

6. Material

6.1 Antikörper

Erst-Antikörper

Antikörper	Organismus	Herkunft	Verdünnung	
			IHC	WB
α -Arg3.1	Kaninchen	polykl. Serum #2590, <i>EuroGenTec</i>	1:250	1:5000
α -Zinki	Kaninchen	polykl. Serum #6554, <i>EuroGenTec</i>	1:350	1:10000
α -GRF1	Kaninchen	polykl. IgG-Fraktion, <i>Santa Cruz</i> , #sc-224	1:350	1:3500
α -RPS6	Ziege	polykl. IgG-Fraktion, <i>Santa Cruz</i> , #sc-13005	-	1:1000
α -GAPDH	Maus	monokl. IgG-Fraktion, <i>Chemicon</i> , #MAB374	-	1:1000
α -PSD95	Maus	monokl. IgG-Fraktion, <i>ABR</i> , #MA1-046	-	1:750
α -Synaptophysin	Maus	monokl. IgG-Fraktion, <i>Chemicon</i> , #MAB5258	-	1:500

Zweit-Antikörper

Spezifität	Konjugat	Organismus, Herkunft	Verdünnung	
			IHC	WB
α -Kaninchen	Alkalische Phosphatase	Ziege IgG (H+L), <i>Vector</i> , #PI-1000	-	1:10000
α -Ziege	Alkalische Phosphatase	Pferd IgG (H+L), <i>Vector</i> , #PI-9500	-	1:10000
α -Maus	Alkalische Phosphatase	Pferd IgG (H+L), <i>Vector</i> , #PI-2000	-	1:10000
α -Kaninchen	Biotin	Ziege IgG (H+L), <i>Vector</i> , #BA-1000	1:1000	-
α -Kaninchen	Gold	Ziege IgG, <i>Aurion Biotrend</i>	1:30	-

6.2 Plasmide

Plasmid	Verwendung	Insert	Referenz/Herkunft
pAS2	Zwei-Hybrid-System	GAL4-DB	Harper et al., 1993, <i>Clontech</i>
pACTII	Zwei/Tri-Hybrid-System	GAL4-AD	<i>Clontech</i>
pACTII-libIII	Zwei-Hybrid-Screen	Hippokampale Ratten cDNA Bank (PTZ induziert) fusioniert an GAL4-AD	Putz et al., 1996
pRevRA3.1	Tri-Hybrid-System	GAL4-DB-RevM10; RRE-Arg3.1	Putz et al., 1996
pRevRGAP	Tri-Hybrid-System	GAL4-DB-RevM10; RRE-GAPDH	Putz et al., 1996
pcrII-ZinkiSV1	Template für Zinki-PCRs	vollständige Zinki cDNA der längsten Spleißvariante	Putz, 1999
pSport2	<i>in vitro</i> Transkription	-	<i>Invitrogen</i>
pSport-Arg3.1	<i>in vitro</i> Transkription	vollständige Arg3.1 cDNA	Link et al., 1995
pEGFP-Zinki	Expression in eukaryotischen Zellen	vollständiger ORF von Zinki, N-terminal fusioniert an EGFP	U. Putz, persönlich
pcDNA3.1	Expression in eukaryotischen Zellen	-	<i>Invitrogen</i>
pGEX-KG	bakt. Überexpression von GST-Fusionsproteinen	Glutathion-S-Transferase unter Ktr. eines lac-Operons	Guan und Dixon, 1991
pQE30	bakt. Überexpression von His ₆ -Fusionsproteinen	His ₆ -Peptid unter Kontrolle eines lac-Operons	Gu et al., 1994 <i>Qiagen</i>

6.3 Primer

Sämtliche Primer wurden von *Invitrogen Life Technologies Custom Primer* oder *MWG Biotech GmbH* synthetisiert.

Name	Sequenz, 5' – 3'	Verwendung/Restr.-Enzym
<i>pACTIIfor</i>	atgcacagttgaagtgaa	Sequenzierung
<i>pACTIIrev</i>	gtgaacttgcggggttttcagtatctacga	Sequenzierung
<i>pASfor</i>	cgacatcatcatcggaagagagtagtaac	Sequenzierung
<i>pASrev</i>	gaacaagaatttctggttttaaacctaagag	Sequenzierung
<i>T7</i>	taatagcactcactataggg	Sequenzierung
<i>Sp6</i>	atttaggtgacactatagaa	Sequenzierung
<i>pGEX5'</i>	gggctggcaagccacggttggtg	Sequenzierung
<i>pGEX3'</i>	ccgggagctgcatgtgtcagagg	Sequenzierung
<i>pQE30 5'</i>	cggataacaatttcacacag	Sequenzierung
<i>pQE30 3'</i>	gttctgaggtcattactgg	Sequenzierung
<i>zfalle</i>	tagccatggagcatgaaaggacacacactgg	Zinkfingerkonstrukte, NcoI
<i>z9re</i>	gatggatccattccagtgtgtactctttgtg	ZF79, BamHI
<i>egapfor</i>	gatgaattctatggtgaaggtcggtgtg	pSport1-GAPDH, EcoRI
<i>egaprev</i>	gatggatccttactccttgaggccatg	pSport1-GAPDH, BamHI
<i>s5afor</i>	gatgaattcagatggtgtggagagcactatg	GST-S5a, EcoRI
<i>s5arev</i>	gatgagctctcacttcttcttgggtttctg	GST-S5a, SacI
<i>z1b</i>	gatccatggagatgctggagacactactggaacctc	pAS2-Zg,-ZN,-KRAB, NcoI
<i>z2</i>	gatggatccttaataaggtttctctccactatgtgtcc	pAS2-Zg, ZF14-ZF1, BamHI
<i>z12</i>	tagggatccttagtgtgtccttcatgtgtctg	pAS2-ZN,-ZL, BamHI
<i>g1fa</i>	gatggatccgccactgggtcaccaagcac	pACTII-G1, BamHI
<i>g1fb</i>	gatctcgagttaaagaattcctcataaggaatactc	pACTII-G1, SacI
<i>g2f</i>	gatccatgggcccagggttgatgaaggc	pACTII-G2, NcoI
<i>g2r</i>	gatcctaggttatgatgacacaagctttg	pACTII-G2, BamHI
<i>g3f</i>	gatccatggatggccgatttaagaacctcag	pACTII-G3, NcoI
<i>g3r</i>	gatcctaggtcatgtggggagtttgggtcaattc	pACTII-G3, BamHI
<i>grfk</i>	gatccatggaacctttgtttggacgac	pACTII-GK, NcoI
<i>gmut</i>	gatcctaggtcattttgggtcaattcggaggg	pACTII-Gdel, BamHI
<i>zkr</i>	gatggatccttatatagcagtgaggttccagtaggtctc	pAS2-KRAB, BamHI
<i>z11</i>	tagccatggagggttacagtttgaagacc	pAS2-ZL, NcoI
<i>zpfor</i>	gatggatccatgctggagacactactggaacctc	pQE30-Zg, BamHI
<i>zpgrev</i>	gatgtcgacttaataaggtttctctccactatgtgtcc	pQE30-Zg, SalI
<i>gfor1</i>	atcccgggcccactgggtcaccaagcac	pcDNA3-GRF1, SmaI
<i>ggrev</i>	gatggatcctcatgtggggagtttgggtc	pcDNA3-GRF1, BamHI
<i>grfB</i>	ctttgcaagaattcatggtttg	pcDNA3-GRF1, SOE-PCR
<i>grfA</i>	caaaacatgaattcttgcaag	pcDNA3-GRF1, SOE-PCR
<i>arggenomfor</i>	ctcctgcagacacagcagatccag	RT-PCR, RNA-PD
<i>arggenomrev</i>	cgtggtttcatgctggctgtc	RT-PCR, RNA-PD
<i>gapdhfw1</i>	atcgtggaagggctcatgac	RT-PCR, RNA-PD
<i>gapdhrev</i>	ttactccttgaggccatg	RT-PCR, RNA-PD
<i>arg-sense</i>	ggagctggacatgatgacgaccggc	RT-PCR, Translationsassay
<i>argrev</i>	gatggatccctattcaggctgggtcctgtc	RT-PCR, Translationsassay

6.4 Geräte

Agarosegelkammern (horizontal)	<i>OWL</i>
Brutschränke (für Bakterien, Hefen, Zellkultur)	<i>Binder</i>
Color Video Kamera AxioCam HRc	<i>Zeiss</i>
Dounce-Homogenisierer <i>Potter-S</i>	<i>B.Braun</i>
<i>Dynal MPC-E1</i>	<i>Dynal</i>
Elektronenmikroskop CEM 902A	<i>Zeiss</i>
Elektroporator <i>GenepulserII</i>	<i>Biorad</i>
Feinwaage <i>CA770</i>	<i>Kern</i>
Fotoentwickler <i>SRX-101A</i>	<i>Konica</i>
Geldokumentation <i>GelDoc 2000</i>	<i>Biorad</i>
Geltrockner <i>Dryergel</i>	<i>Hoefler</i>
Glaswaren	<i>Schott</i>
Heizblock	<i>HLC</i>
Hybridisierungsöfen <i>HC-2000, HB-1000</i>	<i>UVP</i>
Kryostat <i>HM560</i>	<i>Microm</i>
Lichtmikroskop <i>Axiovert 200M</i>	<i>Zeiss</i>
Mikrowelle	<i>Bosch</i>
Milli Q Synthesis A10 Anlage	<i>Millipore</i>
Mini-Protean-Slab-Cell-Apparatur	<i>Biorad</i>
Netzgeräte <i>PowerPac 200, 300</i>	<i>Biorad</i>
Neubauer Zählkammer	<i>Superior</i>
PCR-Thermocycler <i>PTC-200</i>	<i>MJ Research</i>
Peristaltische Pumpe <i>Minipuls-3</i>	<i>Gilson</i>
pH-Messgerät	<i>inoLab</i>
Phosphoimager <i>BAS1500</i>	<i>Fuji</i>
Pipetten	<i>Gilson</i>
Proteingelkammer (<i>Twin-Gel-System</i>)	<i>Biometra</i>
Scanner	<i>Canon</i>
Schüttler/Inkubator <i>HT</i>	<i>Infors AG</i>
Sonifikator <i>Sonoplus</i>	<i>Bandelin Electronics</i>
Speed-Vac <i>Concentrator 5301</i>	<i>Eppendorf</i>
Spektrophotometer <i>Ultrospec3100 pro</i>	<i>Amersham Biosciences</i>
Stereomikroskop <i>Stemi 2000C</i>	<i>Zeiss</i>
Sterilbank LaminAir	<i>Holten</i>
Szintillationsmessgerät <i>LS6000SC</i>	<i>Beckman</i>
Taumler <i>Polymax 1040</i>	<i>Heidolph</i>
Ultrazentrifuge <i>Optima LE-80K</i>	<i>Beckman Coulter</i>
UV-Crosslinker	<i>UVP</i>
UV-Licht-/Durchlicht-Tisch <i>UVT-20 M/W</i>	<i>Herolab</i>
Vakuumpumpe	<i>Vacuubrand</i>
Vibratom <i>VT1000S</i>	<i>Leica</i>
Vortexer	<i>IKA</i>
Wasserbäder	<i>GFL</i>
Zentrifugen <i>5417R</i>	<i>Eppendorf</i>
<i>Minifuge T</i>	<i>Heraeus</i>
<i>HiCen 21</i>	<i>Herolab</i>

6.5 Chemikalien

Alle nicht näher bezeichneten Chemikalien wurden von den Firmen *AppliChem, Fluka, Merck, Roth, Serva* und *Sigma* in p.A. Qualität bezogen.

Acrylamid/Bisacrylamid 30 % (29:1)	<i>AppliChem</i>
3-Amino-1,2,4-Triazol (3AT)	<i>Sigma</i>
Ammoniumacetat	<i>Merck</i>

Ammoniumpersulfat	<i>Biorad</i>
Ammoniumsulfat	<i>Sigma</i>
Ampicillin	<i>Invitrogen Life Technologies</i>
Bromphenolblau	<i>Merck</i>
BSA	<i>Sigma</i>
BSA-C	<i>Aurion</i>
5-Chlor-4-Brom-3-indolyl- β -D-galactosid (X-Gal)	<i>Roth</i>
Chloroform	<i>Merck</i>
Cold water fish gelatine	<i>Sigma</i>
Coomassie Brilliant blue R250	<i>Sigma</i>
Cycloheximid	<i>Sigma</i>
DEPC	<i>Applichem</i>
Diethylether	<i>Roth</i>
Dimethylsulfoxid (DMSO)	<i>Roth</i>
Dithiothreitol	<i>Sigma</i>
EDTA	<i>Sigma</i>
Epon 1001	<i>Shell Chemical Company</i>
Essigsäure	<i>Roth</i>
Essigsäure-Anhydrid	<i>Roth</i>
Ethanol	<i>Roth</i>
Ethidiumbromidstocklösung (1 mg/ml)	<i>Roth</i>
Ficoll	<i>Merck</i>
Formaldehyd	<i>Roth</i>
Formamid	<i>Roth</i>
Glutaraldehyd (EM Grade)	<i>Serva</i>
Glutathion, reduziert	<i>Sigma</i>
Glycerin (87 %)	<i>Merck</i>
Glykogen	<i>Boehringer</i>
Goldchlorid	<i>Sigma</i>
Gummi arabicum	<i>Sigma</i>
Hepes	<i>Roth</i>
Imidazol	<i>Roth</i>
Isoamylalkohol	<i>Roth</i>
Isopropanol	<i>Roth</i>
Isopropyl- β -D-thiogalactosid (IPTG)	<i>AppliChem</i>
Kainat	<i>BioVectra</i>
Kanamycin	<i>Roth</i>
Lithiumacetat	<i>Sigma</i>
Lithiumchlorid	<i>Sigma</i>
Magnesiumchlorid	<i>Merck</i>
β -Mercaptoethanol	<i>Sigma</i>
MG-132	<i>Sigma</i>
MOPS	<i>Roth</i>
Natriumacetat	<i>Merck</i>
Natriumborhydrid	<i>Sigma</i>
Natriumchlorid	<i>Roth</i>
Natriumdodecylsulfat (SDS)	<i>Roth</i>
Natriumhydroxid	<i>Roth</i>
Natriumthiosulfat	<i>Roth</i>
Paraformaldehyd	<i>Merck</i>
Phenol/Chloroform/Isoamylalkohol (25:24:1)	<i>Invitrogen Life Technologies</i>
Polyethylenglykol 4000	<i>Fluka</i>
Polyvinylpyrrolidon	<i>Sigma</i>
Salzsäure	<i>Merck</i>
Sarcosyl	<i>Fluka</i>
Stickstoff, flüssig	<i>Lindner</i>

Sucrose	<i>Roth</i>
TEMED	<i>Invitrogen Life Technologies</i>
Trichloressigsäure	<i>AppliChem</i>
Tricin	<i>Sigma</i>
Tris-Base	<i>Roth</i>
Tris-HCl	<i>Sigma</i>
Triton X-100	<i>Merck</i>
Ubiquitinaldehyd	<i>Sigma</i>
Urea	<i>Roth</i>
Wasserstoffperoxid, 3 %	<i>Merck</i>
Xylen Cyanol	<i>Pharmacia</i>
Xylol	<i>Roth</i>
Zinkchlorid	<i>Sigma</i>

6.6 Radiochemikalien

³⁵ S-UTP	<i>NEN</i>
³⁵ S-Methionin	<i>NEN</i>

6.7 Nukleinsäuren

Heringssperma-DNA	<i>Invitrogen Life Technologies</i>
Lachssperma-DNA	<i>Invitrogen Life Technologies</i>
cDNA aus der Maus-Niere	Dr. Arne Engelsberg, persönlich
Hefe tRNA	<i>Boehringer</i>
RNA B	<i>Promega</i>
dNTPs	<i>Rapidozym</i>
GpppG	<i>Amersham Bioscience</i>

6.8 Größenstandards

DNA-Längenstandard (1kb)	<i>GeneRuler™ 1kb DNA Ladder (MBI Fermentas)</i>
DNA-Längenstandard (100bp)	<i>GeneRuler™ 100bp DNA Ladder Plus (MBI Fermentas)</i>
RNA-Längenstandard	<i>RNA Ladder, High Range (MBI Fermentas)</i>
Protein-Größenstandards	<i>PageRuler™ Prestained Protein Ladder (MBI Fermentas)</i> <i>Prestained High Molecular Weight Marker (Invitrogen Life Technologies)</i>

6.9 Agarose, Medienkomponenten und Zellkulturreagenzien

SeaKem LE Agarose FMC	<i>BioProducts</i>
Agarose NEEO Ultra Qualität	<i>Roth</i>
Agar für Bakteriologie	<i>Appllichem</i>
Select Agar	<i>Invitrogen Life Technologies</i>
Hefe Extrakt	<i>Appllichem</i>
Pepton aus Casein	<i>Appllichem</i>
Glukose Monohydrat (Dextrose)	<i>Roth</i>
DOB (Dropout Base)	<i>Bio101</i>
CSM (Complete Supplement Mixture) -W, -L, -W,L, -W,L,H,	<i>Bio101</i>
Dulbecco's MEM	<i>Biochrom</i>
Fötales Bovines Serum, Pferdeserum	<i>Biochrom</i>
Ziegen-, Kaninchenserum	<i>Sigma</i>
Penicillin/Streptomycin (10000 IE/10000 µg/ml; 100x)	<i>Biochrom</i>
(10x) Trypsin/EDTA-Lösung (0,5 %/0,2 %)	<i>Biochrom</i>
Trypan-Blau-Lösung	<i>Biochrom</i>
FuGENE6 Transfektions-Reagenz	<i>Roche</i>

6.10 Enzyme

Sämtliche Enzyme wurden bis auf folgende Ausnahmen von der Firma *MBI Fermentas* bezogen:

GenTherm™ Polymerase	<i>Rapidozym</i>
Lysozym	<i>Sigma</i>
PfuUltra™ <i>High-Fidelity DNA</i> Polymerase	<i>Stratagene</i>
RNase A	<i>AppliChem</i>

Für die enzymatischen Reaktionen wurde jeweils der von der Firma mitgelieferte Puffer und bei den DNA-Polymerasen auch die mitgelieferte MgCl₂-Stocklösung beziehungsweise bei der PNK die mitgelieferte ATP-Stocklösung verwendet.

6.11 Kitsysteme, modifizierte Sepharose/Agarose, Färbelösungen

ThermoScript RT-PCR-System	<i>Invitrogen Life Technologies</i>
Megascript Sp6-Kit	<i>Ambion</i>
Riboprobe Combination System T7/Sp6	<i>Promega</i>
TNT Reticulocyten Lysate System	<i>Promega</i>
Coupled TNT Reticulocyten Lysate System	<i>Promega</i>
Mini Quick Spin DNA Columns	<i>Roche</i>
QIAEXII Gel Extraction Kit	<i>Qiagen</i>
Plasmid Midi Kit	<i>Qiagen</i>
NucleoSpin-Plasmid-Kit	<i>Macherey-Nagel</i>
NucleoBond PC 100 Kit	<i>Macherey-Nagel</i>
ABC-Elite Kit	<i>Vector</i>
Sigma Fast DAB Tabletten	<i>Sigma</i>
H ₂ O ₂ -Puffertablette	<i>Sigma</i>
IntenSE™ Silver Enhancement Reagents	<i>Amersham Biosciences</i>
SuperSignal West Pico Chemiluminescent Substrate	<i>Pierce</i>
Dynabeads® oligo(dT) ₂₅	<i>Dynal</i>
Ni-NTA-Agarose	<i>Qiagen</i>
Glutathion Sepharose™ 4B Fast Flow	<i>Amersham Biosciences</i>
Protein A Sepharose	<i>Fluka</i>
NHS-Sepharose	<i>Amersham Biosciences</i>
Brilliant Blue Reagenz	<i>Biorad</i>
Ponceau-S-Lösung	<i>Sigma</i>
<i>Complete EDTA free tablets</i>	<i>Roche</i>

6.12 Bakterien- und Hefestämme, eukaryotische Zelllinien

Bakterienstämme (Derivate von E. coli)

HB101	<i>Promega</i>
XL-1 Blue	<i>Stratagene</i>
M15 [pREP4]	<i>Qiagen</i>
BL-21	<i>Stratagene</i>

Hefestämme

CG-1945	Feilotter et al., 1994
Y187	Harper et al., 1993

HEK293

humane embryonale Nierenzellen

6.13 Sonstige Materialien

Plastikwaren	<i>Beckmann, Eppendorf, Falcon, Franke, Nunc</i>
SuperFrost-Objektträger	<i>Roth</i>
Deckgläser	<i>Roth</i>
DPX Mountant for Histology	<i>Fluka</i>
Tissue-Tek	<i>Miles</i>
Trockeneis	<i>Chemikalienlager FU</i>
Rasierklängen	<i>Wilkinson</i>
Kanülen (Sterican)	<i>Braun</i>
Skalpelle	<i>Braun</i>
Glasperlen, Säure-gewaschen	<i>Sigma</i>
Parafilm	<i>Roth</i>
<i>Superflow Columns</i>	<i>Qiagen</i>
Nadir®-Dialyseschlauch	<i>Roth</i>
Magermilchpulver	<i>Glücksklee</i>
Nitrocellulosemembran	<i>Schleicher&Schüll</i>
Gelblottingpapier	<i>Schleicher&Schüll</i>
Klarsichtfolie	<i>Saran</i>
Centricons	<i>Amicon Bioseparations</i>
Faltenfilter	<i>Schleicher&Schüll</i>
Neubauer Zählkammer	<i>Braun</i>
NTB-2 Nuclear Tracking Emulsion	<i>International Biotechnologies Inc.</i>
Entwicklerlösung D19	<i>Kodak</i>
Entwickler für Röntgenfilme	<i>Retina</i>
Fixierer für Röntgenfilme	<i>Retina</i>
<u>Röntgenfilme:</u>	
BioMax MR	<i>Kodak</i>
X-Omat Blue	<i>Kodak</i>
Hyperfilm	<i>Amersham Biosciences</i>
<u>Software für Bildbearbeitung und statistische Auswertungen:</u>	
Excel	<i>Microsoft</i>
FreeHand 10	<i>Macromedia Inc</i>
Photoshop 7.0	<i>Adobe</i>
TINA 2.09g	<i>raytest</i>
<u>Software für Sequenzvergleiche:</u>	
CLUSTAL W	http://www.ebi.ac.uk/clustalw/# , (Thompson et al., 1994)
BLAST <i>Align Two Sequences</i>	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/bl2seq/bl2.html , bl2seq (Tatusova und Madden, 1999)
PredictNLS server	http://cubic.bioc.columbia.edu/predictNLS/ , (Cokol et al., 2000)
Pfam 11.0	http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/index.shtml (Bateman et al., 2004)
BLASTN 2.2.7	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/ (Altschul et al., 1997)
<u>Datenbanken im Internet:</u>	
BLOSUM62	Substitutionsmatrix (Henikoff und Henikoff, 1992)
FASTA BLAST Datenbanken	FASTA BLAST databases ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/blast/db/FASTA/
MBL <i>mouse brain library</i>	http://www.mbl.org/main.html , ursprüngliche Druckversion: Franklin und Paxinos, 1997

6.14 Puffer, Lösungen und Medien

3-Aminotriazol-Stocklösung, 1 M

8,41 g 3-Amino-1,2,4-Triazol
in 100 ml H₂O, sterilfiltriert

Ammoniumacetatlösung, 0,3 M

23,12 g Ammoniumacetat
in 1 l H₂O

Ammoniumsulfatlösung

10 M Ammoniumsulfat (13,2 g/l)
in H₂O

Ampicillinstocklösung

100 mg/ml Ampicillin
in H₂O, sterilfiltriert

Antikörperverdünnungslösung (DAB)

1 % (v/v) Pferde-Serum
0,2 % (w/v) BSA
in PBS

Antikörperverdünnungslösung A (IG)

0,5 % (w/v) BSA-C
0,1 % (w/v) *Cold water fish gelatine*
in PBS

Antikörperverdünnungslösung B (IG)

0,2 % (w/v) BSA-C
0,1 % (w/v) *Cold water fish gelatine*
in PBS

APS-Lösung, 10 %

10 g Ammoniumpersulfat
in 100 ml H₂O

Binding Buffer

20 mM Tris-HCL, pH 7,5 (3,15 g/l)
1 M Lithiumchlorid (42,39 g/l)
2 mM EDTA (7,44 g/l)
in H₂O

Blockierlösung (DAB)

10 % (v/v) Pferde-Serum
0,2 % (w/v) BSA
in PBS

Blockierlösung (IG)

5 % (v/v) Ziegen-Serum
0,5 % (w/v) BSA
0,1 % (w/v) *Cold water fish gelatine*
in PBS

BSA-Stocklösung

5 mg/ml BSA
in PBS

Coomassiefärbelösung

0,125 (w/v) Coomassie Brilliant Blue
R 250
10 % (v/v) Essigsäure
50 % (v/v) Ethanol
in H₂O

Chloroform/Isoamylalkohol

24 ml Chloroform
1 ml Isoamylalkohol

Cycloheximidstocklösung

200µg/ml Cycloheximid
in DMSO, sterilfiltriert

Denhardt, 100x

5 g Ficoll
5 g Polyvinylpyrrolidon
5 g BSA
in 500 ml H₂O

DEPC-H₂O

0,1 % DEPC in H₂O
über Nacht bei 37°C,
autoklavieren

DNA-Probenpuffer, 10x

20 % (w/v) Ficoll
100 mM EDTA (3,72 g/10 ml)
0,25 % (w/v) Bromphenolblau
0,25 % (w/v) Xylencyanol
in H₂O

DTT-Lösung, 1M

1,54 g Dithiotreitol
in H₂O

DTT-Lösung, 500 mM

0,77 g Dithiotreitol
in H₂O

EDTA-Lösung, 200 mM

7,44 g/l EDTA
in H₂O, pH 8

Entfärbelösung

10 % (v/v) Essigsäure
50 % (v/v) Ethanol
in H₂O

Ethanol-Lösung, 70 %

70 % (v/v) Ethanol abs.
in H₂O

Fraktionierungspuffer

0,25 M Sucrose (85,58 g/l)
 50 mM Tris-HCl, pH 7,5 (7,88 g/l)
 25 mM Kaliumchlorid (1,86 g/l)
 5 mM MgCl₂·6H₂O (1,03 g/l)
 in H₂O

Geltrocknungslösung

7 % (v/v) Glycerin
 7 % (v/v) Essigsäure
 in H₂O

GST-Elutionspuffer

50 mM Tris-HCl, pH 9,0 (7,88 g/l)
 20 mM GSH (reduziertes
 Glutathion) (6,16 g/l)
 in H₂O

Glycerinlösung

1 mM HEPES, pH 7,4 (0,24 g/l)
 10 % (v/v) Glycerin
 in H₂O

Glykogenlösung

10 mg/ml Glykogen
 in H₂O

Goldchloridlösung, 0,05 %

5 mg Goldchlorid
 in 10 ml H₂O

HCl-Lösung, 0,1 M

4,65 g/l HCl
 in H₂O

Hefelysislösung

2 % (w/v) Triton X100
 1 % (w/v) SDS
 100 mM NaCl (5,84 g/l)
 10 mM Tris-HCl, pH 8,0 (1,58 g/l)
 1 mM EDTA (37,2 mg/l)
 in H₂O

HEK293-Medium

500 ml Dulbecco's MEM
 mit L-Glutamin (4 mM)
 50 ml Fötale Kälber-Serum
 5 ml Penicillin/Streptomycin-
 Lösung (100x)

Hepespuffer, 1 mM

1 mM HEPES, pH 7,4 (0,24 g/l)
 in H₂O

Hepespuffer, 50 mM++

50 mM HEPES, pH 7,4 (12 g/l)
 in H₂O

Homogenisierungspuffer

150 mM KCl (11,18 g/l)
 30 mM MgCl₂·6H₂O (6,1 g/l)
 120 mM Tricin (21,5 g/l)
 1 mM DTT (1,54 mg/l) DTT
 0,1% (v/v) Triton X-100
 in H₂O, pH 7,4

Hybridisierungslösung

4x SSC
 50 % (v/v) Formamid
 1x Denhardt
 5 % (w/v) Dextransulfat
 0,5 mg/ml Heringssperma-ssDNA
 0,25 mg/ml Hefe tRNA

Imidazolösung, 1 M

6,81 g Imidazol-HCl
 in 100 ml H₂O

Immunopräzipitationspuffer

50 mM Tris-HCl, pH 7,4 (7,88 g/l)
 100 mM NaCl (5,84 g/l)
 0,5 % (v/v) Igepal
 in H₂O

IPTG-Stocklösung

1 M IPTG (238,3 g/l)

Kainatlösung

4 mg/ml Kainat
 in PBS

Kaliumchloridstocklösung

3 M Kaliumchlorid (223,65 g/l)
 in H₂O

Kanamycinstocklösung

50 mg/ml Kanamycin
 in H₂O, sterilfiltriert

Kopplungspuffer

0,1 M NaHCO₃ (8,4 g/l)
 0,5 M NaCl (29,22 g/l)
 in H₂O, pH 7,5

Lithiumacetatlösung, 1 M

6,6 g Lithiumacetat
 in 100 ml H₂O, autoklavieren

Lithiumchloridlösung, 8 M

33,92 g Lithiumchlorid
 in 100 ml H₂O

Luria-Bertani (LB)-Medium

10g/l Pepton
 5g/l Hefeextrakt
 10g/l NaCl
 auf pH 7,0 mit NaOH einstellen
 in H₂O, autoklavieren

LB-Ampicillin-Medium

LB-Medium, autoklaviert
100 µg/ml Ampicillin

LB-Kanamycin-Medium

LB-Medium, autoklaviert
25 µg/ml Kanamycin

LB-Ampicillin-Agaroseplatten

15 g Agar
100 µg/ml Ampicillin
1 l LB-Medium
autoklavieren

LB-Kanamycin-Agaroseplatten

15 g Agar
1 l LB-Medium, autoklaviert
25 µg/ml Kanamycin

Lysepuffer B (denaturierend)

100 mM NaH₂PO₄ (12,1 g/l)
10 mM Tris-HCl (1,58g/l)
8 M Urea (480,5 g/l)
mit NaOH auf pH 8 einstellen
in H₂O

Magermilchlösung, 10 %

10 % (w/v) Magermilchpulver
in PBS-T

Methylgrünfärbelösung

0,5 % (w/v) Methylgrün
in H₂O, filtrieren

MgCl₂-Lösung, 2 M

19 g Magnesiumchlorid
in 1 l H₂O, autoklavieren

10x MOPS-Puffer

200 mM MOPS (41,85 g/l)
50 mM Natriumacetat (4,1 g/l)
10 mM EDTA (0,37 g/l)
pH 7,0, in DEPC-H₂O

Natriumacetatlösung, 3 M, pH 5,2

246 g/l Natriumacetat
in H₂O, mit Essigsäure auf pH 5,2
einstellen

Natriumacetatlösung, 150 mM

36,91 g/l Natriumacetat
in H₂O

Natriumacetatlösung, 100 mM

8,2 g/l Natriumacetat
in H₂O

Natriumborhydridlösung, 1 %

1 % (w/v) Natriumborhydrid
in PBS

Natriumcarbonatlösung, 150 mM

15,9 g/l Natriumcarbonat
in H₂O

Natriumchlorid-Lösung, 500 mM

29,2 g/l Natriumchlorid
in H₂O

Natriumthiosulfatlösung

100 mM Natriumthiosulfat
(15,81 g/l)
200 mM Hepes (47,6 g/l)
in H₂O, pH 7,4

Nickelammoniumsulfatlösung

3 % (w/v) Nickelammoniumsulfat
in H₂O

Osmiumlösung, 1 %

1 % (w/v) Osmium
in PBS

Paraformaldehydlösung, 4 %

4 % (w/v) Paraformaldehyd
in PBS, pH 7,4, filtrieren

Proteaseinhibitor, 25x

1 Tablette *Complete EDTA-free*
in 2 ml H₂O

PBS

1,9 mM NaH₂PO₄ (0,23 g/l)
8,1 mM Na₂HPO₄ (1,15 g/l)
154 mM NaCl (9 g/l)
in H₂O, pH ~7,4, autoklavieren

PBS-T

0,1 % (v/v) Tween
in PBS

PEG-Lösung, 50 %

50 % (v/v) Polyethylenglycol
(MW 4000) in H₂O, sterilfiltrieren

PIPES-Puffer, 0,5 M

15,1 g PIPES
in 100 ml H₂O, mit 5 M KOH auf pH
6,7 einstellen, Lagerung
bei -20°C

Puffer C (denaturierend)

100 mM NaH₂PO₄ (12,1 g/l)
10 mM Tris-HCl (1,58 g/l)
8 M Urea (480,5 g/l)
mit HCl auf pH 6,3 einstellen
in H₂O

Puffer D (denaturierend)

100 mM NaH₂PO₄ (12,1 g/l)
 10 mM Tris-HCl (1,58 g/l)
 8 M Urea (480,5 g/l)
 mit HCl auf pH 5,9 einstellen
 in H₂O

Ribosomengradientenpuffer

100 mM Kaliumchlorid (7,46 g/l)
 10 mM Kaliumacetat (0,98 g/l)
 2 mM MgCl₂·6H₂O (0,41 g/l)
 1 mM DTT (3,72 g/l)
 5 mM Hepes, pH 7,3 (1,19 g/l)
 in H₂O

Ribosomenlysepuffer

10 mM Kaliumacetat (0,98 g/l)
 2 mM Magnesiumacetat (0,43 g/l)
 2 mM DTT (7,44 g/l)
 5 mM Hepes, pH 7,3 (1,19 g/l)
 in H₂O

Ripapuffer

10 mM Tris-Cl, pH 7,4 (1,58 g/l)
 150 mM Natriumchlorid (8,76 g/l)
 0,5 % (v/v) Igepal
 0,01 % (w/v) Natriumdesoxycholat

RNA-Probenpuffer

20 µl 10x MOPS-Puffer
 30 µl Formaldehyd
 100 µl Formamid
 1 µl Ethidiumbromidlösung

RNAse-Puffer

500 mM Natriumchlorid (29,22g/l)
 10 mM Tris-HCl, pH8 (1,58 g/l)
 1 mM EDTA (37 mg/l)
 in H₂O

Rotiblock, 1x

1 ml Rotiblock
 in 10 ml H₂O

Sarcosyllösung, 10 %

10 % (v/v) Sarcosyl
 in 1x SET-Puffer

SDS-Laufpuffer

25 mM Tris-Base (3,03 g/l)
 192 mM Glycin (14,41 g/l)
 0,1 % (w/v) SDS
 in H₂O

SDS-Lösung, 10 %

100 g Natriumdodecylsulfat
 in 1 l H₂O

SDS-Probenpuffer, 2x/5x

100/250 mM Tris-HCl, pH 6,8
 (15,8 g/l / 39,5 g/l)
 4/10 % (w/v) SDS
 20/50 % (w/v) Glycerin
 200/500 mM DTT
 (30,86 g/l / 77,15 g/l)
 in H₂O

Selected-Dropout (SD)-Medium

27 g Dropout Base (DBO)
 in 1 l H₂O

SD-L-Medium

0,69 g Complete Supplement
 Mixture (CSM)-Leu
 in 1 l SD-Medium, autoklavieren

SD-W-Medium

0,74 g CSM-Trp
 in 1 l SD-Medium, autoklavieren

SD-LC-Platten

0,69 g CSM-Leu
 20 g Select Agar
 in 1 l SD-Medium, autoklavieren
 1 mg/l Cycloheximid dazu

SD-W-Platten

0,77 g CSM-His
 20 g Select Agar
 in 1 l SD-Medium, autoklavieren

SD-WL-Platten

0,64 g CSM-Leu-Trp
 20 g Select Agar
 in 1 l SD-Medium, autoklavieren

SD-WLH-Platten

0,62 g CSM-His-Leu-Trp
 20 g Select Agar
 in 1 l SD-Medium, autoklavieren

SET-Puffer

10 mM Tris-HCl, pH 8 (1,58 g/l)
 1 mM EDTA (37 mg/l)
 150 mM Natriumchlorid (8,76 g/l)
 in H₂O, autoklavieren

SOB-Medium

20 g Pepton
 5 g Hefe-Extrakt
 0,5 g Natriumchlorid
 25 mM Kaliumchlorid (0,19 g/l)
 in 1 l H₂O, mit NaOH auf pH 7,0
 einstellen, autoklavieren,
 + 5 ml 2 M MgCl₂-Lösung

Strippingpuffer

62,5 mM Tris-HCl, pH6,8
 (9,85 g/l)
 2 % (w/v) SDS
 0,7 (v/v) β -Mercaptoethanol (frisch
 dazu geben)
 in H₂O

SSC, 20x

3 M Natriumchlorid (175,32 g/l)
 0,3 M Natriumcitrat (Dihydrat 88,29
 g/l)
 in H₂O, pH 7,0

TAE, 1x

40 mM Tris-Base (242,4 g/l)
 1 mM EDTA
 mit Essigsäure auf pH 8,4 einstellen

TBS-T-Puffer

150 mM NaCl
 10 mM Tris-HCl pH8,8
 1 % (v/v) TritonX-100
 5 % (v/v) Glycerin

Transferpuffer

25 mM Tris-Base (3,03 g/l)
 192 mM Glycin (14,41 g/l)
 0,01 % (w/v) SDS
 20 % (v/v) Methanol
 in H₂O

Transformation Buffer

10,88 g MnCl₂·4H₂O (55 mM)
 2,2 g CaCl₂·H₂O (15 mM)
 18,65 g KCl (250 mM)
 in 800 ml H₂O lösen, mit KOH auf pH
 6,7 einstellen,
 20 ml 0,5 M PIPES-Puffer
 ad 1 l H₂O, sterilfiltrieren

Triethanolaminlösung, 0,1 M, pH 8

14,92 g/l Triethanolamin
 in H₂O, pH 8

Tris-HCl

-1 M, pH 6,8 (157,6 g/l)
 in H₂O, mit HCl einstellen
 - 1,5 M, pH 8 (236,4 g/l)
 in H₂O, mit HCl einstellen
 - 100 mM, pH 8 (15,76 g/l)
 in H₂O, mit HCl einstellen

TritonX-100-Lösung, 10 %

10 % (v/v) TritonX-100
 in 1x SET

Urea-Lösung (1 M)

1 M Urea (60 g/l)
 in H₂O

Vorspüllösung

0,9 % (w/v) Natriumchlorid
 0,01 % (w/v) Heparin
 in H₂O

Washing Buffer

10 mM Tris-HCl, pH 7,5 (1,58 g/l)
 150 mM Lithiumchlorid (6,36 g/l)
 1 mM EDTA (3,72g/l)

X-gal-Stocklösung

40 mg/ml X-gal
 in DMSO, dunkel und bei -20°C lagern

YPD-Medium

20 g Pepton
 10 g Hefe Extrakt
 in 900 ml H₂O, autoklavieren
 100 ml 20 % (w/v) Glucose-Lösung,
 sterilfiltriert

YPD-Agarplatten

20 g Pepton
 10 g Hefe Extrakt
 20 g Select Agar
 in 900 ml H₂O, autoklavieren
 100 ml 20 % (w/v) Glucose-Lösung,
 sterilfiltriert

Zinkchloridlösung, 1M

13,6 g ZnCl₂ in 100 ml DEPC-H₂O

Z-Puffer

60 mM Na₂HPO₄·7H₂O (16,1 g/l)
 40 mM NaH₂PO₄·H₂O (5,5 g/l)
 10 mM Kaliumchlorid (0,75 g/l)
 1 mM MgSO₄·7H₂O (0,246 g/l)
 in H₂O, pH 7,0, autoklavieren