

3 Materialien

3.1 Geräte

2D-Gelelektrophorese

IPG-Phor	Amersham Pharmacia, Freiburg
Ettan DALT II System	Amersham Pharmacia, Freiburg
Gelgießstand Hoefer DALT vertical system	Amersham Pharmacia, Freiburg
Rehydratisierungskassette für Gelstreifen	Esplora, Darmstadt
Begasungsbrutschrank	Binder, Tuttlingen
Blaulicht-Transilluminator	MoBiTec, Göttingen
Diffusionsentfärbeapparatur Vibromax 100	Heidolph Instruments, Schwabach
Elektroporationsgerät	Bio-Rad, München
Elektroporationsküvetten, 0,2 cm	Equibio, Middlesex/U.K.
Exponierboxen mit Verstärkerfolie	DuPond, Neu-Isenburg
Färbeschalen, lichtdicht	Esplora, Darmstadt
Fluoreszenzmikroskop Axiovert 200M	Zeiss, Göttingen
Gelapparaturen für DNA-Trennung	
Agarosegele	Peqlab, Erlangen
Polyacrylamidgele	Eigenbau der TU, Darmstadt
Geldokumentationssystem	
UV-Transilluminator UVT-20M	Herolab, Wiesloch
CCD-Kamera IDA	Raytest, Straubenhardt
Gelfiltrationssäulen ProbeQuant G-50	Amersham Pharmacia, Freiburg
Gewebekulturflaschen, 75 cm ²	Nunc, Wiesbaden
Hybridisierschrank	Bachofer, Reutlingen
Kapillarelektrophoresegerät ABI Prism 310	Applied Biosystems, Weiterstadt
Laserscanner FLA-5000	Fujifilm, Düsseldorf
Lichtmikroskop Wilovert S	Hund, Wetzlar
Massenspektrometer Voyager DE Pro	Applied Biosystems, Weiterstadt
Mikrotiterplatten mit 24 Kavitäten	Nunc, Wiesbaden
Nylonmembran Hybond-XL	Amersham Pharmacia, Freiburg
PCR-Gerät PTC-200	MJ Research, Massachusetts/USA
pH-Meßgerät inoLab pH Level 1	WTW, Weilheim

Röntgenfilme	Kodak, Stuttgart
Spannungsgeräte	
Consort E831	Consort, Turnhout/Belgien
Elvi Typ 18	Elvi, Mailand/Italien
Spektralphotometer	
Fluostar Optima	BMG, Offenburg
GeneQuant pro	Amersham Pharmacia, Freiburg
Ultrospec 2000	Pharmacia Biotech, Freiburg
Sterilbank, LaminAir HLB 2640 BS	Heraeus, Hanau
Zentrifugen/Rotoren	
Mikroliter Tischzentrifuge	Fisher Scientific, Schwerte
Tischzentrifugen 5417R und 5810	Eppendorf, Hamburg
Ultrazentrifuge LE 80 K (SW-28, Ti-70)	Beckman, Dreieich
Kühlzentrifuge J2-21 (JA-14)	Beckman, Dreieich
ZipTip-Pipettenspitzen	Millipore, Eschborn

3.2 Chemikalien

Allgemeine Laborchemikalien und Lösungsmittel in höchstmöglicher Qualität wurden von folgenden Firmen bezogen: AppliChem, Darmstadt; Fluka, Neu-Ulm; Merck, Darmstadt; Roth, Karlsruhe; Sigma, Deisenhofen.

α - ³² P-dCTP (3000 Ci/mmol, 10 μ Ci/ μ l)	NEN, Köln
α -Cyano-4-hydroxymizsäure	Sigma, Deisenhofen
Acetonitril	Roth, Karlsruhe
Agar	Sigma, Deisenhofen
Agarose	BMA, Rockland/USA
	Roth, Karlsruhe
Ammoniumperoxodisulfat	Meck, Darmstadt
Ampicillin	Sigma, Deisenhofen
Benzidin	Sigma, Deisenhofen
Bradford-Reagenz Roti-Quant	Roth, Karlsruhe
Bromphenolblau	Bio-Rad, München

CHAPS	AppliChem, Darmstadt
Desoxynukleotide (dATP, dTTP, dGTP, dCTP)	Life Technologies, Karlsruhe
Dextran, aus <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Sigma, Deisenhofen
Digitonin	Fluka, Buchs/Schweiz
Dimethylformamid	Merck, Darmstadt
Dithiothreitol	Merck, Darmstadt
Ethidiumbromid (10 mg/ml)	Life Technologies, Karlsruhe
Fluoresceindiacetat	Fluka, Buchs/Schweiz
Fötale Rinderserum, hitzeinaktiviert	Life Technologies, Karlsruhe
Gelatine, zellkulturgetestet	Sigma, Deisenhofen
Glycylglycin	Sigma, Deisenhofen
Harnstoff	Merck, Darmstadt
HEPES (1 M)	Life Technologies, Karlsruhe
HPLC-Wasser, LiChrosolv	Merck, Darmstadt
Hybridisierungslösung Express-Hyb	Clontech, Heidelberg
Iodacetamid	Sigma, Deisenhofen
IPG-Gelstreifen, 24 cm, pH 4 - 7	Amersham Pharmacia, Freiburg
IPTG	AppliChem, Darmstadt
L- γ -Glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilid	Sigma, Deisenhofen
L-Glutaminlösung (200 mM)	Life Technologies, Karlsruhe
Mischbettionenaustauscher, Serdolit MB	Serva, Heidelberg
Nystatin (10000 U/ml)	Life Technologies, Karlsruhe
Penicillin/Streptomycin (10000 U/ml, 10 mg/ml)	Life Technologies, Karlsruhe
Percoll	Sigma, Deisenhofen
PIPES	AppliChem, Darmstadt
PMSF	Sigma, Deisenhofen
Propidiumiodid	Sigma, Deisenhofen
Proteinaseinhibitoren complete mini	Roche, Mannheim
Rotiphorese Gel 30	Roth, Karlsruhe
Rotiphorese Gel 40	Roth, Karlsruhe
Sypro-Ruby	Bio-Rad, München
TEMED	Merck, Darmstadt
TES	Sigma, Deisenhofen
Thioharnstoff	Merck, Darmstadt

TLCK	Sigma, Deisenhofen
Triton X-114	Sigma, Deisenhofen
Trypsin/EDTA [0,5 % (w/v)/0,2 % (w/v)]	Life Technologies, Karlsruhe
X-Gal	AppliChem, Darmstadt
Xylencyanol	Roth, Karlsruhe

3.3 Enzyme

Benzonase, rekombinant, aus <i>E. coli</i>	Merck, Darmstadt
Collagenase D, aus <i>C. histolyticum</i>	Roche, Mannheim
Dispase, aus <i>B. polymyxa</i>	Roche, Mannheim
Trypsin, aus Schwein	Promega, Madison/USA
<i>Taq</i> -DNA-Polymerase rekombinant, aus <i>E. coli</i>	Life Technologies, Karlsruhe
Platinum- <i>Taq</i> -DNA-Polymerase rekombinant, aus <i>E. coli</i>	Life Technologies, Karlsruhe

3.4 Synthetische Oligonukleotide

Oligonukleotide wurden von der Firma MWG-Biotech, Ebersberg synthetisiert.

Cytb5.s	5'-GTT GGA CAC TCC ACA GAT GCT C-3'
Cytb5.as	5'-CAG GGA TAC AAC CAG TGC TGA G -3'
hsCamK.Ns1	5'-ACC GCC TGT ACC AGC AGA TCA A-3'
hsCamK.Nas1	5'-GGG GAT TCA GGA TGG TGG TGT-3'
alphaKAP.s1	5'-AAC CCT CTA CTT TTT CTC CTC CAC A-3'
alphaKAP.as1	5'-GGA CTC AAA ATC TCC ATT GCT T-3'
CamK2A.s3	5'-CTT GGC GTT GTT AAC CCT CTA-3'
M13	5'-GTA AAA CGA CGG CCA GT-3'

3.5 Sonstige Materialien

Bakterienstämme und Plasmide

<i>E. coli</i> DH5 α	Life Technologies, Karlsruhe
pGEM-T Easy Vector System I	Promega, Madison/USA

Nukleinsäurestandards

100 bp DNA-Leiter (1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	Life Technologies, Karlsruhe
DNA Molecular Weight Marker V (250 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	Roche, Mannheim

Reagenziensätze

Wizard MageSil Sequencing Reaction Clean-Up System	Promega, Madison/USA
ABI Big Dye Terminator Sequencing Kit 2.0	Applied Biosystems, Weiterstadt
Rediprime II DNA Labeling System	Amersham Pharmacia, Freiburg
E.Z.N.A. Plasmid Miniprep Kit I	Peqlab, Erlangen
Fast pNPP Substrate Tablet Set	Sigma, Deisenhofen

3.6 Proteindatenbanken und Computerprogramme

Computerprogramme

PDQuest	Biorad, München
Voyager Data Explorer 4.0	Applied Biosystems, Weiterstadt
MS-Fit	http://prospector.ucsf.edu/ucsfhtml4.0/msfit.htm
BLAST	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/

Proteindatenbanken

NCBI	National Center for Biotechnology Information, USA
Swiss-Prot	Department de Biochimie Medicale, Centre Medical Universitaire, Genf/Schweiz

3.7 Häufig verwendete Puffer

PBS (pH 7,4):

140	mM	NaCl
3	mM	KCl
8	mM	Na ₂ HPO ₄
1,5	mM	KH ₂ PO ₄

Earle's-Puffer:

120	mM	NaCl
5	mM	KCl
1	mM	Na ₂ HPO ₄
0,8	mM	MgSO ₄
1,6	mM	CaCl ₂
5,4	mM	D-Glucose
26	mM	NaHCO ₃

Aufschlusspuffer nach Rabilloud (1998a):

7 M	Harnstoff
2 M	Thioharnstoff
4 % (w/v)	CHAPS

Harnstoff und Thioharnstoff wurden bei maximal 30°C in H₂O_{bidest} gelöst und vor der Zugabe von CHAPS 15 min mit 0,5 g Mischbettionenaustauscher gerührt. Die Lösung wurde bei -20°C gelagert.