

9 Anhang

9.1 Trypsinierungslösung und Nährstoffmedien für die Zellanzüchtung

9.1.1 Trypsinierungslösung

- Trypsin-EDTA-Lösung (0,25%) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)
- 5 ml Penicillin/Streptomycin
(10000U x ml⁻¹ Penicillin / 10mg x ml⁻¹ Streptomycin) (Sigma-Aldrich)

9.1.2 Zellkulturmedium 1

- Medium 199 (Sigma-Aldrich)
- 15% fetales Kälberserum (Biochrom, Berlin)
- 6,8 ml/l L-Glutamin (200 mmol/l) (Sigma-Aldrich)
- 20 ml/l HEPES-Puffer (1 mol/l) (Sigma-Aldrich)
- 2,4 x 10⁵ U/l Nystatin (Sigma-Aldrich)
- 50 mg/l Gentamycin (Sigma-Aldrich)
- 100 mg/l Kanamycin (Sigma-Aldrich)

9.1.3 Zellkulturmedium 2

- Medium 199
- 10% fetales Kälberserum
- 6,8 ml/l L-Glutamin (200 mmol/l)
- 20 ml/l HEPES-Puffer (1 mol/l)
- 50 mg/l Gentamycin
- 100 mg/l Kanamycin

9.2 Messmedien

| | Na1 | NaHf | KHf | NaHf-Cl |
|-------------------------|------------------|-------------|------------|----------------|
| NaCl | 145 mmol/l | 125 mmol/l | 15 mmol/l | 30 mmol/l |
| Nabutyrat | | 20 mmol/l | | 15 mmol/l |
| KCl | 5 mmol/l | 5 mmol/l | 115 mmol/l | 5 mmol/l |
| Kbutyrat | | | 20 mmol/l | |
| CaCl₂ | 1 mmol/l | 1 mmol/l | 1 mmol/l | |
| MgCl₂ | 2 mmol/l | 2 mmol/l | 2 mmol/l | 2 mmol/l |
| Glukose | 5 mmol/l | 5 mmol/l | 5 mmol/l | 5 mmol/l |
| Sucrose | | | | 60 mmol/l |
| HEPES | 10 mmol/l | 10 mmol/l | 10 mmol/l | 10 mmol/l |
| Osmolarität | 290-300 mosmol/l | | | |
| pH-Wert | 7,1 | | | |

9.3 Eichlösung

| | Hoch K⁺-Medium* |
|-------------------------|-----------------------------------|
| Mops | 10 mmol/l |
| NaCl | 10 mmol/l |
| K-Gluconat | 110 mmol/l |
| KCl | 20 mmol/l |
| CaCl₂ | 1 mmol/l |
| MgCl₂ | 1 mmol/l |
| Glukose | 10 mmol/l |
| pH** | 6,0 / 6,5 / 7,0 / 7,5 / 8,0 |
| Osmolarität | 288 mosmol/l |

*Zur Äquilibration von pH_i und pH_e wurden der Lösung 5 µg/ml des Ionophors Nigericin zugesetzt. Zur Entfernung des Ionophors wurden 0,5% FKS dazugegeben.

FKS = fetales Kälberserum (Biochrom)

Nigericin (Molecular Probes, Eugene, OR, USA)

**Zur Einstellung der pH-Werte der Eichlösungen wurden folgende Puffer verwendet:

pH 6,0 und 6,5: MES (4-Morpholine-ethanesulfonic acid)

pH 7,0 und 7,5: HEPES

pH 8,0: TRIS

9.4 Ansetzen und Herkunft der verwendeten Blocker

Das Diuretikum Amilorid (Sigma-Aldrich) wurde in einer Stammlösung mit DMSO (Sigma-Aldrich) angesetzt. Der NHE1 Blocker HOE694 (ein Geschenk von Dr. H.J. Lang bzw. Dr. J. Pünter, Hoechst Marion Roussel Deutschland GmbH, jetzt Aventis) wurde nach Herstellerangabe in einer Stammlösung mit Reinstwasser (Biochrom) angesetzt. Der NHE3 Blocker S3226 (von Dr. H.-J. Lang, s.o.) wurde in DMSO gelöst und dann mit Reinstwasser auf die erforderliche Konzentration verdünnt. Foliomycin (von ICN Biomedicals und von Calbiochem), der Inhibitor der vH⁺-ATPase, wurde in DMSO gelöst und die Stammlösung wurde anschließend mit Reinstwasser eingestellt.