

8 Anhang

8.1 Inkubation der Hühnerembryonen

8.1.1 Herkunft und Bebrütung der Hühnerembryonen

Spezifisch pathogenfreie Hühnereier der Rasse „White Leghorn“ werden über die Firma: *Lohmann Tierzucht GmbH* bezogen: *Am Seedeich 9-11 D-27454 Postfach 460 Cuxhaven* www.ltz.de Tel.: 04721-505299, Fax.: 04721 38852

Brutschrank mit Ventilationssystem und automatischer Wendevorrichtung, sowie computergesteuertem Temperatur- und Feuchteregelsystem von der Firma: *J. Hemel Brutgeräte, Tel. 05246 4686*

Brutschrank HOVA-BATOR Incubator, Model 1602N der Firma: *G.Q.F. MFG. CO. INC, Savannah, GA 31402-1552 USA*

Flow Bus Bronkhorst HiTec der Firma: *MÄTTIG Meß- und Regeltechnik GmbH*

Stickstoff und Sauerstoff in 50l Flaschen stammen von der Firma: *AIR Liquide GmbH, Hans-Günther-Sohl-Str. 5, D-40235 Düsseldorf, Tel. 63953313*
KdNr.: 41289900

8.1.2 Messung des Sauerstoffgehaltes im Brutschrank

PO₂-Messgerät M80 der Firma: *VEB Metra Meß- und Frequenztechnik Radebeul*

Zur Eichung des PO₂-Messgerätes wurde eine sauerstofffreie Lösung angesetzt:
3%ige Natriumdithionitlösung

8.2 Gewinnung und Aufarbeitung der Proben

8.2.1 Präparation der Hühnerembryonen und der Herzen

Alkohol (70%); RNA Stabilisationsmedium: RNA-Later aus dem „RNeasy Mini Protect Kit“,
Fa. Qiagen

8.3 Messung morphologischer Parameter

digitalen Feinwaage: Satorius Basics, Type BA 210

8.4 Isolierung der Gesamt-RNA aus tierischen Zellen

8.4.1 Stabilisierung der Proben-RNA

8.4.1.1 Verwendete Chemikalien

RNA Stabilisationsmedium: RNA-Later aus dem „RNeasy Mini Protect Kit“, Fa. Qiagen

8.4.2 Aufarbeitung der stabilisierten Gewebeproben

8.4.2.1 Verwendete Chemikalien

„RNeasy Mini Protect Kit“, Fa. Qiagen: Lysispuffer RLT, „QIAshredder-Säule“, „RNeasy-mini-column“, RW1 Puffer, RPE-Puffer, RNase freies Wasser

RNase-Free DNase Set (50), Fa. Qiagen: DNase1 Stammlösung, RDD-Puffer

demineralisiertes Wasser = aqua purificata, Fa. Roth, Art.No. 4227.1

Ethanol, Roth, Art.No. 5054.3

β-Mecaptoethanol: 2-Mercaptoethanol, Fa. Roth, Art.No. 4227.1

8.4.2.2 Verwendete Utensilien

rotierendes Dispergierwerkzeug: Ultra turrax T8, Fa. Ika

1,5 ml-Röhrchen: Multi-Reaktionsgefäße, Fa. Roth, Art.No. 7080.1

8.4.3 Photometrische Bestimmung des RNA-Gehaltes

8.4.3.1 Vewendete Utensilien

Photometer: Biophotometer, Fa. Eppendorf

Uvetten, 220-1600 nm, Fa. Eppendorf, Order no. 0030106.300

8.5 Konventionelle PCR

8.5.1 Recherche und Herstellung synthetischer Oligonucleotide

8.5.1.1 Verwendete Internetseiten

NCBI: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

Ensembl: <http://www.ensembl.org/>

8.5.1.2 Primerhersteller

Fa. MWG Biotech; Ebersberg: <http://www.mwg-biotech.com/html/all/index/php>

8.5.2 Protokoll der RT-PCR

8.5.2.1 Verwendete Chemikalien

RNase freies Wasser; reverse Transkriptase (50U/μl), Master Mix 2-fach, Fa. Abgene

8.5.2.2 Zusammensetzung des reverse-Transkriptase-PCR-Reaktionsansatzes

Substanz	Menge (μl)
Primer sense (20 pmol/μl)	0,5
Primer antisense (20 pmol/μl)	0,5
RNase freies Wasser	7,5
Master Mix 2-fach (Fa. ABgene)	10
Template	1
reverse Transkriptase (50U/μl, Fa. ABgene)	0,5

Tabelle 2 Reaktionsansatz: RT-PCR

8.5.2.3 Reaktionsprotokoll der reversen-Transkriptase-PCR

Zyklus	Zyklusphase	Wiederholungen	Zeit (Minuten)	Temperatur (°C)
1	Reverse Transkription	1	30	47
2	Denaturierung	1	2	94
3	Denaturierung	30-40	2	94
	Annealing	30-40	1	55
	Elongation	30-40	1	72
4	Finale Elongation	1	5	72
5	Kühlen	1		4

Tabelle 3 Reaktionsprotokoll: RT-PCR

8.5.2.4 Verwendete Utensilien

Thermocycler: Techne cyclone 25, Fa. PeqLab Biotechnologie GmbH

8.5.3 DNA-Gelelektrophorese

8.5.3.1 Verwendete Chemikalien

2%-iges Agarosegel: Seakem LE-Agarose, Fa. Biozym

TAE-Puffer (40mM Tris-HCl (Fa. Roth), 2mM EDTA (Fa. Roth) in Wasser)

DNA-Ladder, Fa. Roth

Ethidiumbromid-Färbung: Ethidiumbromidlösung 1%, Fa. Roth, Art.No. 2218.1

8.5.3.2 Verwendete Utensilien

Elektrophoresekammer, Model No. HU6 / Serial No. 3277, Model No. HU10 / Serial No. 3516, Fa. Roth

Power Supply: BIO-RAD, POWER PAC 200

UV-Illuminator: Alpha Innotech, Chemilmager 5500

8.5.4 PCR zur Vermehrung eines PCR-Produktes (Massen-PCR)

8.5.4.1 Zusammensetzung des Reaktionsansatzes der Massen-PCR

Substanz	Menge (µl)
Master Mix 1.1 (Fa. ABgene)	45
Primer sense (20 pmol/µl)	1
Primer antisense (20 pmol/µl)	1
Template	3

Tabelle 4 Reaktionsansatz: Massen-PCR

8.5.4.2 Reaktionsprotokoll der Massen-PCR

Zyklus	Zyklusphase	Wiederholungen	Zeit (Minuten)	Temperatur (°C)
1	Initiale Denaturierung	1	2	94
2	Denaturierung	40	2	94
	Annealing	40	0,5-2	55
	Elongation	40	1	72
3	Finale Elongation	1	5	72
4	Kühlen	1		4

Tabelle 5 Reaktionsprotokoll: Massen-PCR

8.5.4.3 Verwendete Utensilien

Thermocycler: Techen Cyclone 25, Fa. PeqLab Biotechnologie GmbH

Mini-Tube: PCR Softtubes, 0,2 ml, Art.No. 711000, Art.No. 711080, Fa. Biozym

8.5.5 Aufreinigung eines PCR-Produktes

8.5.5.1 Verwendete Chemikalien

„QIAquick PCR Product Purification Kit“, Fa. Qiagen: PB1-Puffer, „QIAquick-spin-column“, PE-Puffer, 1,5 ml Mikrozentrifugenröhrchen, RNase freies Wasser

8.5.6 Gelextraktion von DNA

8.5.6.1 Verwendete Chemikalien

„QIAquick Gel Extraction Kit“, Fa. Qiagen: QG-Puffer, „QIAquick-spin-column“, 2 ml Sammelröhrchen, PE-Puffer

Aqua purificata, Fa. Roth, Art.No. T143.3

Isopropanol: 2-Propanol, Fa. Roth, Art.No. 6752.3

8.5.6.2 Verwendete Utensilien

1,5 ml-Reaktionsgefäß: Multi-Reaktionsgefäße, Fa. Roth, Art.No. 7080.1

Thermomixer compact, Fa. Eppendorf

8.6 Klonierung von Plasmiden

8.6.1 Anfügen von Adenosin-Überhängen

8.6.1.1 Verwendete Chemikalien

„A-Addition-Kit“, Fa. Qiagen: „5x QIAGEN A-Addition Master Mix“

8.6.1.2 Verwendete Utensilien

Brutschrank, Fa. Memmert

Mini-Tube: PCR Softtubes, 0,2 ml, Art.No. 711000, Art.No. 711080, Fa. Biozym

8.6.2 Ligation

8.6.2.1 Verwendete Chemikalien

“Cloning Kit Plus”, Fa. Qiagen: „Ligation Master Mix 2x“

8.6.2.2 Klonierungsvektor

„pDrive Cloning Vector“, Fa. Qiagen

8.6.3 Transformationsprotokoll

8.6.3.1 Verwendete Chemikalien

“Cloning Kit Plus”, Fa. Qiagen: „SOC-Medium“

8.6.3.2 Kompetente Bakterien

Competent EZ-cells, Fa. Qiagen, Genotyp: (F⁺::Tn10(Tc^r proA⁺B⁺ lacI^qZM15)recA1 and A 1 hsdR17(r_{k12}⁻m_{k12}⁺)lac glnV44 thi- 1 gyrA96 relA1)

8.6.3.3 Verwendete Utensilien

Thermomixer compact, Fa. Eppendorf

Agarplatten

8.6.4 Vermehrung der monoklonalen, plasmidtragenden Bakterien in kleinem Maßstab (Mini-Prep-Verfahren)

8.6.4.1 Verwendete Chemikalien

LysozymbLösung: Lysozym aus Hühnereiweiß, Fa. Roth, Art.No. 8259.1

Isopropanol: 2-Propanol, Fa. Roth, Art.No. 6752.3

LB-Medium

STET-Puffer, Zusammensetzung des STET-Puffers:

Substanz	Menge
NaCl (Fa. Roth)	100 mM
Tris (Fa. Roth)	10 mM
EDTA (Fa. Roth)	1mM
Triton X-100 (Sigma)	5% (v/v)
Wasser	als Lösungsmittel

Tabelle 6 Inhaltsstoffe: STET-Puffer

8.6.4.2 Verwendete Utensilien

15ml-Reaktionsgefäße: 15 ml Centrifuge tubes with screw caps, Fa. Roth

1,5 ml-Reaktionsgefäß: Multi-Reaktionsgefäße, Fa. Roth, Art.No. 7080.1

Schüttelinkubator: Environmental Shaker, ES 20, Fa. PeqLab

Thermomixer compact, Fa. Eppendorf

8.6.5 Prüfung auf das Vorhandensein des Inserts im Plasmid durch Restriktionsverdau

8.6.5.1 Verwendete Chemikalien

Restriktionsenzym: EcoR1, EcoR1-Puffer (10-fach), Fa. MBI Fermentas

Aqua purificata, Fa. Roth, Art.No. T143.3

Glycerin, Fa. Roth, Art.No. 7530.1

8.6.5.2 Verwendete Utensilien

Mini-Tube: PCR Softtubes, 0,2 ml, Art.No. 711000, Art.No. 711080, Fa. Biozym

Brutschrank, Fa. Memmert

8.6.6 Vermehrung von Plasmiden im mittleren Maßstab (Midi-Prep-Verfahren)

8.6.6.1 Verwendete Chemikalien

„Midiprep Kit“, Fa. Qiagen: Puffer P1, Puffer P2, Puffer P3, „Qiagen-Tip 100“, Puffer QBT, Puffer QC, Puffer QF,

LB-Medium

Ampicillin: Ampicillin Natriumsalz, Fa. Roth, Art.No. K029.1

Isopropanol: 2-Propanol, Fa. Roth, Art.No. 6752.3

70 % Ethanol, Roth, Art.No. 5054.3

Aqua purificata, Fa. Roth, Art.No. T143.3

8.6.6.2 Verwendete Utensilien

Schüttelinkubator: Mini-Schüttelinkubator, Fa. PeqLab

50 ml-Reaktionsgefäße: 50 ml Centrifuge tubes with screw caps, Fa. Roth

15 ml-Reaktionsgefäß: 15 ml Centrifuge tubes with screw caps, Fa. Roth

Brutschrank: Fa. Memmert

BioPhotometer, Fa. Eppendorf

8.6.6.3 Sequenzierung

Die Sequenzierung wurde durchgeführt von: Sequence Laboratories Göttingen GmbH

<http://www.SEQLAB.de>

8.6.7 Herstellung von LB-Agar und LB-Medium

8.6.7.1 Verwendete Chemikalien

LB-Agar, Fa. Roth, X969.1

LB-Broth: LB-Medium, Fa. Roth, X968.1

Ampicillin: Ampicillin Natriumsalz, Fa. Roth, Art.No. K029.1

X-gal, Fa. Roth, 2315.3

IPTG, dioxanfrei, Fa. Roth, 2316.3

8.6.7.2 Verwendete Utensilien

Zellkulturschalen: 100x20 mm Zellkulturschale, Biochrom, P93100

8.6.7.3 Konzentration der Zusatzstoffe zur Herstellung von LB-Agar-Platten

Substanz	Menge
Ampicillin	100 mg/l
X-gal	20g/l
IPTG	240 mg/l

Tabelle 7 Zusatzstoffe: LB-Agar-Platten

8.7 Quantitative PCR

8.7.1 cDNA-Synthese

8.7.1.1 Verwendete Chemikalien

„iScript-cDNA-Synthese-Kit“, Fa. Bio-Rad: “5x iScript Reaction Mix”, “iScript reverse Transkriptase”, Nuclease freies Wasser

8.7.1.2 Zusammensetzung des cDNA-Reaktionsansatzes

Substanz	Menge (µl)
5x iScript Reaction Mix	4
iScript reverse Transkriptase	1
Nuclease freies Wasser	14
RNA Probe (100ng/µl)	1

Tabelle 8 Reaktionsansatz: cDNA-Synthese

8.7.1.3 Reaktionsprotokoll der cDNA-Synthese

Zyklus	Zeit (Minuten)	Temperatur (°C)
1	5	25
2	30	42
3	5	85
4	∞	4

Tabelle 9 Reaktionsprotokoll: cDNA-Synthese

8.7.1.4 Verwendete Utensilien

Thermocycler: Techne Cyclone 25, Fa. PeQLab Biotechnologie GmbH

Mini-Tube: PCR Softtubes, 0,2 ml, Art.No. 711000, Art.No. 711080, Fa. Biozym

8.7.2 Protokoll der qPCR

8.7.2.1 Verwendete Chemikalien

qPCR KIT: „iQ SYBR Green Supermix, Fa: Biorad, Cat.No. 170-8884

Aqua purificata, Fa. Roth, Art.No. T143.3

8.7.2.2 Zusammensetzung des Reaktionsansatzes für eine qPCR

Substanz	Menge
Primer sense	0,5µl
Primer antisense	0,5µl
Aqua purificata	6,5µl
Master Mix	12,5µl
Template cDNA	5µl

Tabelle 10 Reaktionsansatz: qPCR

8.7.2.3 Reaktionsprotokoll der qPCR

Zyklus	Zyklusphase	Wiederholungen	Schritt	Prozess	Zeit (Min)	Temperatur (°C)
1	Denaturierung	1	1		12	95
2	Amplifikation	35	1	Denaturierung	0,5	95
			2	Annealing/Elongation	2	*
3		1	1		0,5	95
4		1	1		0,5	55
5		80	1	Schmelzkurve	0,2	55-95

Tabelle 11 Reaktionsprotokoll: qPCR**8.7.2.4 Verwendete Utensilien**

qPCR-Platte 96-well, Fa. ABgene, AB-00600

MyiQ Cycler, Fa. Biorad, Cat.No. 170-9740

8.7.3 Recherche und Herstellung synthetischer Oligonucleotide für die qPCR**8.7.3.1 Verwendete Internetseiten**

NCBI: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi>

Primer3: http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3_www.cgi

Ensembl: <http://ensembl.org>

8.7.3.2 Primerhersteller

Fa. MWG Biotech; Ebersberg: <http://www.mwg-biotech.com/html/all/index/php>

8.8 Weitere verwendete Utensilien und Geräte

Vortex: REAX top, Fa. Heidolph

Zentrifugen: centrifuge 5415D, Fa. Eppendorf; e5804R, Fa. Eppendorf

8.9 Sequenzen verwendeter Primer

VEGF qPCR forward qPCR reverse	VEGFcq190F: 5'-ACA AAC CAC CCA GCT TTC AC-3'(sense) VEGFcq190R: 5'-TCG ACT TGC AAC GTG AGT CT-3'(antisense)
Enolase-2- γ qPCR forward qPCR reverse	Enolase 16-34s: 5'-ATC CAT GCC CGA GAG ATC C-3'(sense) Enolase 76-95as: 5'-CGA AAC ATG CCT TTG TGT GT-3'(antisense)
PFKM qPCR forward qPCR reverse	PFKM 903-922s: 5'-CAG CAG GAT GGG AGT TGA AG-3'(sense) PFKM 963-982as: 5'-CTG AGA GGC TGA CGA CAG CAC AG-3'(antisense)
AMPKb2 qPCR forward qPCR reverse	AMPKb2 324-344F: 5'-ATG ACC CCA GTG TTT TCA GC-3'(sense) AMPKb2 407-427R: 5'-GGC TTC ACA GAC TCC TCC AG-3'(antisense)
β -Aktin RT PCR forward RT PCR reverse qPCR forward qPCR reverse	b-Aktin 377-393F, ov: 5'-CCT TCA ACA CCC CTG CC-3'(sense) b-Aktin 1033-1049R, ov: 5'-GAC AGC GAG GCC AGG AT-3'(antisense) b-Aktin 549-568F: 5'-CGACCTGACCGACTACCTCA- 3'(sense) b-Aktin 620-639R: 5'-TTTGATGTCACGCACGATTT- 3'(antisense)

Tabelle 12 Tabellarische Darstellung der verwendeten Primer (RT-PCR und qPCR)

8.10 dC_T-Werte, Herz- und Embryonenmassen von V0

	m(H) in g	m(E) in g	VEGF	Enolase	PFK	AMPK
V0H						
F2N	0,01	1,67	3,64	6,19	4,72	5,18
F4N	0,01	1,82	3,53	6,06	4,64	5,6
F6N	0,01	1,73	4,21		3,22	
F7N	0,01	1,77			2,91	5,2
932	0,01	1,87	4,26	5,53	5,26	5,58
933	0,02	2,10	4,57	7,35	5,2	6,25
934	0,01	2,28	4,57	7,67	5,1	6,47
935	0,01	2,11	4,73	6,96	5,38	5,68
936	0,01	1,90	4,56	6,33	5,5	5,63
937	0,01	2,20	5,04	6,37	5,9	5,84
ari.Mittel	0,01	1,95	4,35	6,56	4,78	5,71
Stabw.	0,00	0,21	0,50	0,71	0,98	0,43
V0N						
F8N	0,01	1,55	5,32	8,38	5,64	
F9N	0,01	1,85	5,6		5,39	6,93
F10N	0,01	1,58			4,93	6,15
926	0,01	2,08	5,53	8,23	6,47	6,87
927	0,01	1,90	5,63	9,15	6,97	6,47
928	0,01	2,02	5,43	7,28	7,4	6,33
929	0,01	1,62	5,56	8,28	7,23	5,98
930	0,01	1,90		6,9	6,5	6,07
931	0,01	2,09		8,13	5,96	5,93
ari.Mittel	0,01	1,84	5,51	8,05	6,28	6,34
Stabw.	0,00	0,21	0,12	0,74	0,85	0,39

Tabelle 13 Übersicht über die dC_T-Werte sowie Herz und Embryonenmassen in der Gruppe V0 (m(H): Herzmasse; m(E): Embryonenmasse; VEGF: Vascular-Endothelial-Groth-Factor; PFK: Phosphofruktokinase-M; AMPK: AMP-aktivierte Proteinkinase β₂; ari.Mittel: arithmetisches Mittel; Stabw.: Standardabweichung).

8.11 dC_T-Werte, Herz- und Embryonenmassen von V1

	m(H) in g	m(E) in g	VEGF	Enolase	PFK	AMPK
V1H						
775	0,04	4,70	5,43	8,49	5,75	5,99
776	0,05	4,10	5,09	7,42	7,76	5,82
777	0,04	4,11				
778	0,04	4,11	5,4	8,62	5,94	6,22
779	0,04	3,92	4,96	7,38	5,51	5,48
780	0,04	4,29	4,56	7,62	5,3	5,16
781	0,05	3,99				3,09
782	0,05	5,08	5,74	7,12	4,69	5,49
783	0,04	4,64	4,82	7,33	5,29	5,71
784	0,04	4,06	5,39	7,01	5,05	4
958	0,01	2,27	4,24	8,34	5,47	5,27
959	0,01	2,24	3,5	6,96	4,33	4,7
ari.Mittel	0,04	3,96	4,91	7,63	5,51	5,18
Stabw.	0,01	0,87	0,67	0,62	0,50	0,93
V1N						
702	0,03	3,60	4,12	8,72	5,82	5,7
703	0,03	3,91	4,77	9,1	5,7	5,37
704	0,03	3,31	4,63	8,33	5,85	5,6
705	0,03	3,72	4,66	7,78	5,4	5,43
718	0,02	3,16	4,67	8,14	5,1	5,3
719	0,02	3,15	5,07	8,37	5,8	5,44
720	0,03	2,85	4,46	7	5,33	5,3
785	0,04	5,24	5,25	8,1	5,23	5,6
786	0,05	3,11	6,43	7,33	5,87	5,37
787	0,04	4,44	4,93	8,41	5,39	5,46
788	0,05	4,68	4,96	7,66	7,79	6,19
789	0,04	4,84		8,15	4,7	5,12
ari.Mittel	0,03	3,83	4,90	8,09	5,67	5,49
Stabw.	0,01	0,79	0,59	0,58	0,76	0,27

Tabelle 14 Übersicht über die dC_T-Werte sowie Herz und Embryonenmassen in der Gruppe V1 (m(H): Herzmasse; m(E): Embryonenmasse; VEGF: Vascular-Endothelial-Groth-Factor; PFK: Phosphofruktokinase-M; AMPK: AMP-aktivierte Proteinkinase β2; ari.Mittel: arithmetisches Mittel; Stabw.: Standardabweichung).

8.12 dC_T-Werte, Herz- und Embryonenmassen von V2

	m(H) in g	m(E) in g	VEGF	Enolase	PFK	AMPK
V2H						
825	0,18	18,78	3,7	7,5	4,86	5,03
826	0,19	19,44	3,83	7,5	4,67	4,55
827	0,17	18,30	2,87	6,87	5,24	4,77
828	0,16	19,79	3,7	7,13	4,36	4,83
829	0,17	20,67	4,06	7,76	4,9	5,7
830	0,18	18,90	3,84	7,62	5,04	5,37
831	0,19	18,31	3,6	7,5	5,3	5,3
960	0,12	15,53	3,67	7,63	3,15	4,83
961	0,13	14,35	3,73	7,9	3,83	4,6
962	0,12	15,03	3,34	7,2	3,67	4,5
963	0,14	16,51	3,23	8,1	3,55	4,77
964	0,13	13,96	3,33	7,86	3,43	4,76
965	0,16	13,99	3,14	7,37	3,7	4,24
966	0,13	13,85	3,4	6,86	3,6	4
ari.Mittel	0,16	16,96	3,53	7,49	4,24	4,80
Stabw.	0,03	2,46	0,32	0,37	0,75	0,45
V2N						
812	0,18	19,68	3,77	8,13	5	4,77
813	0,16	19,04	3,7	7,75	4,77	5
814	0,14	18,26	4,27	7,03	4,73	5,1
815	0,15	17,84	3,73	7,53	4,43	4,98
816	0,17	17,83	3,7	7,15	4,6	4,67
945	0,18	20,26	3,2	7,87	3,77	4,54
946	0,22	22,90	3,66	8,7	3,83	5
947	0,19	18,63	3,67	8,5	3,8	4,9
948	0,23	18,08	3	8,04	3,6	4,34
949	0,20	19,30	3,5	8,23	3,63	4,5
950	0,20	20,87	3,46	7,76	3,7	5,13
967	0,14	16,25	3,23	6,46	4,06	4,16
968	0,14	14,03	3,74	7,14	3,8	4,8
969	0,13	13,62	3,7	7,95	3,85	5,42
970	0,11	15,00	3,22	6,9	3,64	4,42
971	0,13	13,59	4,1	7,8	3,87	5,07
ari.Mittel	0,17	17,82	3,60	7,68	4,07	4,80
Stabw.	0,03	2,70	0,33	0,61	0,47	0,34

Tabelle 15 Übersicht über die dC_T-Werte sowie Herz und Embryonenmassen in der Gruppe V2 (m(H): Herzmasse; m(E): Embryonenmasse; VEGF: Vascular-Endothelial-Groth-Factor; PFK: Phosphofructokinase-M; AMPK: AMP-aktivierte Proteinkinase β 2; ari.Mittel: arithmetisches Mittel; Stabw.: Standardabweichung).

8.13 dC_T-Werte, Herz- und Embryonenmassen von V3

	m(H) in g	m(E) in g	VEGF	Enolase	PFK	AMPK
V3H						
798	0,20	23,41	3,99	8,9	3,32	5,09
799	0,22	23,39	4		3,6	4,7
800	0,20	22,83	3,92	10,42	4,33	5,9
972	0,13	16,40	3,6	8,3	3,73	4,8
973	0,15	15,54	4	7,73	3,5	5,2
974	0,14	13,69	3,76	6,5	4,58	4,86
975	0,17	14,96	4	7,8	3,6	5,17
976	0,14	15,03	3,9	8,37	3,67	5,57
977	0,13	14,54	3,66	7,7	3,56	5,66
978	0,15	16,50	4,04	8,47	3,34	5,04
979	0,13	13,74	4,26	8,66	3,76	5,26
980	0,14	13,96	4,1	8,5	3,73	5,2
ari.Mittel	0,16	17,00	3,94	8,30	3,73	5,20
Stabw.	0,03	3,86	0,19	0,96	0,37	0,36
V3N						
938	0,20	19,74	3,13	5,47	3,3	4,3
939	0,20	19,47	3,74	5,87	4,84	4,9
940	0,19	19,50	3,34	7,07	3,8	5,14
941	0,21	22,13	3,5	8,54	4,37	5,2
942	0,21	18,99	3,34	5,67	3,9	4,6
943	0,23	18,89	3,2	8,17	4,72	4,32
944	0,19	20,55	3,4	9	4,07	4,8
801	0,17	25,57	3,93	10,22	4,12	4,62
802	0,17	22,92	3,8	10,04	4,07	5,1
981	0,19	16,51	4,76	9,1	5,36	5,86
982	0,17	15,60	4,02	8,2	5,85	4,92
983	0,16	17,09	3,47	7,97	4,4	5,2
ari.Mittel	0,19	19,75	3,64	7,94	4,40	4,91
Stabw.	0,02	2,80	0,45	1,62	0,70	0,43

Tabelle 16 Übersicht über die dC_T-Werte sowie Herz und Embryonenmassen in der Gruppe V3 (m(H): Herzmasse; m(E): Embryonenmasse; VEGF: Vascular-Endothelial-Groth-Factor; PFK: Phosphofruktokinase-M; AMPK: AMP-aktivierte Proteinkinase β2; ari.Mittel: arithmetisches Mittel; Stabw.: Standardabweichung).

8.14 dC_T-Werte, Herz- und Embryonenmassen von V4

	m(H) in g	m(E) in g	VEGF	Enolase	PFK	AMPK
V4H						
817	0,21	19,86	4,45	8,45	4,83	6,55
818	0,18	15,21	3,67	8,37	4,47	5,6
819	0,16	13,49	4,03	8,68	4,5	6,13
820	0,18	19,17	4	8,6	4,5	6,8
821	0,17	17,56	3,93	8,13	5,4	5,13
822	0,18	18,29	4,36	7,6	5,63	4,96
823	0,19	18,77	4,1	7,6	5,37	5,3
824	0,15	18,25	4,2	6,87	4,9	6,85
984	0,16	17,45	3,45	7,87	3,83	4,9
985	0,18	16,13	4,33	8,33	3,5	4,8
986	0,16	14,87	4,23	9,06	4,53	5,63
987	0,17	15,12	4,18	8,36	3,28	4,26
ari.Mittel	0,17	17,01	4,08	8,16	4,56	5,58
Stabw.	0,02	2,00	0,29	0,59	0,74	0,84
V4N						
832	0,18	19,68	4,26	7,73	5,36	4,96
833	0,16	19,55	4,07	7,74	5,34	4,97
834	0,18	19,60	4,33	7,33	5,53	5,18
835	0,20	21,73	3,97	7,57	5,7	5,1
836	0,19	18,98	4,28	7,83	5,5	4,53
837	0,18	16,55	4,14	7,84	4,9	5,6
988	0,16	17,11	3,97	8,14	3,74	4,62
989	0,14	14,57	4,16	8,46	3,13	4
990	0,13	13,22	3,86	7,23	4,1	4,63
991	0,14	15,50	4,1	8,43	3,82	4,8
992	0,12	11,85	4,16	7,93	4,33	5,23
993	0,14	14,01	3,82	4,56	3,27	3,02
ari.Mittel	0,16	16,86	4,09	7,57	4,56	4,72
Stabw.	0,03	3,08	0,16	1,02	0,94	0,67

Tabelle 17 Übersicht über die dC_T-Werte sowie Herz und Embryonenmassen in der Gruppe V4 (m(H): Herzmasse; m(E): Embryonenmasse; VEGF: Vascular-Endothelial-Groth-Factor; PFK: Phosphofruktokinase-M; AMPK: AMP-aktivierte Proteinkinase β2; ari.Mittel: arithmetisches Mittel; Stabw.: Standardabweichung).

8.15 Übersicht über die Auswertung der FC-Werte im direkten Vergleich von Test- und Basisgruppe

Gruppe	Gen	FC-Wert	p-Wert	% der Fc-Werte bei:		
				<0,5	0,5-2,0	>2,0
V0	AMPK	1,49	0,0063	0	77	22
	Enolase	3,52	0,0079	0	25	75
	PFK	2,48	0,0198	0	25	75
	VEGF	2,43	0,0023	0	55	44
V1	AMPK	1,51	0,3297	0	81	18
	Enolase	1,54	0,1969	0	70	30
	PFK	1,19	0,4361	10	80	10
	VEGF	1,01	0,6211	0	90	10
V2	AMPK	1,08	0,5468	0	100	0
	Enolase	1,27	0,3318	0	100	0
	PFK	0,86	0,7648	36	64	0
	VEGF	1,14	0,2352	0	100	0
V3	AMPK	0,84	0,0126	0	100	0
	Enolase	1,11	0,0262	9	82	9
	PFK	0,96	0,0055	0	100	0
	VEGF	0,74	8,2865E-06	0	100	0
V4	AMPK	0,71	0,1635	33	67	0
	Enolase	0,84	0,2178	8	92	0
	PFK	1,17	0,1684	8	75	17
	VEGF	1,05	0,50203	0	100	0

Tabelle 18 Abgebildet sind die FC-Werte der Gruppen V0-4, das Ergebnis der unifaktoriellen Varianzanalyse (p-Wert) sowie die prozentuale Verteilung der FC-Werte in Bezug auf den als nicht signifikant gewerteten Bereich von 0,5 bis 2,0.

8.16 Übersicht über die Auswertung der FC-Werte zur Altersabhängigkeit

V0 zu V1	FC-Wert	p-Wert	% der Fc-Werte bei:		
			<0,5	0,5-2,0	>2,0
AMPK	1,71	9,39E-06	0	92	8
Enolase	1,19	0,7616	0	92	8
PFK	1,92	0,0044	8	41	50
VEGF	1,66	0,0132	0	82	18

V1 zu V2	FC-Wert	p-Wert	% der Fc-Werte bei:		
			<0,5	0,5-2,0	>2,0
AMPK	1,59	1,92E-05	0	81	19
Enolase	1,5	0,1095	0	75	25
PFK	2,92	7,70E-08	0	25	75
VEGF	2,3	7,96E-08	0	19	81

V0 zu V2	FC-Wert	p-Wert	% der Fc-Werte bei:		
			<0,5	0,5-2,0	>2,0
AMPK	2,79	2,09E-07	0	6	94
Enolase	1,59	0,3338	0	69	31
PFK	5,53	6,49E-07	0	0	100
VEGF	3,94	1,78E-07	0	0	100

Tabelle 19 Abgebildet sind die FC-Werte der untersuchten Gene in Bezug auf das Alter des Hühnerembryo (V0=D10; V1=D12; V2=D18), das Ergebnis der unifaktoriellen Varianzanalyse (p-Wert) sowie die prozentuale Verteilung der FC-Werte in Bezug auf den als nicht signifikant gewerteten Bereich von 0,5 bis 2,0.

8.17 Übersicht über die Auswertung der FC-Werte bei Vergleich der Gruppe V2 mit V3N/H bzw. V4N/H

V2N/V3N	FC-Wert	p-Wert	% der Fc-Werte bei:		
			<0,5	0,5-2,0	>2,0
AMPK	1,00	0,3042	8	92	0
Enolase	1,57	0,3812	33	42	25
PFK	0,75	0,1951	17	83	0
VEGF	1,08	0,9402	8	92	0

V2N/V3H	FC-Wert	p-Wert	% der Fc-Werte bei:		
			<0,5	0,5-2,0	>2,0
AMPK	0,80	6,60E-03	8	92	0
Enolase	0,84	0,147	18	73	9
PFK	1,11	0,0307	0	100	0
VEGF	0,85	0,0048	0	100	0

V2N/V4N	FC-Wert	p-Wert	% der Fc-Werte bei:		
			<0,5	0,5-2,0	>2,0
AMPK	1,24	4,19E-01	0	92	8
Enolase	1,69	0,4083	0	92	8
PFK	0,74	0,2691	50	50	0
VEGF	0,76	0,00019	0	100	0

V2N/V4H	FC-Wert	p-Wert	% der Fc-Werte bei:		
			<0,5	0,5-2,0	>2,0
AMPK	0,70	5,28E-02	33	67	0
Enolase	0,84	0,0813	8	92	0
PFK	0,69	0,0917	33	67	0
VEGF	0,78	0,00105	0	100	0

Tabelle 20 Abgebildet sind die FC-Werte der untersuchten Gene im Vergleich der Gruppen V2N mit V3N/H bzw. V4N/H (V2,3,4=D18), das Ergebnis der univariablen Varianzanalyse (p-Wert) sowie die prozentuale Verteilung der FC-Werte in Bezug auf den als nicht signifikant gewerteten Bereich von 0,5 bis 2,0.