

7 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Todesursachen in der Bundesrepublik Deutschland im Jahr 2003	3
Abb. 2:	Mutmaßliche intrazelluläre Route von RNase A	14
Abb. 3:	Kristallstruktur des pRI•RNase A-Komplexes	15
Abb. 4:	Kristallstrukturen der BS-RNase	16
Abb. 5:	Kristallstrukturen verschiedener RNase A-Multimere	18
Abb. 6:	Kristallstrukturen und schematische Darstellung der Disulfidbrücken von RNase A und ONC	19
Abb. 7:	Aminosäuresequenz von RNase A nach Smyth et al. (1963).	27
Abb. 8:	Mechanismus der RNase A katalysierten Transphosphorylierung (A) und der Hydrolysereaktion (B)	28
Abb. 9:	Schematische Darstellung der Klonierungsstrategie der RNase A-Tandemenzym-Varianten	61
Abb. 10:	SDS-PAGE-Gel über den Verlauf der Expression, der Präparation der <i>inclusion bodies</i> und der Renaturierung am Beispiel des SGRSGRSG-RNase A-Tandemenzyms.	63
Abb. 11:	Kationenaustauschchromatogramme des SGRSGRSG-RNase A-Tandemenzyms	63
Abb. 12:	SDS-PAGE der mittels Kationenaustauschchromatographie gereinigten RNase A-Tandemenzym-Varianten.....	64
Abb. 13:	Nah- und Fern-UV-CD-Spektren von RNase A und ihren Tandemenzym-Varianten	65
Abb. 14:	Temperaturinduzierte Übergangskurven von RNase A und ihren Tandemenzym-Varianten	67
Abb. 15:	GdnHCl-induzierte Übergangskurven von RNase A und ihren Tandemenzym-Varianten	68
Abb. 16:	Zytotoxische Aktivität der RNase A-Tandemenzym-Varianten	70
Abb. 17:	SDS-PAGE-Gel des mittels Affinitäts- (A) und Anionenaustauschchromatographie (B) gereinigten RI.....	72
Abb. 18:	Anionenaustauschchromatogramm des RI.....	73
Abb. 19:	Aktivität verschiedener RNase A-Varianten in Abhängigkeit von der RI-Konzentration.....	74
Abb. 20:	Komplexbildung zwischen RI und dem SGRSGRSG-RNase A-Tandemenzym im Vergleich zum RI•RNase A-Komplex	75
Abb. 21:	RI•SGRSGRSG-RNase A-Tandemenzym-Komplexe.....	76
Abb. 22:	Nativ-PAGE- und SDS-PAGE-Gel zur Bestimmung des RI-Gehalts des RI•SGRSGRSG-RNase A-Tandemenzym-Komplexes im Vergleich zum RI•RNase A-Komplex	76
Abb. 23:	Analytische Ultrazentrifugation des SGRSGRSG-RNase A-Tandemenzyms in Anwesenheit des RI	78
Abb. 24:	SDS-PAGE-Gele des proteolytischen Abbaus des SGRSGRSG-RNase A-Tandemenzyms durch Trypsin in Ab- und Anwesenheit des RI.....	79
Abb. 25:	Nativ-PAGE-Gel des proteolytischen Abbaus des SGRSGRSG-RNase A-Tandemenzyms durch Trypsin in Gegenwart des RI.....	79
Abb. 26:	Vergleich der Aktivität verschiedener RNase A-Varianten in Abhängigkeit von der RI-Konzentration	81
Abb. 27:	SDS-PAGE-Gele des proteolytischen Abbaus der G88R- und G220R-SGRSGRSG-RNase A-Tandemenzym-Varianten durch Trypsin in Gegenwart des RI.....	82

Abb. 28:	Tryptischer Verdau des G88R-, G220R- und SGRSGRSG-RNase A-Tandemenzyms in Gegenwart des RI	82
Abb. 29:	Einfluss der Gly→Arg-Substitution auf die RI-Affinität	83
Abb. 30:	Proteinkristalle des SGRSGRSG-RNase A-Tandemenzyms	84
Abb. 31:	Kristallstruktur des SGRSGRSG-RNase A-Tandemenzyms	86
Abb. 32:	Alignment des SGRSGRSG-RNase A-Tandemenzyms mit dem RI•RNase A-Komplex	87
Abb. 33:	Modellierung des RI•SGRSGRSG-RNase A-Tandemenzym-Komplexes bei gestreckter Linkerkonformation	88
Abb. 34:	Schematische Darstellung der subzellulären Fraktionierung	90
Abb. 35:	Spezifische Aktivitäten der subzellulären Leitenzyme	91
Abb. 36:	Nachweis und Quantifizierung der internalisierten RNase A-Varianten in den subzellulären Fraktionen	93
Abb. 37:	SDS-PAGE-Gele des zeitlichen Verlaufs der Inkubation verschiedener RNase A-Varianten in den subzellulären Fraktionen Z und L	94
Abb. 38:	Abbau von BSA durch die subzellulären Fraktionen Z und L	95
Abb. 39.:	Zeitlicher Verlauf der GP ₃ G-RNase A-Tandemenzym-Konzentration nach Endozytose in K562-Zellen	96