

# Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis .....	I
Abbildungsverzeichnis .....	V
Tabellenverzeichnis .....	VII
<b>1. Einleitung.....</b>	<b>1</b>
1.1. Autophagie.....	1
1.1.1. Die GABARAP-Familie.....	2
1.1.1.1. GABARAP.....	4
1.1.1.2. Atg8 .....	5
1.2. Apoptose .....	6
1.2.1. Die Bcl-2-Familie .....	6
1.2.1.1. Bcl-2.....	7
1.2.1.2. Nix .....	8
1.3. Schnittstellen zwischen Autophagie und Apoptose.....	9
<b>2. Zielsetzung dieser Arbeit .....</b>	<b>11</b>
<b>3. Wissenschaftliche Publikationen .....</b>	<b>13</b>
3.1. Referenz 1 .....	15
3.2. Referenz 2 .....	35
3.3. Referenz 3 .....	47
3.4. Referenz 4 .....	87
3.5. Referenz 5 .....	93
3.6. Referenz 6 .....	101
<b>4. Zusammenfassung .....</b>	<b>113</b>
<b>5. Summary .....</b>	<b>115</b>
Abkürzungsverzeichnis .....	117
Literaturverzeichnis .....	119

<b>Anhang .....</b>	<b>125</b>
<b>A1. Material .....</b>	<b>125</b>
A1.1. Verwendete Materialien und Chemikalien .....	125
A1.2. Verwendete Enzyme .....	125
A1.3. Verwendete Peptide.....	126
A1.4. Bakterienstämme und Plasmide.....	126
<b>A2. Methoden .....</b>	<b>129</b>
A2.1. Molekularbiologische Methoden .....	129
A2.1.1. Kultivierung und Lagerung von <i>E. coli</i> .....	129
A2.1.2. Transformation von <i>E. coli</i> .....	129
A2.1.3. Desoxyribonukleinsäure (DNA)-Isolierung.....	130
A2.1.4. Konzentrationsbestimmung der DNA.....	130
A2.1.5. Polymerasekettenreaktion (PCR).....	130
A2.1.5.1. Amplifizierung von DNA .....	131
A2.1.5.2. Kolonie-PCR mit <i>E. coli</i> .....	131
A2.1.5.3. Ortsspezifische Mutagenese.....	132
A2.1.6. DNA-Gelelektrophorese .....	132
A2.1.7. Enzymatischer Verdau von DNA mittels Restriktionsenzymen.	133
A2.1.8. Dephosphorylierung.....	133
A2.1.9. Extraktion der DNA-Fragmente aus Agarosegelen .....	133
A2.1.10. Ligation von DNA .....	134
A2.1.11. Sequenzierung der DNA .....	134
A2.2. Expression und Reinigung rekombinanter Proteine .....	135
A2.2.1. Anzucht der Bakterien .....	135
A2.2.2. Aufschluss der Bakterien .....	136
A2.2.3. GABARAP .....	137
A2.2.3.1. Affinitätschromatographie .....	137
A2.2.3.2. Limitierte Proteolyse des GST-GABARAP-	
Fusionsproteins.....	137
A2.2.3.3. Größenausschlusschromatographie.....	138
A2.2.4. Nix $\Delta$ C.....	138
A2.2.4.1. Affinitätschromatographie .....	138

A2.2.4.2.	Limitierte Proteolyse des GST-NixΔC-Fusionsproteins.....	139
A2.2.4.3.	Größenausschlusschromatographie.....	139
A2.2.5.	Bcl-2/x <sub>L</sub> .....	140
A2.2.5.1.	Solubilisierung und Rückfaltung des unlöslichen Bcl-2/x <sub>L</sub> .....	140
A2.2.5.2.	Affinitätschromatographie.....	141
A2.2.5.3.	Limitierte Proteolyse des His <sub>6</sub> -Bcl-2/x <sub>L</sub> -Fusionsproteins.....	141
A2.2.5.4.	Größenausschlusschromatographie.....	141
A2.2.6.	TEV-Protease.....	142
A2.2.6.1.	Affinitätschromatographie.....	142
A2.2.6.2.	Größenausschlusschromatographie.....	143
A2.2.7.	Atg8.....	143
A2.2.7.1.	Affinitätschromatographie.....	143
A2.2.7.2.	Limitierte Proteolyse des GST-Atg8-Fusionsproteins.....	144
A2.2.7.3.	Größenausschlusschromatographie.....	144
A2.3.	Proteinnachweis und Konzentrationsbestimmung.....	144
A2.3.1.	SDS-PAGE nach Laemmli.....	144
A2.3.2.	UV-Vis-Spektroskopie.....	145
A2.4.	Kernresonanzspektroskopie, Spektrenanalyse und Strukturberechnung ..	146
A2.4.1.	Probenvorbereitung.....	146
A2.4.2.	NMR-Experimente.....	147
A2.4.3.	Bcl-2/x <sub>L</sub> .....	150
A2.4.3.1.	Resonanzzuordnung von Bcl-2/x <sub>L</sub> .....	150
A2.4.3.2.	<i>Docking</i> des Bcl-2/x <sub>L</sub> -GABARAP-Komplexes.....	150
A2.4.4.	Atg8.....	151
A2.4.4.1.	Resonanzzuordnung des Atg8.....	151
A2.4.4.2.	NOE-Spektroskopie.....	151
A2.4.4.2.1.	Bestimmung des heteronuklearen <sup>15</sup> N{ <sup>1</sup> H}-NOE.....	151
A2.4.4.3.	Strukturbestimmende Parameter.....	152
A2.4.4.3.1.	Interproton-Abstandseinschränkungen ..	152
A2.4.4.3.2.	Torsionswinkeleinschränkungen.....	153

A2.4.4.3.3. Abstandseinschränkungen für Wasserstoffbrückenbindungen .....	153
A2.4.4.4. Strukturberechnung.....	153
A2.5. Oberflächenplasmonenresonanz-Spektroskopie.....	154
A2.5.1. Immobilisierung der Liganden.....	155
A2.5.2. Datenaufnahme und Prozessierung .....	155
A2.5.3. Bindungsstudie Nix $\Delta$ C an GABARAP .....	137
A2.5.4. Bindungsstudie GABARAP an Bcl-2/x <sub>L</sub> .....	137
<b>A3.    Abkürzungsverzeichnis.....</b>	<b>138</b>
<b>A4.    Literaturverzeichnis .....</b>	<b>141</b>
<b>Danksagung.....</b>	<b>144</b>
<b>Erklärung zur Promotion .....</b>	<b>146</b>