

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	V
-----------------------------------	----------

ABBILDUNGSVERZEICHNIS	VII
------------------------------------	------------

TABELLENVERZEICHNIS	IX
----------------------------------	-----------

1 EINLEITUNG	1
---------------------------	----------

1.1 Fallbeschreibung	1
-----------------------------------	----------

1.1.1 Symptomatik	1
-------------------------	---

1.1.2 Stammbaum und Familie	1
-----------------------------------	---

1.2 Transkription und Regulation der Transkription	2
---	----------

1.3 NCOR2	4
------------------------	----------

1.3.1 Lokalisation	4
--------------------------	---

1.3.2 Aufbau	4
--------------------	---

1.3.3 Funktion	5
----------------------	---

2 ZIELSETZUNG	10
----------------------------	-----------

3 MATERIAL UND METHODEN	11
--------------------------------------	-----------

3.1 Sanger-Sequenzierung	11
---------------------------------------	-----------

3.2 Primerdesign	12
-------------------------------	-----------

3.3 RNA-Isolation	14
--------------------------------	-----------

3.3.1 RNA-Isolation mittels Trizol	14
--	----

3.3.2 RNA-Isolation Mini Prep	15
-------------------------------------	----

3.3.3 RNA-Isolation aus Blutproben	16
--	----

3.4 cDNA-Synthese	16
--------------------------------	-----------

3.5 Amplifikation mittels PCR	18
--	-----------

3.5.1 Platinum™ SuperFi II	18
----------------------------------	----

3.5.2 Phusion™ High-Fidelity DNA Polymerase	18
---	----

3.5.3 AccuPrime™ Taq DNA Polymerase	19
---	----

3.5.4 Touchdown-PCR	20
---------------------------	----

3.5.5 Aufreinigung von PCR-Produkten	20
--	----

3.6 Agarose-Gelelektrophorese.....	20
3.6.1 Gelextraktion.....	21
3.7 Verdau mit Restriktionsenzymen	22
3.8 Sticky-End-Ligation der Vektoren	22
3.9 Transformation in <i>E. coli</i>-Bakterien	23
3.10 DNA-Präparation.....	23
3.10.1 TELT-Methode.....	23
3.10.2 Plasmid-DNA-Aufreinigung.....	24
3.10.3 Mini-Prep pCMX-SMRT	24
3.11 Mutagenese	25
3.12 Plasmid-Klonierung <i>NCOR2</i>	26
3.13 Zellkultur.....	27
3.13.1 PolyJet™ In Vitro DNA Transfektionen.....	28
3.14 Reporter-genassays.....	28
3.15 qPCR	29
3.16 Statistische Auswertung	31
3.16.1 Erstellen von Abbildungen	32
 <u>4 ERGEBNISSE</u>	 <u>33</u>
 4.1 Sequenzierung der Indexpatientin und der Familie.....	 33
4.2 Klonierung von <i>NCOR2</i>.....	34
4.2.1 Amplifikation von <i>NCOR2</i> in voller Länge.....	34
4.2.2 Sequenzierung von pCMX_s <i>NCOR2</i>	35
4.2.3 Amplifikation von <i>NCOR2</i> in Fragmenten	36
4.2.4 Mutagenese von <i>NCOR2</i>	40
4.3 Einfluss der <i>NCOR2</i>-Mutation auf Effektorgene im Patientenblut	41
4.4 Einfluss der TR- und <i>NCOR2</i>-Bindung auf die repressive Aktivität des TRE 44	
4.5 Veränderung der Repression unter Zugabe von HDAC3.....	46
4.5.1 Vergleich der Repressionsstärke zwischen der <i>NCOR2</i> -Mutation S1251N und dem <i>NCOR2</i> -Wildtyp durch Cotransfektion mit HDAC3.....	46
4.5.2 Einfluss der HDAC3-Bindung auf die repressive Aktivität des <i>NCOR2</i> - Wildtyps	47

5	<u>DISKUSSION.....</u>	<u>49</u>
5.1	Fehleranalyse der Klonierung von <i>NCOR2</i>	49
5.2	Verwendung von pCMX_sNCOR2	49
5.3	Einfluss der NCOR2-Mutation S1251N.....	50
5.3.1	Einfluss der NCOR2-Mutation S1251N auf die Repression im CV1-Zellmodell.....	50
5.3.2	Einfluss der NCOR2-Variante S1251N auf die Indexpatientin.....	52
5.4	Ausblick	58
6	<u>ZUSAMMENFASSUNG.....</u>	<u>60</u>
7	<u>LITERATUR.....</u>	<u>61</u>
8	<u>ANHANG</u>	<u>68</u>
8.1	Deskriptive Statistiken der Reporterassays	68
8.2	Aminosäure-Sequenz von sNCOR2 in pCMX_sNCOR2:	71
8.3	UCSC Genome Browser	72
9	<u>DANKSAGUNG.....</u>	<u>73</u>
10	<u>ERKLÄRUNG ZUR DATENAUFBEWAHRUNG.....</u>	<u>74</u>
11	<u>ERKLÄRUNG ÜBER DEN EIGENANTEIL</u>	<u>75</u>
12	<u>LEBENS LAUF.....</u>	<u>76</u>