

7. Anhang

7.1 Abkürzungen

Abb.	Abbildung
pab/mAB	polyclonal/monoclonal antibody
Ap	Ampicillin
AP	Alkalische Phosphatase
APS	Ammoniumpersulfat
ATP	Adenosintriphosphat
bp	Basenpaare
BCYE	buffered charcoal yeast extract
BSA	bovine serum albumin
°C	Grad Celsius
Cm	Chloramphenicol
Cyc.	Cycloheximid
Cyt D	Cytochalin D
DMP	Dimethylpimelimidat
DMSO	Dimethylsulfonamid
DNA	desoxyribunucleic acid
DTT	Dithiotreitol
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
<i>et al.</i>	et alli (= und andere)
EtBr	Ethidiumbromid
EtOH	Ethanol
FACS	Fluorescent Activated Cell Sorting
g	Gramm
Gm	Gentamicin
h	hour(s) = Stunde
Kan	Kanamycin
kB	Kilobasen
kDa	Kilodalton
LB	Luria-Bertani
<i>L.p.</i>	<i>Legionella pneumophila</i>
Lsg.	Lösung
IPTG	Isopropyl-β-D-Galactopyranosid
Methyl.	Methylamine
min.	Minuten
Mip	macrophage infectivity potentiator
MOI	multiplicity of infection
NTP	Nukleosid Triphosphate
N, N-DMF	N, N-Dimethylformamid
OD	optische Dichte
PCR	Polymerase Chain Reaktion
PNK	Polynukleotide Kinase
PYG	pepton-yeast extract-glucose broth
PYNTH	pepton-yeast extract-glucose acid-folic acid-hemin broth
RNase	Ribonuklease
rpm	rounds per minute (Umdrehungen pro Minute)
RT	Raumtemperatur

SDS	sodium dodecyl sulfate (Natriumdodecylsulfat)
SDS-PAGE	SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese
sec	Sekunden
TCA	Trichloroacetic acid
TEMED	N,N,N', N'-Tetramethylendiamin
Tris	Tris(hydroxymethyl)aminomethan
Triton-X-100	
ÜN/ÜNK	Übernacht/ Übernachtkultur
WT	Wildtyp
X-Gal	5-Br-4-Cl-3-indolyl- β -D-Galactose

7.2 Sequenz des *mip*-Gens (Engleberg *et al.*, 1989)

GAATTCCTTATGAAATTCCTTCCTTCCAGCAAGTTTTCAGTAACTAACCAGCAATT	30		
CACGCACTGTCAAGTAATGTTTTTCGCAATAATTCCAAATCAGCTGCTTCGCAAAAGC	90		120
GGTAAGGCGCGGCAATTGGTAACGGTGTGGATTATTAATGAAGTCTTCTCAGCTGTAAATA	150		180
AACCAAGCCCAATGAGGTAATGAGACTTCTCAATCCAGTAAGTAAAGCTTTCCATCCAAAAG	210		240
CAAAAAAAAAAGCCATTCCATTACTGTGTGTGGTAATAATTGTTTTTGTAATAAAAATAAAAT	270		300
CGCTCGCTTGTGAAAAAGCAATTCTTTCTTGTCCCGCCCAAAATTGAGTAAGATTGAATGAA	360		390
GGATTTGATGGATTTCTTGGGATTCATCGAAGGCAAGATGAGTCTGACGGGGCTTTGTTTTT	420		450
CAAAACCAATTAATAATGCGGTTAATCAATCGCTTCCCGCTTGCAGTAAGAGCGGCGGAGAC	480		510
CATAAAGCTCTACTTGAAGCTGTCTGTGAGTTTTTATCAAAAGCAAGATTTTTTTTTGTTCCAGTAATT	540		570
GCAAAAAAAAAGCCATTGGCCAGCTAAACAATAAGCCCTACTCTGTCTGTGAAGCTTGATGCCCAATTC	600		630
CTATTAGAATAAATAATCAAAAAAGCAAGTAAATGTGTATCGCCGTAAAATATCTCTTGTGCATATAT	660		690
TAGCCGCAAGCTGTACAGAGCATATTAACCTTTTTCCTGCATTAATATAATTAATTAATTAACCTTT	720		750
TAAGCTGTAATTTATGTAATAAATTAAAGCTAGCAATCTGTGGGCGCATTTTATTTTATTAATT	780		810
TTGCTCAATTTATTTGGCAAGTAATGAGAACTTAAGTGTAAAGATTAAGAGCAGATTTGTTAT	840		870
GAAGATGAAATTTGGTGCATCTGCGCGCTGTATTATGTCGGGCTTCGCAGATGTAAGAGGAAATGCTGTC	900		930
K H K L V T A A V H G L A H S T A H A A	960		990
AACCGATGCCCATTTAAGCTACAGCAAGGAATAAGTTTTCATTAACCATTTGATGCTGCGGAA	900		930
T D A T S L A T D K D K L S V S F G A D	960		990
TTGGCGAAGAAATTTTAAAATCAAGCCATAGCAATTTAAATGCGAAGCCAAATCCCTAAGC	990		1020
L G K N F X N Q Q I D V N P E A N A K G	1050		1080
CATCGAACCGCATATGAGTGGCGCCTCAATTTGACCAACCGCAAGCAATGAAAGACCT	1050		1080
H Q D A H S G A Q L A L T E Q Q H K D V	1110		1140
TTTAAACAATTTTCAGAAAGATTGTCAGAAAGGCTAGTGGTAATTGAATAAGAAAGC	1110		1140
L N K F Q K D L N H A R R T A E F N K K A	1170		1200
GGATGAAAATAAGTAAAGGAAAGGGAAGCTTTTAACTGAAACAAAGCAAAACAGCCACGCT	1170		1200
D E N K V K G E A F L T E N R N E P G V	1230		1260
TGTTGATTTGGCAAGTGGTTTGCATACAAAGTAAGTAATGCTGCAAAATGGTTGTAAGCC	1230		1260
V V L P S C L Q Y K V I N A G N G V K P	1290		1320
TGTTAATGCGATACAGTCACTGTGCAATPACACTGCTGCTGCAATGAAATGCTGCTTTT	1290		1320
Q K S D T V T V E T I G R L I D G T V F	1350		1380
TGCAAGTACCCGAAAMAACTGTAAACCCAGCAAGCTTTTCAAGTTTCAAGTAAATCCAGG	1350		1380
D S T E R K T G K P A T F Q V S Q V I P G	1410		1440
ATGCAAGAAAGCTTTCAGATTTGATGCCAGCCTGCAATCTGGAAATTTAGTTCCTTC	1410		1440
W T E A L Q L H P A G S T W E I Y V P S	1470		1500
AGGCTCTGATAGAGCCCAAGCTTAAGCCTTTGGCGCAATTTGGCCCAAAATGAAAGCTTTAAT	1470		1500
G L A T G P R S V Q G P I G P N E T L I	1530		1560
ATTTAATATTCACTTAATTGAGTAAGAAAAAAGCAGTAAATGGTTTTGGAAATTAAGTGA	1530		1560
P H I H L I S V K K S S U	1590		1620
TACAAAACCATCCCTCTGCAATTTAGCAGAGGGATGCTGCTCTTTCTTAAGGCCCAATCAATCTTC	1590		1620
ATAAAAGGTGTCAAGCTTAACCAAGCACTGAGCAAAATTAATAATATGTCCTTTTTTAAGAGCTAT	1650		1680
CAGCTGATAGTGAGTGAAGCAAGAAAGATGAAAGCCGCTGTATATCTGTTTCAAYTTTAAAGT	1710		1740
TTTTGTTCGGGTTTTAAGTAAATGACAAATTAATCAAGTACCTTGCAGCATGATGATTAAT	1770		1800
AATGCAATGTCAGTGTGCTCCAGCAAGGCTTTAATGATTAAGTCACTGAC	1830		1860

7.3 Publikationen

1. Köhler, R., Bubert, A., Goebel, W., Steinert, M., Hacker, J. & Bubert, B. (2000): Expression and use of the green fluorescent protein as a reporter system in *Legionella pneumophila*. Mol Gen Genet 262: 1060-1069.
2. Hägele, S., Köhler, R., Merkert, H., Schleicher, M., Hacker, J. & Steinert, M. (2000): *Dictyostelium discoideum*: a new host model system for intracellular pathogens of the genus *Legionella*. Cellular Microbiology 2: 1-9.
3. Köhler, R., Fanghänel, J., König, B., Lüneberg, E., Fischer, G., Frosch M., Steinert, M. & J. Hacker (2000): Dimerization of the Mip-protein is essential for the virulence of *Legionella*. (in preparation)

7.4 Tagungsbeiträge

Poster-Präsentationen:

1. Steinert, M., C. Dietrich, D. Grimm, R. Köhler, B. Fields, F. Quinn & J. Hacker (1999): Survival of *Mycobacterium avium* and *Legionella pneumophila* within *Acanthamoebae*: evaluation of *in situ* and *in vivo* monitoring techniques. European Conference Perspectives on Infectious Diseases Research, Dresden, Germany.
2. Steinert, M., C. Dietrich, D. Grimm, R. Köhler & J. Hacker (1999): Ecology of *Legionella pneumophila* and other environmental pathogens of protozoa. 14th Meeting of European Working Groups on *Legionella* Infections, Dresden, Germany.
3. Steinert, M., S. Hägele, C. Skriwan, D. Grimm, R. Köhler, W. Ludwig, K.-H. Schleifer, M.Schleicher & J. Hacker (2000): Interaction of *Legionella pneumophila* with *Dictyostelium discoideum* and other host organisms. 5th International Conference on *Legionella*, Ulm, Germany.
4. R. Köhler, Fanghänel, J., König, B., Lüneberg, E., Fischer, G., Frosch, M., Steinert, M. & J. Hacker (2000): Dimerization of the Mip protein is essentiell for the virulence of *Legionella*. 5th International Conference on *Legionella*, Ulm, Germany.

Vorträge:

5. Köhler, R., Bubert, B. & J. Hacker (1997): Influence of different PPIases on the intracellular survival of *Legionella* and *in vivo* monitoring of *Legionella* infection with *gfp* as a reporter system. Workshop on „The Pathogenicity of legionellae“ Wittenberg, Germany.
6. Köhler, R., Bubert, A., Goebel, W., Hacker, J. & B. Bubert (1997): Use of the Green fluorescent protein (GFP) as a novel marker for *in vivo* monitoring of *Legionella* infection in phagocytic cells. 50th annual meeting of the German association of Hygiene and Microbiology (DGHM), Berlin, Germany.
7. Köhler, R., Bubert, B. & J. Hacker GFP, an *in vivo* marker studying the interaction of *Legionella* and its host cells. (1998): Arbeitstreffen „From biochemics to medicin“ Kloster Banz, Germany
8. Köhler, R., Bubert, B. & J. Hacker (1999): Functional analysis of the *Legionella* Mip-protein and the use of the GFP-reporter system. Workshop on „Signal cascades and microbial Pathogenicity“ Wittenberg, Germany.
9. Köhler, R., Grimm, D., Ludwig, W., Schleifer, K.H., J. Hacker & M. Steinert (2000): Fluorescence based characterization of the interaction of *Legionella pneumophila* with different protozoan hosts. Microbiology 2000, meeting of the German microbiological associations VAAM and DGHM and the Austrian microbial association ÖGHMP, Munich, Germany.
10. Steinert, M., Hägele, S., Skriwan, C., Grimm, D., Köhler, R., Ludwig, W., Schleifer, K.H., Schleicher, M. & J. Hacker (2000): Interaction of legionella pneumophila with Dictyostelium discoideum and other host organisms. 5th International Conference on *Legionella*, Ulm, Germany.

7.5 Lebenslauf

Name: Rolf Köhler
Geburtsdatum: 23.12.1966
Geburtsort: Ziegenhain
Familienstand: ledig

Ausbildung:

1973-1977 Grundschule, Borken
1977-1986 König-Heinrich Schule, Fritzlar; Abitur im Mai 1986

Zivildienst:

1987-1988 SFD-Kassel, (Sozialer Friedensdienst, Kassel)

Arbeitsverhältnis:

1988-1990 Freier Mitarbeiter, SFD-Kassel

Studium

1990-1996 Diplomstudiumgang Biologie, Universität Gesamthochschule Kassel; Hauptfach: Mikrobiologie, Nebenfächer: Biochemie, Neurophysiologie, Psychologie; Diplomarbeit: "Klonierung und Sequenzierung einer kryptischen Haloalkanoat Dehalogenase aus *Agrobacterium tumefaciens* RS5" Abteilung für Mikrobiologie, FB 19, Universität Gesamthochschule Kassel, im Labor von Prof. Dr. F.R.J. Schmidt
1997-2000 Dissertation am Institut für Molekulare Infektionsbiologie der Ludwig-Maximilians-Universität Würzburg mit dem Thema: "Entwicklung eines GFP-Reportersystems und molekularbiologische Funktionsanalyse des *Legionella* Mip-Proteins"