

11.10.2007

**Ergänzungen und Korrekturen zur Dissertation mit dem Titel:
„Über Struktur-Funktions-Beziehungen zur Architektur von Ribozymen für eine Diels-Alder-Reaktion“,
vorgelegt von Dirk Bebenroth**

Hinweis: Die Ergänzungen und Korrekturen (**sind fett markiert**) beschränken sich auf inhaltliche Fehler und erheben keinen Anspruch auf Vollständigkeit.

S. 30, Tabelle 2: Kin. Puffer (forward reaction) **10x**

S. 32, Tabelle 4: Puffer (W'-Transkr. Puf.) **10x**

S. 41: B) Es konnte gezeigt werden, dass die DNA-Templatkonzentration ein Optimum bei ca. 1 μM aufweist.

S. 45: Jeweils eine Hälfte der Markierungsansätze wurde mit Biotinmaleimid umgesetzt **und nach definierter Zeit mit doppeltem Probevolumen Stop-Mix versetzt.**

S. 45: Die Konzentrationen der 49nt-Ribozymkonjugate betragen 5 nM bis 50 nM: **unkorrekt. Korrektur: Die Konzentrationen (abgeschätzt) betragen 175 nM +-25 nM.**

S. 45: Nach erfolgter Umsetzung wurden Edukte und Produkte über PAGE mit Gelkonzentrationen von **10 bis 15 %** gereinigt.

S. 45: Das Konzentrationsverhältnis von Anthracen- und Biotinmaleimid (BM) konnte wegen des hohen Überschusses des BM (Konzentration: **5 μM**) als unkritisch betrachtet werden.

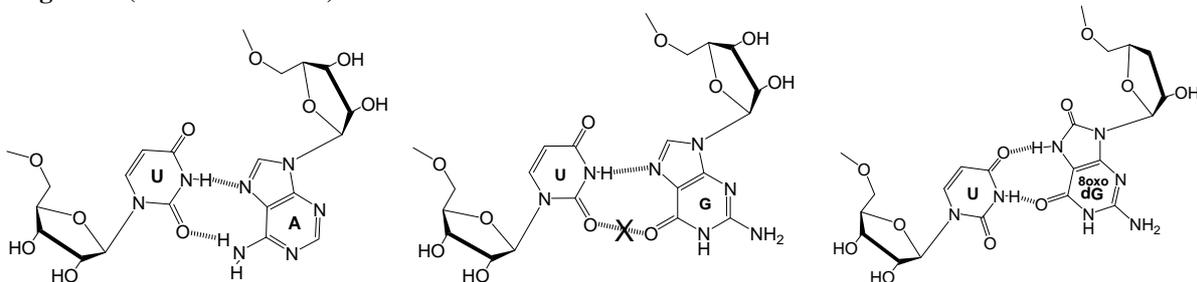
S. 47: Zur Identifizierung der Nukleotidpositionen wurden „T1-Leitern“ und alkalische Hydrolyseleitern als Referenz eingesetzt (s. Abschnitt 4.5.8., S. 47).

S. 60, Abschnitt 5.4.1.:

Unter Berücksichtigung dieser Messwerte konnten die Aktivitätsmesswerte nach Umrechnung wie für ortsspezifisch modifizierte Ribozyme angegeben werden (s. Abb. 30). **Hierfür wurden Produktbandendichten D_p mit Werten der Bibliotheken-Reaktionsumsätze Cr (library reaction conversion values) multipliziert, während Edukt- (=Substrat-) Bandendichten D_s mit dem Faktor $(1-Cr)$ multipliziert wurden. Reaktionsumsätze $r = D_p * Cr / (D_p * Cr + D_s * (1-Cr))$ von individuellen Punktmutanten wurden berechnet, dabei wurde berücksichtigt, dass Radioaktivitäten von Produkten und Edukten (=Substraten) auf gleiche Werte eingestellt wurden. Relative Aktivitätswerte wurden durch Vergleich mit der Wildtypsequenz berechnet.**

S. 64: Bemerkenswert ist die relativ hohe Aktivität der Einzelmutante A18-8-Oxo-dG, die signifikant höher als die völlig inaktive A18G-Mutante liegt (vgl. Abb. 21, S.49 und Abb. 36, S. 65). ... Eine Erklärung für diesen Befund steht bislang noch aus.

Ergänzung: Eine mögliche Erklärung besteht in einer alternativen Basenpaarung U8-A18-8-Oxo-dG, die zwei Wasserstoffbrücken ermöglicht bei einer Konformationsänderung um eine Entfernung von etwa 1,5 Angström (siehe Abb. unten):



Links: U8-A18 Wildtyp-Basenpaarung. Mitte: U-G-Kombination der inaktiven Mutante U8-G18, es ist keine alternative Paarung mit zwei Wasserstoffbrücken möglich. Rechts: Mögliche U - 8-Oxo-dG-Paarung mit zwei H-Brücken bei einer Konformationsänderung um ca. 1,5 Angström in der Basenpaarebene.

S. 102, Abb. 67: Die Bezeichnung der Base G5.1 (Helix I, violett) in der Abbildung wird korrigiert zu **G6.1** und die der Base G6.1 (Helix II, gelb) in der Abbildung wird korrigiert zu **G7.1**.