH-Meter	761 Calimatic	Knick
Phosphorimager mit Zubehör	Storm 840	Molecular Dynamics
Pipetten	Pipetman P2, 10, 20, 100, 200, 1000	Gilson
Reinstwasseranlage	Milli-Q	Millipore
Rotoren	JA-14, JA-17	Beckman
Scanner	Snapscan 1212U	Agfa
Schüttler	Vortex-Genie 2	Bender & Hobein
	Celloshaker Variospeed	Chemetron
Spektralphotometer	UV-260	Shimadzu
Sterilfiltrationsanlage		Schleicher & Schuell
Szintillationszähler	LS 6000 SC	Beckman
Thermocycler für PCR	PCT-100	MJ Research, Inc.
	PCR Sprint	Hybaid
Ultraschallbad	Sonorex RK 102	Bandelin
UV-Transilluminator	Reprostar II	Camag
Waage	1401 MP8	Sartorius
Wasserbäder	1002	GFL
Zentrifugen	Mikrocentrifuge	Stratagene
	5415 C	Eppendorf
	Biofuge A	Heraeus Christ
	J2-21	Beckman
	Optima TL Ultracentrifuge	Beckman

8.2 Chemikalien, Biochemica, Lösungsmittel

Aceton	Merck
Acrylamid 30% (Acrylamid/Bisacrylamid=30/0,8)	Roth, Serva
Agar	Gibco
Agarose für die Gelelektrophorese	Gibco, Biozym
L-Aminosäuren	Amersham
Ammoniumchlorid	Merck
Ammoniumperoxodisulfat (APS)	Merck

Ampicillin Natriumsalz	Roche
Biotin	Sigma Aldrich
Borsäure	Merck
Bromphenolblau	Merck
Calciumchlorid	Merck
Caseinhydrolysat (Pepton No. 5)	Gibco
Caseinhydrolysat (Pepton No. 140)	Gibco
Chloroform	Roth
Coomassie brilliant blue R250	Serva
α - ³⁵ S-Cytosin-5'-triphosphat	Amersham
Desoxyribonukleosid-5'-triphosphate (dNTPs)	Roche
Dithioerythritol (DTE)	Merck
Dithiothreitol (DTT)	Merck
Essigsäure	Roth
Ethanol	Roth
Ethidiumbromid (EtBr)	Gibco
Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)	Merck
10-Formyltetrahydrofolat	Merck
Glucose	Merck
Glycerin	Merck
Glycin	Merck
Glycogen	Roche
Harnstoff	Merck
Hefeextrakt	Gibco
Heparin Natriumsalz	Roth
Kaliumacetat	Merck
Kaliumhydroxid	Merck
¹⁴ C-Leucin	Amersham
Magnesiumacetat	Merck
Magnesiumchlorid	Merck
2-Mercaptoethanol	Merck
2-mercaptoethansulfonsäure (MESNA)	Sigma Aldrich
Methanol	Roth
N, N'-Methylen-bisacrylamid	Serva
3-N-(Morpholino)propansulfonsäure (MOPS)	Merck
N,N,N',N'-Tetramethylethyldiamin (TEMED)	Serva
N'-2-Hydroxyethylpiperazin-2-ethansulfonsäure (HEPES)	Biomol
Natriumacetat	Merck
Natriumazid	Merck
Natriumchlorid	Merck
Natriumdodecylsulfat (SDS)	Fluka
Natriumhydroxid	Merck
Natriumpyrophosphat	Merck
Nickelchlorid	Sigma Aldrich
Nickelsulfat	Merck
Phenol	Roth
Phenol/Chloroform/Isoamylalkohol (25/24/1)	Roth
Phosphoenolpyruvat (PEP)	Roche
Polyethylenglycol 2000 (PEG)	Merck
2-Propanol	Roth
Ribonukleosid-5'-triphosphate	Roche
Ribonukleosid-Vanadyl-Komplex (RVC)	NEB
Rifampicin	Roche
Salzsäure	Merck
Spermidin	Serva
Stickstoff (flüssig)	Linde
Szintillationsflüssigkeit (ready protein)	Beckman
Trichloressigsäure (TCA)	Roth
Tris(hydroxymethyl)aminomethan (Tris)	Merck
Triton X-100	Roche
Xylencyanolblau	Serva

8.3 Enzyme, Proteine, Nukleinsäuren

Alkalische Phosphatase (CIP)		NEB, Roche
Anorganische Pyrophosphatase		Sigma Aldrich
Aprotinin		Roche
Bulk-tRNA		Roche
DNA-Längenstandards:	10 bp-Leiter	Gibco
	100 bp-Leiter	Gibco, Roche
	500 bp-Leiter	Roche
DNA-Oligomere		IBA, TIB Molbiol
Dnase I (RNase frei)		Roche
Klenow-Polymerase		Promega
Leupeptin		Roche
M-MLV Reverse Transkriptase (RNase H minus)		Promega
Pepstatin		Roche
Plasmide	pHMFA	Dr. Helmut Merk
	pSEL2	Dr. Michael Gerrits
Proteinase K		Gibco
Protein-Molekulargewichtstandards		
	No.5 (6,5 – 29 kDa)	Serva
	LMW-6 (14,4 – 94 kDa)	Pharmacia
	¹⁴ C-Marker (2,5 – 30 kDa)	Amersham
<i>Pwo</i> DNA-Polymerase		Roche
Pyruvatkinase		Roche
Restriktionsendonukleasen		NEB, Roche, Gibco, Promega MBI
		Fermentas
Ribonuklease-Inhibitor aus humaner Plazenta		Promega
Rinderserum Albumin		Roche
Streptavidin		Sigma Aldrich
Superscript II Reverse Transkriptase (RNase H minus)		Gibco
T4 DNA-Ligase		Stratagene, MBI Fermentas
T4-Polynukleotidkinase		NEB
T7 RNA-Polymerase		Stratagene
<i>Taq</i> DNA-polymerase		Gibco
tRNA aus <i>E. coli</i> MRE600		Roche

8.4 Kits

‘High Pure PCR Product Purification Kit’	Roche
JET-Sorb Gel Extraction Kit	Genomed
JET-Star Plasmidprep Kit (Mini, Midi und Maxi)	Genomed
‘High Pure RNA Purification Kit’	Roche
Qiagen Plasmidprep Kit (Mega und Giga)	Qiagen
Strep-tag Starter-Kit	IBA, Göttingen
Wizard <i>Plus</i> Minipreps	Promega

8.5 Sonstiges

Aktivkohlebeutel	Destaining Bags	Amresco
Einmal-Filterhalter	0,2 µm, FP 030/3	Schleicher & Schuell
Filterpapier	3MM	Whatman
Glasfilter	GF/C	Whatman
Membranfilter	ME 24	Schleicher & Schuell
Minisäulen mit Fritten	Mobicols	MoBiTec, Göttingen
NAP-Säulen	NAP-5 und 10 Column	Pharmacia
Quarzküvette	104-QS	Hellma
Streptavidin-Sepharose	5 mg/ml	IBA, Göttingen
Szintillationsvials	Minis 2000	Zinsser Analytik
Zentrifugierbare Filtereinheit	YM-3	Millipore

Oligonukleotide für die reverse Transkription, PCR, Sequenzierung, etc.

AS-Oligo 5'-TTAAGCTGCTAAAGCGTAGTTTTCGTCGTTTGCGACTA-3'

RT-Primer 5'-CCCCTTGGGGCCTCTAAACGGGTGAGCTGCAGTGCCGTGGGTGAGTGCAGAATGAGTTTCCCGTCAAC-CATCTCCCG-3'

T7 5'-GAAATTAATACGACTCACTATAGGGAGACCACAACGGTTTCCCTCTAG-3'

lpp 5'-GGATCCGAGCTGCTTAAAGGTGAATTCCATAACCCCTTGGGGCCTCTAAACGGG-3'

UniR 5'-GCCGGATCCGAGCTGCTTAAAGGTG-3'

UniF 5'-GCGAAATTAATACGACTCACTATAGGG-3'

8.7 Konstruierte Plasmide zur Generierung der Bibliotheken

Plasmidsequenz pFALinklpp (3954 bp):

- Transkriptionspromotor ('T7 gene 10'): 618-634
- Transkriptionsstart: 635
- 5' stem-loop: 635-655
- Ribosomenbindungsstelle (Shine-Dalgarno Sequenz): 684-689
- Startcodon: 697-699
- FABP kodierende Sequenz: 700-1095
- (Gly₄Ser)₄-Linker: 1096-1155
- Modifizierter Lipoproteininterminator: 1156-1200
- Transkriptionsterminator ('T7 gene 10'): 1277-1317
- β -Lactamase kodierende Sequenz: 2894-3754
- Wichtige Schnittstellen: *Hind* III 399, 1687; *Xba* I 656; *Nco* I 695; *Kpn* I 719; *Pst* I 1065; *Bam* HI 1206

	10	20	30	40	50	60
1	TCGCGCGTTT	CGGTGATGAC	GGTGAAAACC	TCTGACACAT	GCAGCTCCCG	GAGACGGTCA
61	CAGCTTGTCT	GTAAGCGGAT	GCCGGGAGCA	GACAAGCCCG	TCAGGGCGCG	TCAGCGGGTG
121	TTGGCGGGTG	TCGGGGCTGG	CTTAACATATG	CGGCATCAGA	GCAGATTGTA	CTGAGAGTGC
181	ACCATATGCG	GTGTGAAATA	CCGCACAGAT	GCGTAAGGAG	AAAATACCGC	ATCAGGCGCC
241	ATTCGCCATT	CAGGCTGCGC	AAGTGTGGG	AAGGGCGATC	GGTGCGGGCC	TCTTCGCTAT
301	TACGCCAGCT	GGCGAAAGGG	GGATGTGCTG	CAAGGCGATT	AAGTTGGGTA	ACGCCAGGGT
361	TTTCCCAGTC	ACGACGTTGT	AAAACGACGG	CCAGTGCCAA	GCTTGCATGC	AAGGAGATGG
421	CGCCCAACAG	TCCCCCGGCC	ACGGGGCCTG	CCACCATACC	CACGCCGAAA	CAAGCGCTCA
481	TGAGCCCGAA	GTGGCGAGCC	CGATCTTCCC	CATCGGTGAT	GTCGGCGATA	TAGGCGCCAG
541	CAACCGCACC	TGTGGCGCCG	GTGATGCCGG	CCACGATGCG	TCCGGCGTAG	AGGATCGAGA
601	TCTCGATCCC	GCGAAAT	TAA TACGACTCAC	TATA GGGAGA	CCACAACGGT	TTCCCTCTAG
661	AAATAATTTT	GTTTAACTTT	AAG AAGGAGA	TATACC ATG	TGGACGCCTT	CGTGGGTACC
721	TGGAAGTTAG	TGGACAGCAA	GAATTTTCGAT	GACTACATGA	AGTCACTCGG	TGTCGGTTTT
781	GCTACCAGGC	AGGTGGGCAA	TATGACCAAG	CCTACCACAA	TCATCGAAGT	GAATGGGGAC
841	ACAGTCATCA	TAAAAACACA	AAGCACCTTC	AAGAACACAG	AGATCAGCTT	CAAGCTG6GA
901	GTCGAGTTCT	ATGAGACCAC	AGCAGATGAC	AGGAAAGTCA	AGTCCATCGT	GACGCTGGAT
961	GGCGGCAAAC	TTGTCCACGT	GCAGAAGTGG	AATGGACAAG	AGACATCACT	TGTGCGGGAG
1021	ATGGTTGACG	GGAAACTCAT	TCTGACACTC	ACCCACGGCA	CTGCAGTTTG	CACTCGTACT
1081	TACGAGAAAC	AGGCA GGGCG	GGGTGGCAGC	GGTGGCGGGG	GATCAGGCGG	GGGTGGCAGC
1141	GGTGGCGGGG	GATCA GACCC	GTTTAGAGGC	CCCAAGGGGT	TATGGAATTC	ACCTTTAAGC
1201	AGCTCGGATC	CGGCTGCTAA	CAAAGCCCGA	AAGGAAGCTG	AGTTGGCTGC	TGCCACCGCT

1261	GAGCAATAAC	TAGCATAACC	CCTTGGGGCC	TCTAAACGGG	TCTTGAGGGG	TTTTTTGCTG
1321	AAAGGAGGAA	CTATATCCGG	ATATCCACAG	GACGGGTGTG	GTCGCCATGA	TCGCGTAGTC
1381	GATAGTGGCT	CCAAGTAGCG	AAGCGAGCAG	GACTGGGCGG	CGGCCAAAGC	GGTCGGACAG
1441	TGCTCCGAGA	ACGGGTGCGC	ATAGAAATTG	CATCAACGCA	TATAGCGCTA	GCAGCACGCC
1501	ATAGTGACTG	GCGATGCTGT	CGGAATGGAC	GATATCCCGC	AAGAGGCCCC	GCAGTACCGG
1561	CATAACCAAG	CCTATGCCTA	CAGCATCCAG	GGTGACGGTG	CCGAGGATGA	CGATGAGCGC
1621	ATTGTTAGAT	TTCATACACG	GTGCCTGACT	GCGTTAGCAA	TTTAACTGTG	ATAAACTACC
1681	GCATTAAAGC	TTATCGATGA	TAAGCTGTCA	AACATGAGAA	TTCGTAATCA	TGGTCATAGC
1741	TGTTTCCTGT	GTGAAATTGT	TATCCGCTCA	CAATTCCACA	CAACATACGA	GCCGGAAGCA
1801	TAAAGTGTA	AGCCTGGGGT	GCCTAATGAG	TGAGCTAACT	CACATTAATT	GCGTTGCGCT
1861	CACTGCCCCG	TTTCCAGTCG	GGAAACCTGT	CGTGCCAGCT	GCATTAATGA	ATCGGCCAAC
1921	GCGCGGGGAG	AGGCGGTTTG	CGTATTGGGC	GCTCTTCCGC	TTCCTCGCTC	ACTGACTCGC
1981	TGCGCTCGGT	CGTTCGGCTG	CGGCGAGCGG	TATCAGCTCA	CTCAAAGGCG	GTAATACGGT
2041	TATCCACAGA	ATCAGGGGAT	AACGCAGGAA	AGAACATGTG	AGCAAAAGGC	CAGCAAAAGG
2101	CCAGGAACCG	TAAAAAGGCC	GCGTTGCTGG	CGTTTTTCCA	TAGGCTCCGC	CCCCCTGACG
2161	AGCATCACAA	AAATCGACGC	TCAAGTCAGA	GGTGCGGAAA	CCCACAGGGA	CTATAAAGAT
2221	ACCAGGCGTT	TCCCCCTGGA	AGCTCCCTCG	TGCGCTCTCC	TGTTCCGACC	CTGCCGCTTA
2281	CCGATACCT	GTCCGCCTTT	CTCCCTTCGG	GAAGCGTGGC	GCTTTCTCAT	AGCTCACGCT
2341	GTAGGTATCT	CAGTTCGGTG	TAGGTCGTTT	GCTCCAAGCT	GGGCTGTGTG	CACGAACCCC
2401	CCGTTTCAGC	CGACCGCTGC	GCCTTATCCG	GTAACATATC	TCTTGAGTCC	AACCCGGTAA
2461	GACACGACTT	ATCGCCACTG	GCAGCAGCCA	CTGGTAACAG	GATTAGCAGA	GCGAGGTATG
2521	TAGGCGGTGC	TACAGAGTTC	TTGAAGTGGT	GGCCTAACTA	CGGCTACACT	AGAAGGACAG
2581	TATTTGGTAT	CTGCGCTCTG	CTGAAGCCAG	TTACCTTCGG	AAAAAGAGTT	GGTAGCTCTT
2641	GATCCGGCAA	ACAAACCACC	GCTGGTAGCG	GTGGTTTTTT	TGTTTGCAAG	CAGCAGATTA
2701	CGCGCAGAAA	AAAAGGATCT	CAAGAAGATC	CTTTGATCTT	TTCTACGGGG	TCTGACGCTC
2761	AGTGGAACGA	AAACTCACGT	TAAGGGATTT	TGGTCATGAG	ATTATCAAAA	AGGATCTTCA
2821	CCTAGATCCT	TTTAAATTAA	AAATGAAGTT	TTAAATCAAT	CTAAAGTATA	TATGAGTAAA
2881	CTTGGTCTGA	CAGTTACCAA	TGCTTAATCA	GTGAGGCACC	TATCTCAGCG	ATCTGTCTAT
2941	TTCGTTTCAT	CATAGTTGCC	TGACTCCCCG	TCGTGTAGAT	AACTACGATA	CGGGAGGGCT
3001	TACCATCTGG	CCCCAGTGCT	GCAATGATAC	CGCGAGACCC	ACGCTCACCG	GCTCCAGATT
3061	TATCAGCAAT	AAACCAGCCA	GCCGGAAGGG	CCGAGCGCAG	AAGTGGTCCT	GCAACTTTAT
3121	CCGCCTCCAT	CCAGTCTATT	AATTGTTGCC	GGGAAGCTAG	AGTAAGTAGT	TCGCCAGTTA
3181	ATAGTTTGCG	CAACGTTGTT	GCCATTGCTA	CAGGCATCGT	GGTGTACAGC	TCGTGTTTTG
3241	GTATGGCTTC	ATTCAGCTCC	GGTTCCCAAC	GATCAAGGCG	AGTTACATGA	TCCCCCATGT
3301	TGTGCAAAAA	AGCGGTTAGC	TCCTTCGGTC	CTCCGATCGT	TGTCAGAAAGT	AAGTTGGCCG
3361	CAGTGTTATC	ACTCATGGTT	ATGGCAGCAC	TGCATAATTC	TCTTACTGTC	ATGCCATCCG
3421	TAAGATGCTT	TTCTGTGACT	GGTGAGTACT	CAACCAAGTC	ATTCTGAGAA	TAGTGTATGC
3481	GGCGACCGAG	TTGCTCTTGC	CCGGCGTCAA	TACGGGATAA	TACCGCGCCA	CATAGCAGAA
3541	CTTTAAAAGT	GCTCATCATT	GGAAAACGTT	CTTCGGGGCG	AAAACCTCTCA	AGGATCTTAC
3601	CGCTGTTGAG	ATCCAGTTCG	ATGTAACCCA	CTCGTGCAAC	CAACTGATCT	TCAGCATCTT
3661	TTACTTTTAC	CAGCGTTTCT	GGGTGAGCAA	AAACAGGAAG	GCAAAATGCC	GCAAAAAAGG
3721	GAATAAGGGC	GACACGGAAA	TGTTGAATAC	TCATACTCTT	CCTTTTTCAA	TATTATTGAA
3781	GCATTTATCA	GGGTTATTGT	CTCATGAGCG	GATACATATT	TGAATGTATT	TAGAAAAATA
3841	AACAAATAGG	GGTTCCGCGC	ACATTTCCCC	GAAAAAGTGCC	ACCTGACGTC	TAAGAAACCA
3901	TTATTATCAT	GACATTAACC	TATAAAAATA	GCGTATCAC	GAGGCCCTTT	CGTC

Plasmidsequenz pSEL4 (3810 bp):

- Transkriptionspromotor ('T7 gene 10'): 618-634
- Transkriptionsstart: 635
- 5' stem-loop: 635-655
- Ribosomenbindungsstelle (Shine-Dalgarno Sequenz): 684-689
- Startcodon: 697-699
- CI 2 kodierende Sequenz: 706-936
- Loopstruktur: 808-870
- (Gly₄Ser)-Linker: 937-1011
- Modifizierter Lipoproteinterminator: 1012-1056
- Transkriptionsterminator ('T7 gene 10'): 1133-1173
- β -Lactamase kodierende Sequenz: 2750-3610
- Wichtige Schnittstellen: *Hind* III 399, 1543; *Xba* I 656; *Nco* I 695; *Nsi* I 813; *Xho* I 865; *Bam* HI 834, 1062; *Pst* I 1065

	10	20	30	40	50	60
1	TCGCGCGTTT	CGGTGATGAC	GGTGAAAACC	TCTGACACAT	GCAGCTCCCG	GAGACGGTCA
61	CAGCTTGTCT	GTAAGCGGAT	GCCGGGAGCA	GACAAGCCCG	TCAGGGCGCG	TCAGCGGGTG
121	TTGGCGGGTG	TCGGGGCTGG	CTTAACATATG	CGGCATCAGA	GCAGATTGTA	CTGAGAGTGC
181	ACCATATGCG	GTGTGAAATA	CCGCACAGAT	GCGTAAGGAG	AAAATACCGC	ATCAGGCGCC
241	ATTCGCCATT	CAGGCTGCGC	AACTGTTGGG	AAGGGCGATC	GGTGCGGGCC	TCTTCGCTAT
301	TACGCCAGCT	GGCGAAAGGG	GGATGTGCTG	CAAGGCGATT	AAGTTGGGTA	ACGCCAGGGT
361	TTTCCAGTCT	ACGACGTTGT	AAAACGACGG	CCAGTGCCAA	GCTTGCATGC	AAGGAGATGG
421	CGCCCAACAG	TCCCCGGGCC	ACGGGGCCTG	CCACCATAACC	CACGCCGAAA	CAAGCGCTCA
481	TGAGCCCGAA	GTGGCGAGCC	CGATCTTCCC	CATCGGTGAT	GTCGGCGATA	TAGGCGCCAG
541	CAACCGCACC	TGTGGCGCCG	GTGATGCCGG	CCACGATGCG	TCCGGCGTAG	AGGATCGAGA
601	TCTCGATCCC	GCGAAAT	TAA TACGACTCAC	TATA GGGAGA	CCACAACGGT	TTCCCTCTAG
661	AAATAATTTT	GTTTAACTTT	AAG AAGGAGA	TATACC ATGG	GTACC CTGAA	GACAGAGTGG
721	CCAGAGTTGG	TGGGGAAATC	GGTGGAGGAG	GCCAAGAAGG	TGATTCTCCA	GGACAAGCCA
781	GAGGCGCAAA	TCATAGTTCT	GCCGGTG CAT	GCATTAGCTA	GCGAAGATCA	GGTGGATCCA
841	CGGTTAATCG	ATGGTAAGGG	CGCCCTCGAG	GACCGCGTCC	GCCTCTTTGT	CGATAAACTC
901	GACAACATTG	CCCAGGTCCC	CAGGGTCGGC	ACGCGT GGC	GGGGCGGTAG	CGGC GGTGGC
961	GGGTCGGGCG	GTGGCGGATC	GACCAGGCAG	GTGGGCGCTA	GCCTGCAAGC	TGACCCGTTT
1021	AGAGGCCCCA	AGGGGTTATG	GAATTCACCT	TTAAGCAGCT	CGGATCCGGC	TGCTAACAAA
1081	GCCCGAAAGG	AAGCTGAGTT	GGCTGCTGCC	ACCGCTGAGC	AATAACTAGC	ATAACCCCTT
1141	GGGGCCTCTA	AACGGGTCTT	GAGGGGTTTT	TTGCTGAAAG	GAGGAACAT	ATCCGGATAT
1201	CCACAGGACG	GGTGTGGTCG	CCATGATCGC	GTAGTCGATA	GTGGCTCCAA	GTAGCGAAGC
1261	GAGCAGGACT	GGGCGGCGGC	CAAAGCGGTC	GGACAGTGCT	CCGAGAACGG	GTCGCGATAG
1321	AAATTGCATC	AACGCATATA	GCGCTAGCAG	CACGCCATAG	TGACTGGCGA	TGCTGTGCGA
1381	ATGGACGATA	TCCCGCAAGA	GGCCCGGCAG	TACCGGCATA	ACCAAGCCTA	TGCCTACAGC
1441	ATCCAGGGTG	ACGGTGCCGA	GGATGACGAT	GAGCGCATTG	TTAGATTTC	TACACGGTGC
1501	CTGACTGCGT	TAGCAATTTA	ACTGTGATAA	ACTACCGCAT	TAAAGCTTAT	CGATGATAAG
1561	CTGTCAAACA	TGAGAATTCG	TAATCATGGT	CATAGCTGTT	TCCTGTGTGA	AATTGTTATC
1621	CGCTCACAA	TCCACACAAC	ATACGAGCCG	GAAGCATAAA	GTGTAAAGCC	TGGGGTGCCT
1681	AATGAGTGAG	CTAACTCACA	TTAATTGCGT	TGCGCTCACT	GCCCGCTTTC	CAGTCGGGAA
1741	ACCTGTCGTG	CCAGCTGCAT	TAATGAATCG	GCCAACGCGC	GGGGAGAGGC	GGTTTGCGTA
1801	TTGGGCGCTC	TTCCGCTTCC	TCGCTCACTG	ACTCGCTGCG	CTCGGTGCTT	CGGCTGCGGC
1861	GAGCGGTATC	AGCTCACTCA	AAGGCGGTAA	TACGTTATC	CACAGAATCA	GGGGATAACG
1921	CAGGAAAGAA	CATGTGAGCA	AAAGGCCAGC	AAAAGGCCAG	GAACCGTAAA	AAGGCCGCGT
1981	TGCTGGCGTT	TTTCCATAGG	CTCCGCCCCC	CTGACGAGCA	TCACAAAAAT	CGACGCTCAA
2041	GTCAGAGGTG	GCGAAACCCG	ACAGGACTAT	AAAGATACCA	GGCGTTTCCC	CCTGGAAGCT
2101	CCCTCGTGCG	CTCTCCTGTT	CCGACCCTGC	CGCTTACCGG	ATACCTGTCC	GCCTTTCTCC
2161	CTTCGGGAAG	CGTGGCGCTT	TCTCATAGCT	CACGCTGTAG	GTATCTCAGT	TCGGTGTAGG
2221	TCGTTGCTC	CAAGCTGGGC	TGTGTGCACG	AACCCCCCGT	TCAGCCCCGAC	CGCTGCGCCT
2281	TATCCGGTAA	CTATCGTCTT	GAGTCCAACC	CGGTAAGACA	CGACTTATCG	CCACTGGCAG
2341	CAGCCACTGG	TAACAGGATT	AGCAGAGCGA	GGTATGTAGG	CGGTGCTACA	GAGTTCTTGA
2401	AGTGGTGGCC	TAACACGGC	TACACTAGAA	GGACAGTATT	TGGTATCTGC	GCTCTGCTGA
2461	AGCCAGTTAC	CTTCGGAAAA	AGAGTTGGTA	GCTCTTGATC	CGGCAAAACA	ACCACCGCTG

```

2521 GTAGCGGTGG TTTTTTTGTT TGCAAGCAGC AGATTACGCG CAGAAAAAAA GGATCTCAAG
2581 AAGATCCTTT GATCTTTTCT ACGGGGTCTG ACGCTCAGTG GAACGAAAAAC TCACGTTAAG
2641 GGATTTTGGT CATGAGATTA TCAAAAAGGA TCTTCACCTA GATCCTTTTA AATTAATAAAT
2701 GAAGTTTTAA ATCAATCTAA AGTATATATG AGTAAACTTG GTCTGACAGT TACCAATGCT
2761 TAATCAGTGA GGCACCTATC TCAGCGATCT GTCTATTTTCG TTCATCCATA GTTGCTGAC
2821 TCCCCGTCGT GTAGATAACT ACGATACGGG AGGGCTTACC ATCTGGCCCC AGTGCTGCAA
2881 TGATACCGCG AGACCCACGC TCACCGGCTC CAGATTTATC AGCAATAAAC CAGCCAGCCG
2941 GAAGGGCCGA GCGCAGAAGT GGTCTTGCAA CTTTATCCGC CTCCATCCAG TCTATTAATT
3001 GTTGCCGGGA AGCTAGAGTA AGTAGTTCGC CAGTTAATAG TTTGCGCAAC GTTGTTGCCA
3061 TTGCTACAGG CATCGTGGTG TCACGCTCGT CGTTTGGTAT GGCTTCATTC AGCTCCGGTT
3121 CCCAACGATC AAGGCGAGTT ACATGATCCC CCATGTTGTG CAAAAAAGCG GTTAGCTCCT
3181 TCGGTCCTCC GATCGTTGTC AGAAGTAAGT TGGCCGAGT GTTATCACTC ATGGTTATGG
3241 CAGCACTGCA TAATTCTCTT ACTGTCATGC CATCCGTAAG ATGCTTTTCT GTGACTGGTG
3301 AGTACTCAAC CAAGTCATTC TGAGAATAGT GTATGCGGCG ACCGAGTTGC TCTTGCCCGG
3361 CGTCAATACG GGATAATACC GCGCCACATA GCAGAACTTT AAAAGTGCTC ATCATTGGAA
3421 AACGTTCTTC GGGGCGAAAA CTCTCAAGGA TCTTACCGCT GTTGAGATCC AGTTCGATGT
3481 AACCCTCTCG TGCACCCAAC TGATCTTCAG CATCTTTTAC TTTCAACAGC GTTTCTGGGT
3541 GAGCAAAAAC AGGAAGGCAA AATGCCGCAA AAAAGGGAAT AAGGGCGACA CGGAAATGTT
3601 GAATACTCAT ACTCTTCCTT TTTCAATATT ATTGAAGCAT TTATCAGGGT TATTGTCTCA
3661 TGAGCGGATA CATATTTGAA TGTATTTAGA AAAATAAACA AATAGGGGTT CCGCGCACAT
3721 TTCCCCGAAA AGTGCCACCT GACGTCTAAG AAACCATTAT TATCATGACA TTAACCTATA
AAAATAGGCG TATCACGAGG CCCTTTCGTC

```

8.8 Abkürzungen

A	Adenosin	dpm	<i>engl.</i> desintegrations per minute
APS	Ammoniumperoxodisulfat		Zerfälle pro Minute
AS	<i>engl.</i> Antisense	DTE	Dithioerythritol
ATP	Adenosin-5'-triphosphat	DTT	Dithiothreitol
bp	Basenpaare	<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
BPB	Bromphenolblau	EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
Bq	Bequerel (= 1 Zerfall pro sek)	EF	Elongationsfaktor
BSA	<i>engl.</i> bovine serum albumin	<i>et al.</i>	und andere
	Rinderserum Albumin	FABP	<i>engl.</i> fatty acid binding protein
C	Cytidin		fettsäurebindendes Protein
Ci	Curie (1 Ci = $3,7 \times 10^6$ Bq)	g	Gramm
CIP	<i>engl.</i> calf intestine phosphatase	G	Guanosin
	Alkalische Phosphatase aus Kälberdarm	× g	Gravitation, Erdbeschleunigung
cpm	<i>engl.</i> counts per minute	GTP	Guanosin-5'-triphosphat
	gemessene Impulse pro Minute	h	Stunde
CTP	Cytidin-5'-triphosphat	HABA	Hydroxyazobenzoessäure
Da	Dalton	HEPES	N'-2-Hydroxyethylpiperazin-2-ethansulfonsäure
ddNTP	2',3'-Desoxyribonukleosidtriphosphat	IF	Initiationsfaktor
dNTP	2'-Desoxyribonukleosidtriphosphat	kb(p)	Kilobasen(paare)
DNA	<i>engl.</i> deoxyribonucleic acid	K _d	Dissoziationskonstante
	Desoxyribonukleinsäure	l	Liter
		LB	Luria-Bertani-(Medium)

M	molar (mol/l)	TE	Tris/EDTA
mA	Milliampere	TEMED	N, N, N', N'-Tetramethylethyldiamin
min	Minute	Tris	Tris(hydroxymethyl)aminomethan
Mol	$6,022 \times 10^{23}$	tRNA	<i>engl.</i> transfer ribonucleic acid
MOPS	3-N-(Morpholino)propansulfonsäure		Transfer-Ribonukleinsäure
		U	Uridin
mRNA	<i>engl.</i> messenger ribonucleic acid Boten-Ribonukleinsäure	U	Unit, Einheit der Enzymaktivität
MW	Molekulargewicht	UTP	Uridin-5'-triphosphat
N	Nukleotid	UTR	<i>engl.</i> untranslated region untranslatierter Bereich
NTP	Nukleosid-5'-triphosphat	UV	ultraviolett
PAGE	Polyacrylamidgel-Elektrophorese	v/v	Volumen pro Volumen,
PCR	<i>engl.</i> polymerase chain reaction Polymerasekettenreaktion	w/v	Gewicht pro Volumen,
PEG	Polyethylenglykol	XCB	Xylencyanolblau
PEP	Phosphoenolpyruvat		
P _i	anorganisches Phosphat		
PP _i	Pyrophosphat		
<i>Pwo</i>	<i>Pyrococcus woesei</i>		
RBS	Ribosomenbindungsstelle		
RD	'Ribosome Display'		
RF	<i>engl.</i> release factor Freisetzungsfaktor		
RNA	<i>engl.</i> ribonucleic acid Ribonukleinsäure		
RNase	Ribonuklease		
rpm	<i>engl.</i> rounds per minute Umdrehungen pro Minute		
rRNA	ribosomale Ribonukleinsäure		
RT	reverse Transkription		
RU	<i>engl.</i> resonance units (Resonanzeinheiten)		
RVC	Ribonukleosid-Vanadyl-Komplex		
SDS	<i>engl.</i> sodium dodecyl sulfate Natriumdodecylsulfat		
sec	Sekunde		
St 2	Strep-tag II		
T	Thymin		
<i>Taq</i>	<i>Thermus aquaticus</i>		
TBE	Tris/Borsäure/EDTA		
TCA	Trichloressigsäure		

Abkürzungen für Aminosäuren

Aminosäure	Dreibuchstabencode	Einbuchstabencode
Alanin	Ala	A
Arginin	Arg	R
Asparagin	Asn	N
Asparaginsäure (Aspartat)	Asp	D
Cystein	Cys	C
Glutamin	Gln	Q
Glutaminsäure (Glutamat)	Glu	E
Glycin	Gly	G
Histidin	His	H
Isoleucin	Ile	I
Leucin	Leu	L
Lysin	Lys	K
Methionin	Met	M
Phenylalanin	Phe	F
Prolin	Pro	P
Serin	Ser	S
Threonin	Thr	T
Tryptophan	Trp	W
Tyrosin	Tyr	Y
Valin	Val	V

Präfixe für Einheiten: **f**, Femto (10^{-15}); **p**, Pico (10^{-12}); **n**, Nano (10^{-9}); **μ**, Mikro (10^{-6});

m, Milli (10^{-3}); **k**, Kilo (10^3)

Weiterhin wurden allgemein übliche Abkürzungen verwendet.

8.9 Eigene Publikationen

Originalarbeiten:

Lamla, T. und Erdmann, V.A. (2001) *In vitro* selection of other proteins than antibodies by means of ribosome display. *FEBS Lett.* 502, 35-40.

Lamla, T., Mammeri, K. und Erdmann, V.A. (2001) The cell-free protein biosynthesis-applications and analysis of the system. *Acta Biochim. Pol.* 48, 453-465.

Lamla, T. und Erdmann, V.A. (2002) Improved batch translation system based on *E. coli* extract, in: *Cell-free translation systems*, pp. 23-39. Springer Verlag, ISBN 3-540-42050-9.

Lamla, T. und Erdmann, V.A. (2002) An improved protein bioreactor: Efficient product isolation during *in vitro* protein biosynthesis via affinity tag. *Molecular and Cellular Proteomics* 1, 466-471.

Lamla, T. und Erdmann, V.A. (2002) Searching sequence space for binding peptides using ribosome display. in *Bearbeitung*

Patente:

DE-Patentanmeldung Nr. 101 37 792 vom 06.08.2001

DE-Patentanmeldung Nr. 102 08 877 vom 01.03.2002

Poster:

Lamla, T. und Erdmann, V.A. (2001) *In vitro* selection of other proteins than antibodies by means of ribosome display. GBM-Jagrestagung (52. Mosbacher Kolloquium), 5.-7. April, Mosbach.

Lamla, T. und Erdmann, V.A. (2001) *In vitro* selection of proteins by means of ribosome display. Tag der Chemie, Freie Universität Berlin, 7. November, Berlin.

Vorträge:

Lamla, T. (1998) Aufreinigung *in vitro* synthetisierter Proteine. Arbeitstreffen des BMBF-Verbundprojekts „Proteine mit unnatürlichen Aminosäuren, Teilprojekt: Zellfreie Proteinsynthese“, 15.-16.Dezember, Potsdam.

Lamla, T. (1999) Zellfreie Synthese von Strep-tag Fusionsproteinen und ihre Isolierung. 17. Rabensteiner Kolleg, 3.-5. Juni, Pottenstein.

Lamla, T. (2000) *In vitro* Selektion von Proteinen mittels Ribosomendisplay. 18. Rabensteiner Kolleg, 22.-24. Juni, Pottenstein.

Lamla, T. (2002) *In vitro* Selektion von Peptiden und Proteinen. Symposium des Netzwerkes „RNA-Technologien“, 8.-9. März, Berlin.

Lamla, T. (2002) *In vitro* selection of proteins based upon the cell-free translation. EFBIC workshop on cell-free protein factories, 11.-12. April, Chinese academy of science, Shanghai, China.

8.10 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Volker A. Erdmann für die Aufnahme in seine Arbeitsgruppe und für die Schaffung der optimalen materiellen und finanziellen Rahmenbedingungen, die ich während der Anfertigung der vorliegenden Arbeit nutzen durfte. Darüber hinaus bin ich Herrn Prof. Erdmann für seine Diskussionsbereitschaft, die mir überlassenen wissenschaftlichen Freiräume und die Schaffung eines vielversprechenden Folgeprojekts sehr dankbar.

Mein herzlicher Dank gilt auch Herrn Dr. Wolfgang Stiege für die Bereitstellung dieser überaus interessanten Arbeit und die anfängliche Betreuung.

Vor allem Dr. Michael Gerrits, Rouven Klug und Dr. Helmut Merk danke ich für die zahlreichen Tips und Tricks, sowie die unzähligen wissenschaftlichen Diskussionen.

Der gesamten „*in vitro* Proteinbiosynthesegruppe“, Dr. Michael Gerrits, Kerstin Mammeri, Dr. Helmut Merk, Iris Reker, Angela Schreiber, Dr. Wolfgang Stiege, Anja Talke und Kathrin Tausch, danke ich für die ausgezeichnete Teamarbeit und Arbeitsatmosphäre.

Anja Talke danke ich ganz herzlich für das gewissenhafte Korrekturlesen dieser Arbeit und Florian Töpert für die Unterstützung bei den Biacore-Messungen, sowie der Substitutionsanalyse.

Bei allen weiteren Mitgliedern – und ehemaligen Mitgliedern – der Arbeitsgruppe möchte ich mich für die gute Zusammenarbeit und die angenehme Atmosphäre bedanken.

Herrn Prof. Dr. Hans Lehrach möchte ich für die Bereitschaft, diese Dissertation zu begutachten, danken.

Von ganzem Herzen möchte ich an dieser Stelle meiner Freundin Nora danken, die trotz der Distanz zum Thema immer ein offenes Ohr für meine Probleme hatte und gelegentlich eine Arbeitszeitverkürzung erzwang.