

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1	Einleitung	1
1.1	RNA-Prozessierung in der eukaryotischen Zelle ...	1
1.2	Struktur der mRNA	3
1.2.1	Polyadenylierung am 3'-Ende der mRNA	4
1.2.2	Die 5'-terminale Kappe	5
1.3	Dinucleosidoligophosphate	10
1.4	Acetabularia mediterranea	12
1.5	Problemstellung	14
2	Chemische Synthesen kappenstrukturierter Dinucleotide	17
2.1	Vorbemerkung	17
2.2	Imidazolidaktivierung der Nucleosid-5'-phosphate	18
2.3	Kondensation der Imidazole mit Nucleosiddiphosphat	22
2.4	Methylierung der Dinucleosidtriphosphate mit Dimethylsulfat	32
3	Katabole Eigenschaften der chemisch synthetisierten Kappenanaloga	39
3.1	Vorstellung der untersuchten Systeme	39
3.2	Enzymatische Abbauprobungen der Kappenanaloga in Rattenleberzellkernen	40
3.2.1	Präparation der Rattenleberzellkerne	40
3.2.2	Methodik der Abbauprobungen	44
3.2.3	Lokalisation der kappenspaltenden Enzymaktivitäten in der Rattenleberzelle	54
3.2.4	Abbauprobungen der methylierten und nicht methylierten Kappenanaloga in den Rattenleberzellkernen	56
3.2.5	Abbauprobungen 5',5'-verknüpfter Dinucleosidoligophosphate mit unterschiedlicher Phosphatkettenlänge	61
3.2.6	Einfluß von Metallionen auf den Kappenabbau	64

	Seite	
3.2.7	Koinkubationsversuche der Dinucleosidtriphosphate in Rattenleberzellkernen	65
3.2.7.1	Einfluß kappenuntypischer Dinucleosidtriphosphate auf den Kappenabbau	65
3.2.7.2	Koinkubation methylierter und nicht methylierter Kappenstrukturen	67
3.2.7.3	Koinkubation von Kappenstrukturen mit Dinucleo- tiden unterschiedlicher Phosphatkettenlänge	71
3.2.7.4	Abschätzung des K_M -Wertes für m^7Gp_3U	73
3.3	Enzymatische Abbauversuche der Kappenanaloga in <i>Acetabularia mediterranea</i>	75
3.3.1	Abauverhalten der methylierten und nicht methy- lierten Kappenanaloga in <i>Acetabularia</i> -Zellkernen	75
3.3.2	Abauverhalten der methylierten und nicht methy- lierten Kappenanaloga in Homogenaten aus <i>Aceta- bularia mediterranea</i>	79
3.3.2.1	Charakterisierung der Enzymaktivitäten	79
3.3.2.2	Lokalisation der kappenspaltenden Enzymaktivitä- ten in der <i>Acetabulariazelle</i>	87
3.3.2.3	Untersuchungen der Enzymaktivitäten in verschie- denen Entwicklungsstadien der <i>Acetabulariazelle</i> .	89
3.3.2.4	Abauverhalten der einzelnen Kappenanaloga in Homogenaten der <i>Acetabularia mediterranea</i>	96
3.4	Enzymatische Abbauversuche der Kappenanaloga in Mischsystemen aus Rattenleberzellkernen und <i>Acetabulariahomogenaten</i>	97
4	Diskussion	101
5	Zusammenfassung	107
6	Experimenteller Teil	109
6.1	Material und Methoden	109
6.2	Chemische Versuchsbeschreibungen	113

	Seite
6.2.1	Synthese der Nucleosid-5'-phosphorsäureimidazole 113
6.2.2	Synthese der 5',5"-Dinucleosidtriphosphate 116
6.2.3	Synthese von P ¹ ,P ³ -(7-Methyl-5'-guanosyl-5"-nucleosyl)triphosphaten 131
6.2.4	Synthese von Methyl-(7-methyl-5'-guanosyl)monophosphat (m ⁷ GMP-CH ₃) 135
6.3	Biochemische Untersuchungen 137
6.3.1	Präparation der Rattenleberzellkerne 137
6.3.2	Bestimmung des Proteingehaltes 139
6.3.3	Bestimmung des DNA-Gehaltes 142
6.3.4	Messung der spezifischen Radioaktivität 143
6.3.5	Präparation des Acetabulariahomogenates 144
6.3.6	Abbauversuche 145
7	Datenanhang 150
	Abkürzungsverzeichnis 159
	Literaturverzeichnis 160