



FAKULTÄT FÜR MEDIZIN

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der
Technischen Universität München zur Erlangung des
akademischen Grades eines Dr. med. genehmigten Dissertation.

Oligomerization of β_2 -Adrenergic Receptors

Stephan Martin Skawran





FAKULTÄT FÜR MEDIZIN

INSTITUT FÜR PHARMAKOLOGIE UND TOXIKOLOGIE

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines Dr. med. genehmigten Dissertation.

Oligomerisierung von β_2 -Adrenorezeptoren

Stephan Martin Skawran

Vorsitzender:	Prof. Dr. Dr. Stefan Engelhardt
Prüfer der Dissertation:	1.
	2.
	3.

Die Dissertation wurde am TODO: Submission date bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am TODO: Submission date angenommen.



Ich erkläre an Eides statt, dass ich diese, bei der Fakultät für Medizin der TUM zur Promotionsprüfung vorgelegte Arbeit ohne sonstige Hilfe erstellt und bei der Abfassung nur die gemäß § 6 Abs. 6 und 7 Satz 2 angegebenen Hilfsmittel benutzt habe.

München, TODO: Submission date

Stephan Martin Skawran

Danksagung

Verzeichnis der Abkürzungen

CD Compact Disk.

zB zum Beispiel.

Inhaltsverzeichnis

Danksagung	iv
Verzeichnis der Abkürzungen	v
1 Introduction	1
1.1 Firstsection	1
1.1.1 Subsection	1
1.2 Section	1
2 Einleitung	2
3 Material & Methoden	3
3.1 Plasmide	3
3.2 Bakterien	4
3.3 Zelllinien	4
3.4 Chemicals & Reagents	4
3.5 Enzyme	5
3.6 Oligonukleotidprimer	5
3.7 Pharmaka	5
4 Ergebnisse	6
5 Diskussion	9
6 Zusammenfassung	10
Abbildungsverzeichnis	11
Tabellenverzeichnis	12
Literatur	13

1 Introduction

1.1 Firstsection

Citation test (Ahles et al. 2011). zum Beispiel (zB) Compact Disk (CD) Ich habe viele Ideen,

1.1.1 Subsection

See Abbildung 1.1.



Abbildung 1.1: An example for a figure.

1.2 Section

See Tabelle 1.1

Tabelle 1.1: An example for a simple table.

A	B	C	D
1	2	1	2
2	3	2	3

2 Einleitung

Ich habe überhaupt gar keine Ahnung, was ich hier tue

3 Material & Methoden

3.1 Plasmide

Die folgenden Plasmide stammen entweder aus dem Laborbestand oder wurden von NEB GmbH (Frankfurt a. M.) erworben. Sie wurden unverändert transfiziert.

A	B	C	D
1	2	1	2
2	3	2	3

In den angegebenen Vektor wurden folgende Inserts kloniert. Dazu wurde die Methode der homologen Rekombination als Teil der Gateway-Technologie (Invitrogen, Karlsruhe) verwendet.

Vector	Insert	Reference
pSNAPf		New England Biolabs GmbH (Frankfurt a. M.)
pCLIPf		New England Biolabs GmbH (Frankfurt a. M.)
pSNAPf	ADRB2-16Gly	New England Biolabs GmbH (Frankfurt a. M.)
pDONR221	ADRB2-16Arg	IPT (TU München)

In den angegebenen Vektor wurden folgende Inserts kloniert. Dazu wurde die Methode der homologen Rekombination als Teil der Gateway-Technologie (Invitrogen, Karlsruhe) verwendet.

Vektor	Insert	Polymorphismus / Mutation
pSNAPf	5mis-ADRB2	Arg16, Tyr284
pSNAPf	ADRB2	Arg16
pCLIPf	ADRB2	Arg16

3.2 Bakterien

Name	Referenz
E. coli (DH10B)	IPT (TU München)

3.3 Zelllinien

text

Name	Source (Organ)	Reference
HEK293	Human Embryonic Kidney	IPT (TU München)
HeLa	Human Cervix Epithelium	IPT (TU München)

Based on the specified cell lines, the following stably expressing cell lines were generated:

Name	Stably Overexpressed Protein	Polymorphic Variants
HEK293	β_2 -adrenoreceptor	Arg16, Gly16, Tyr284
HeLa	β_2 -adrenoreceptor	Arg16, Gly16, Tyr284

3.4 Chemicals & Reagents

If not specified otherwise, all chemicals and reagents were obtained from Applichem (Darmstadt), Carl Roth (Karlsruhe), Merck (Darmstadt) and Sigma-Aldrich (Taufkirchen).

Name	Company
BG-Alexa488	New England Biolabs GmbH (Frankfurt a. M.)
BG-d2	Cisbio Bioassys (Codolet, France)
BG-Terbium	Cisbio Bioassys (Codolet, France)

3.5 Enzyme

Name	Company
DNA Ligase T4	New England Biolabs (Frankfurt a. M.)
DNA Polymerase AccuPrime <i>Pfx</i>	Invitrogen (Karlsruhe)
DNA Polymerase Quikchange Lightning	Agilent Technologies (Waldbronn)
Restriction Endonucleases	New England Biolabs (Frankfurt a. M.)
Restriction Enzyme DpnI	Agilent Technologies (Waldbronn)

3.6 Oligonukleotidprimer

Name	Sequenz	Produkt
ADRB2-SbfI-for		
ADRB2-XhoI-rev	AAA AAA CCT GCA GGC GGG CAA CCC GGG AAC GG	<i>SbfI</i> -ADRB2
ADRB2-c850t_t851a_for	CAT GGG CAC TTT CAC CTA CTG CTG GCT GCC CTT C	ADRB2(Ty)
ADRB2-c850t_t851a_rev	GAA GGG CAG CCA GCA GTA GGT GAA AGT GCC CAT G	

3.7 Pharmaka

Name	Type	Company
Alprenolol	β_2 Adrenorezeptoragonist	Sigma-Aldrich GmbH
ICI-118,551	β_2 inverser Adrenorezeptoragonist	Sigma-Aldrich GmbH
Isoproterenol	β_2 Adrenorezeptoragonist	Sigma-Aldrich GmbH
Epinephrine	natürlicher Adrenorezeptoragonist	Sigma-Aldrich GmbH

4 Ergebnisse

Dies hier ist ein Blindtext zum Testen von Textausgaben. Wer diesen Text liest, ist selbst schuld. Der Text gibt lediglich den Grauwert der Schrift an. Ist das wirklich so? Ist es gleichgültig, ob ich schreibe: „Dies ist ein Blindtext“ oder „Huardest gefburn“? Kjift – mitnichten! Ein Blindtext bietet mir wichtige Informationen. An ihm messe ich die Lesbarkeit einer Schrift, ihre Anmutung, wie harmonisch die Figuren zueinander stehen und prüfe, wie breit oder schmal sie läuft. Ein Blindtext sollte möglichst viele verschiedene Buchstaben enthalten und in der Originalsprache gesetzt sein. Er muss keinen Sinn ergeben, sollte aber lesbar sein. Fremdsprachige Texte wie „Lorem ipsum“ dienen nicht dem eigentlichen Zweck, da sie eine falsche Anmutung vermitteln.

Das hier ist der zweite Absatz. Dies hier ist ein Blindtext zum Testen von Textausgaben. Wer diesen Text liest, ist selbst schuld. Der Text gibt lediglich den Grauwert der Schrift an. Ist das wirklich so? Ist es gleichgültig, ob ich schreibe: „Dies ist ein Blindtext“ oder „Huardest gefburn“? Kjift – mitnichten! Ein Blindtext bietet mir wichtige Informationen. An ihm messe ich die Lesbarkeit einer Schrift, ihre Anmutung, wie harmonisch die Figuren zueinander stehen und prüfe, wie breit oder schmal sie läuft. Ein Blindtext sollte möglichst viele verschiedene Buchstaben enthalten und in der Originalsprache gesetzt sein. Er muss keinen Sinn ergeben, sollte aber lesbar sein. Fremdsprachige Texte wie „Lorem ipsum“ dienen nicht dem eigentlichen Zweck, da sie eine falsche Anmutung vermitteln.

Und nun folgt – ob man es glaubt oder nicht – der dritte Absatz. Dies hier ist ein Blindtext zum Testen von Textausgaben. Wer diesen Text liest, ist selbst schuld. Der Text gibt lediglich den Grauwert der Schrift an. Ist das wirklich so? Ist es gleichgültig, ob ich schreibe: „Dies ist ein Blindtext“ oder „Huardest gefburn“? Kjift – mitnichten! Ein Blindtext bietet mir wichtige Informationen. An ihm messe ich die Lesbarkeit einer Schrift, ihre Anmutung, wie harmonisch die Figuren zueinander stehen und prüfe, wie breit oder schmal sie läuft. Ein Blindtext sollte möglichst viele verschiedene Buchstaben enthalten und in der Originalsprache gesetzt sein. Er muss keinen Sinn ergeben, sollte aber lesbar sein. Fremdsprachige Texte wie „Lorem ipsum“ dienen nicht dem eigentlichen Zweck, da sie eine falsche Anmutung vermitteln.

Nach diesem vierten Absatz beginnen wir eine neue Zählung. Dies hier ist ein Blindtext zum Testen von Textausgaben. Wer diesen Text liest, ist selbst schuld. Der Text gibt lediglich den Grauwert der Schrift an. Ist das wirklich so? Ist es gleichgültig,

ob ich schreibe: „Dies ist ein Blindtext“ oder „Huardest gefburn“? Kjift – mitnichten! Ein Blindtext bietet mir wichtige Informationen. An ihm messe ich die Lesbarkeit einer Schrift, ihre Anmutung, wie harmonisch die Figuren zueinander stehen und prüfe, wie breit oder schmal sie läuft. Ein Blindtext sollte möglichst viele verschiedene Buchstaben enthalten und in der Originalsprache gesetzt sein. Er muss keinen Sinn ergeben, sollte aber lesbar sein. Fremdsprachige Texte wie „Lorem ipsum“ dienen nicht dem eigentlichen Zweck, da sie eine falsche Anmutung vermitteln.

Dies hier ist ein Blindtext zum Testen von Textausgaben. Wer diesen Text liest, ist selbst schuld. Der Text gibt lediglich den Grauwert der Schrift an. Ist das wirklich so? Ist es gleichgültig, ob ich schreibe: „Dies ist ein Blindtext“ oder „Huardest gefburn“? Kjift – mitnichten! Ein Blindtext bietet mir wichtige Informationen. An ihm messe ich die Lesbarkeit einer Schrift, ihre Anmutung, wie harmonisch die Figuren zueinander stehen und prüfe, wie breit oder schmal sie läuft. Ein Blindtext sollte möglichst viele verschiedene Buchstaben enthalten und in der Originalsprache gesetzt sein. Er muss keinen Sinn ergeben, sollte aber lesbar sein. Fremdsprachige Texte wie „Lorem ipsum“ dienen nicht dem eigentlichen Zweck, da sie eine falsche Anmutung vermitteln.

Das hier ist der zweite Absatz. Dies hier ist ein Blindtext zum Testen von Textausgaben. Wer diesen Text liest, ist selbst schuld. Der Text gibt lediglich den Grauwert der Schrift an. Ist das wirklich so? Ist es gleichgültig, ob ich schreibe: „Dies ist ein Blindtext“ oder „Huardest gefburn“? Kjift – mitnichten! Ein Blindtext bietet mir wichtige Informationen. An ihm messe ich die Lesbarkeit einer Schrift, ihre Anmutung, wie harmonisch die Figuren zueinander stehen und prüfe, wie breit oder schmal sie läuft. Ein Blindtext sollte möglichst viele verschiedene Buchstaben enthalten und in der Originalsprache gesetzt sein. Er muss keinen Sinn ergeben, sollte aber lesbar sein. Fremdsprachige Texte wie „Lorem ipsum“ dienen nicht dem eigentlichen Zweck, da sie eine falsche Anmutung vermitteln.

Und nun folgt – ob man es glaubt oder nicht – der dritte Absatz. Dies hier ist ein Blindtext zum Testen von Textausgaben. Wer diesen Text liest, ist selbst schuld. Der Text gibt lediglich den Grauwert der Schrift an. Ist das wirklich so? Ist es gleichgültig, ob ich schreibe: „Dies ist ein Blindtext“ oder „Huardest gefburn“? Kjift – mitnichten! Ein Blindtext bietet mir wichtige Informationen. An ihm messe ich die Lesbarkeit einer Schrift, ihre Anmutung, wie harmonisch die Figuren zueinander stehen und prüfe, wie breit oder schmal sie läuft. Ein Blindtext sollte möglichst viele verschiedene Buchstaben enthalten und in der Originalsprache gesetzt sein. Er muss keinen Sinn ergeben, sollte aber lesbar sein. Fremdsprachige Texte wie „Lorem ipsum“ dienen nicht dem eigentlichen Zweck, da sie eine falsche Anmutung vermitteln.

Nach diesem vierten Absatz beginnen wir eine neue Zählung. Dies hier ist ein Blindtext zum Testen von Textausgaben. Wer diesen Text liest, ist selbst schuld. Der Text gibt lediglich den Grauwert der Schrift an. Ist das wirklich so? Ist es gleichgültig,

ob ich schreibe: „Dies ist ein Blindtext“ oder „Huardest gefburn“? Kjift – mitnichten! Ein Blindtext bietet mir wichtige Informationen. An ihm messe ich die Lesbarkeit einer Schrift, ihre Anmutung, wie harmonisch die Figuren zueinander stehen und prüfe, wie breit oder schmal sie läuft. Ein Blindtext sollte möglichst viele verschiedene Buchstaben enthalten und in der Originalsprache gesetzt sein. Er muss keinen Sinn ergeben, sollte aber lesbar sein. Fremdsprachige Texte wie „Lorem ipsum“ dienen nicht dem eigentlichen Zweck, da sie eine falsche Anmutung vermitteln.

Dies hier ist ein Blindtext zum Testen von Textausgaben. Wer diesen Text liest, ist selbst schuld. Der Text gibt lediglich den Grauwert der Schrift an. Ist das wirklich so? Ist es gleichgültig, ob ich schreibe: „Dies ist ein Blindtext“ oder „Huardest gefburn“? Kjift – mitnichten! Ein Blindtext bietet mir wichtige Informationen. An ihm messe ich die Lesbarkeit einer Schrift, ihre Anmutung, wie harmonisch die Figuren zueinander stehen und prüfe, wie breit oder schmal sie läuft. Ein Blindtext sollte möglichst viele verschiedene Buchstaben enthalten und in der Originalsprache gesetzt sein. Er muss keinen Sinn ergeben, sollte aber lesbar sein. Fremdsprachige Texte wie „Lorem ipsum“ dienen nicht dem eigentlichen Zweck, da sie eine falsche Anmutung vermitteln.

Das hier ist der zweite Absatz. Dies hier ist ein Blindtext zum Testen von Textausgaben. Wer diesen Text liest, ist selbst schuld. Der Text gibt lediglich den Grauwert der Schrift an. Ist das wirklich so? Ist es gleichgültig, ob ich schreibe: „Dies ist ein Blindtext“ oder „Huardest gefburn“? Kjift – mitnichten! Ein Blindtext bietet mir wichtige Informationen. An ihm messe ich die Lesbarkeit einer Schrift, ihre Anmutung, wie harmonisch die Figuren zueinander stehen und prüfe, wie breit oder schmal sie läuft. Ein Blindtext sollte möglichst viele verschiedene Buchstaben enthalten und in der Originalsprache gesetzt sein. Er muss keinen Sinn ergeben, sollte aber lesbar sein. Fremdsprachige Texte wie „Lorem ipsum“ dienen nicht dem eigentlichen Zweck, da sie eine falsche Anmutung vermitteln.

5 Diskussion

6 Zusammenfassung

Abbildungsverzeichnis

1.1	Example figure	1
-----	--------------------------	---

Tabellenverzeichnis

1.1	Example table	1
-----	-------------------------	---

Literatur

Ahles, A., F. Rochais, T. Frambach, M. Bünemann & S. Engelhardt (2011). „A polymorphism-specific "memory" mechanism in the $\beta(2)$ -adrenergic receptor.“ In: *Sci Signal* 4.185, ra53.