

BestMasters

David Schmidt

Bioanalytische Struktur- Funktionsmessungen an Ionenkanälen

Entwicklung optischer Analyse-
methoden an punktmutierten
KcsA und Connexin 26



Springer Spektrum

BestMasters

Mit „BestMasters“ zeichnet Springer die besten Masterarbeiten aus, die an renommierten Hochschulen in Deutschland, Österreich und der Schweiz entstanden sind. Die mit Höchstnote ausgezeichneten Arbeiten wurden durch Gutachter zur Veröffentlichung empfohlen und behandeln aktuelle Themen aus unterschiedlichen Fachgebieten der Naturwissenschaften, Psychologie, Technik und Wirtschaftswissenschaften.

Die Reihe wendet sich an Praktiker und Wissenschaftler gleichermaßen und soll insbesondere auch Nachwuchswissenschaftlern Orientierung geben.

Weitere Bände in der Reihe <http://www.springer.com/series/13198>

David Schmidt

Bioanalytische Struktur- Funktionsmessungen an Ionenkanälen

Entwicklung optischer Analyse-
methoden an punktmutierten
KcsA und Connexin 26

 Springer Spektrum

David Schmidt
Hannover, Deutschland

BestMasters

ISBN 978-3-658-19144-3

ISBN 978-3-658-19145-0 (eBook)

DOI 10.1007/978-3-658-19145-0

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Springer Spektrum

© Springer Fachmedien Wiesbaden GmbH 2017

Das Werk einschließlich aller seiner Teile ist urheberrechtlich geschützt. Jede Verwertung, die nicht ausdrücklich vom Urheberrechtsgesetz zugelassen ist, bedarf der vorherigen Zustimmung des Verlags. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Bearbeitungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung und Verarbeitung in elektronischen Systemen.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Der Verlag, die Autoren und die Herausgeber gehen davon aus, dass die Angaben und Informationen in diesem Werk zum Zeitpunkt der Veröffentlichung vollständig und korrekt sind. Weder der Verlag noch die Autoren oder die Herausgeber übernehmen, ausdrücklich oder implizit, Gewähr für den Inhalt des Werkes, etwaige Fehler oder Äußerungen. Der Verlag bleibt im Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutionsadressen neutral.

Gedruckt auf säurefreiem und chlorfrei gebleichtem Papier

Springer Spektrum ist Teil von Springer Nature

Die eingetragene Gesellschaft ist Springer Fachmedien Wiesbaden GmbH

Die Anschrift der Gesellschaft ist: Abraham-Lincoln-Str. 46, 65189 Wiesbaden, Germany

Danksagung

An dieser Stelle gilt mein Dank all denjenigen, die mir beim Erstellen dieser Masterarbeit geholfen und mich unterstützt haben.

Besonderer Dank gilt dabei folgenden Personen:

- Prof. Andreas Kirschning, dafür dass er die Erstprüfschaft für meine Masterarbeit übernommen hat.
- PD Dr. Carsten Zeilinger, für die Möglichkeit, meine Masterarbeit in seinem Arbeitskreis anzufertigen sowie unzählige Tipps, Anregungen und konstruktive Hilfestellung bei den praktischen Arbeiten für diese Masterarbeit.
- Dr. Ann-Kathrin Kniggendorf für die Raman-Messungen dieser Arbeit und die Hilfe bei der Auswertung der Spektren.
- Christin Ahlbrecht und Vjaceslavs Hrupins für die Hilfe bei den Microarray-Messungen und die Unterstützung beim Erstellen dieser Arbeit.

Zusätzlich danke ich allen Mitarbeitern des AK Zeilinger und des BMWZ, die mir während meiner Arbeiten nützliche Tipps und Feedback gegeben haben, sowie meiner Familie und Freunden.

Inhalt

Abkürzungsverzeichnis	IX
Abbildungsverzeichnis	XI
Tabellenverzeichnis	XIII
1. Hintergrund und Zielsetzung	1
2. Grundlagen	3
2.1 Connexine	3
2.2 Lebenszyklus von Connexinen	4
2.3 Connexin 26	5
2.4 Struktur humaner Cx26-Kanäle	6
2.5 Einfluss der Interaktion von K188 und E47 auf die Cx26-Kanalfunktionalität	6
2.6 KcsA.....	8
2.7 Struktur von KcsA	9
2.8 Selektivitätsfilter und die Rolle von Glu71 für die KcsA-Kanalaktivität.....	10
3. Stand der Technik	11
3.1 Expression rekombinanter Proteine.....	11
3.2 Gelelektrophorese, SDS-PAGE und Western-Blot.....	12
3.3 Solubilisierung von Membranproteinen	13
3.4 Immobilisierte Metallchelate-Affinitätschromatographie (IMAC).....	14
3.5 Gerichtete Mutagenese.....	15
3.6 Protein-Microarrays.....	16
3.7 Konfokale Raman-Mikroskopie	17
4. Praktische Arbeiten	19
4.1 Bioinformatische Vorarbeiten	19
4.2 Biochemische Methoden.....	25
4.3 Bioanalytische Methoden.....	31
5. Zusammenfassung und Ausblick	49
6. Methoden	53
6.1 Gerichtete Mutagenese.....	53

6.2	Herstellen farbstoffgefüllter Liposomen	54
6.3	Messung der Liposomen im Mikrotiterformat.....	54
6.4	Aufreinigung mittels IMAC und Abtrennen des SUMO-Tags	55
6.5	SDS-PAGE und Western-Blot	56
6.6	Microarray-Messungen	56
	Literaturverzeichnis	59
	Anhang	63