

7 Anhang

Anhang 1 Hergestellte Vektorkonstrukte

Die Konstrukte wurden mit Hilfe molekularbiologischer Methoden (Kap. 2.3.2) hergestellt. Alle PCR-Produkte wurden zu erst in den Plasmidvektor pPCR-BlueScript (Fa. Stratagene) kloniert. Die Subklonierung der DNA-Fragmente in die Expressionsvektoren erfolgte mit Hilfe spezieller Endonuklease-Erkennungsequenzen. In der chronologischen Reihenfolge fehlende Konstrukte fanden keine Verwendung in der vorliegenden Arbeit. Die markierten **Klone** wurden zur Subklonierung bzw. zur Transfektion humaner Zelllinien eingesetzt. GVO: gentechnisch veränderter Organismus

Konstrukt	pIS-1	pIS-2	pIS-5	pIS-6	pIS-7	pIS-8	pIS-9	pIS-10	pIS-11
Vektor	pPCR-BlueScript	pcDNA3.1	pIRES	pPCR-BlueScript	pEGFP N3	pPCR-BlueScript	pIRES	pPCR-BlueScript	pIRES
Fragment	PEP-ORF AS 442-731	EcoRI-Fragment aus pIS-1 (PEP-ORF AS 442-731)	EcoRI-Fragment aus pIS-1 (PEP-ORF AS 442-731)	PEP-ORF AS 1-731	EcoRI/XhoI-Fragment aus pIS-6 (PEP-ORF AS 1-731)	gesamtORF PEP/EGFP aus pIS-7	NotI-Fragment aus pIS-8 (gesamtORF PEP/EGFP)	gesamtORF PEP/EGFP aus pIS-9 mit PEP-S554A	NotI/blund end - Fragment aus pIS-10 (gesamt ORF PEP/EGFP PEP-S554A)
Klone	pIS-1-MP2	pIS-2-MP24	pIS-5-MP7 pIS-5-MP16	pIS-6-MP1 pIS-6-MP2	pIS-7-MP7 pIS-7-MP16	pIS-8-MP1 pIS-8-MP2	pIS-9-MP10	pIS-10-MP10	pIS-11-MP7
GVO	X110-pIS-1-MP2	X110-pIS-2-MP24	X110-pIS-5-MP7 X110-pIS-5-MP16	X110-pIS-6-MP1 X110-pIS-6-MP2	JM109-pIS-7-MP7 JM109-pIS-7-MP16	X110-pIS-8-MP1 X110-pIS-8-MP2	X110-pIS-9-MP10	X110-pIS-10-MP10	X110-pIS-11-MP7
Verwendung	PCR-Klonierung	Herstellung von PEP- anti sense Zelllinien	Herstellung von PEP- anti sense Zelllinien	PCR-Klonierung	Expression PEP/EGFP-Fusionsprotein	PCR-Klonierung	Expression PEP/EGFP-Fusionsprotein	PCR-Klonierung	Expression von inaktivem PEP/EGFP-Fusionsprotein