

## 9. Anhang

### A1. Tabellarische Zusammenfassung der verwendeten Materialien

#### A1.1 Zellkultivierung

##### Gewebepräparation und Zellisolierung

---

Dulbecco's PBS ohne $\text{Ca}^+/\text{Mg}^{2+}$	Biochrom (Berlin)
Penicillin-Streptomycin-Lösung	Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)
Trypsin-EDTA-Lösung (0.25%)	Sigma-Aldrich
Zentrifugenröhrchen	Nunc (Rochester, NY, USA), Iwaki/ATG (Tokyo, Japan)

---

##### Zellkultivierung und -passagierung

---

Dulbecco's PBS ohne $\text{Ca}^+/\text{Mg}^{2+}$	Biochrom
Dulbecco's PBS mit $\text{Ca}^+/\text{Mg}^{2+}$	Biochrom
Kollagen A	Biochrom
Medium 199	Sigma-Aldrich
Fetales Kälberserum	Biochrom
L-Glutamin	Sigma-Aldrich
HEPES-Puffer	Sigma-Aldrich
Nystatin-Suspension	Sigma-Aldrich
Kanamycin-Lösung	Sigma-Aldrich
Gentamycin-Lösung	Sigma-Aldrich
Trypsin-EDTA-Lösung (0.25%)	Sigma-Aldrich
Dulbecco's MEM	Biochrom
Ham's F-12	Biochrom
Trypanblau (0.5%)	Biochrom
Zentrifugenröhrchen	Nunc, Iwaki/ATG
Zellkulturflaschen	Nunc
Zellkulturschalen	TPP (Trasadingen, Schweiz)

---

## A1.2. Versuchsdurchführung

### Fluoreszenzspektrometrie

---

Hanks' Salzlösung	Biochrom, Sigma-Aldrich
Dulbecco's PBS modifiziert m. NMDG	Biochrom
Reinstwasser (steril)	Biochrom
Bovine Serumalbuminlösung (Fraktion V) 7.5%	Sigma-Aldrich
A-23187 (Calcimycin), freie Säure	Molecular Probes (Eugene, OR, USA)
Mag-fura-2 (Tetrapotassium-Salz, zellimpermeabel)	Molecular Probes
NanoOrange <sup>®</sup> Proteinquantifizierungskit	Molecular Probes
Imipramin	ICN Biomedicals (Irvine, CA, USA)
Cobalt(III)hexamin	Gabe aus dem Institut für Mikrobiologie und Genetik (Prof. Rudolf J. Schweyen, Universität Wien)
Prostaglandin E <sub>2</sub>	Calbiochem (San Diego, CA, USA)
db-cAMP	Sigma-Aldrich
Mag-fura-2 AM (zellpermeabel)	Molecular Probes
BCECF AM (zellpermeabel)	Molecular Probes
SBFI AM (zellpermeabel)	Molecular Probes
Pluronic F-127 (20%ige Lösung in DMSO)	Molecular Probes
Gramicidin	Molecular Probes
Nigericin	Molecular Probes
Digitonin	Sigma-Aldrich
EDTA	Sigma-Aldrich

---

### Immunzytochemie

---

Maus-anti-Cytokeratin-Pan-Antikörper, Klon Lu5	Chemicon International (Temecula, CA, USA)
Anti-Maus-Ig-Antikörper, mit an das F(ab') <sub>2</sub> -Fragment konjugiertem Fluorescein	Chemicon International
Dulbecco's PBS	Biochrom
Fetales Kälberserum	Biochrom
Kammerdeckgäser (Kammerstruktur entfernbar)	Nunc

---

## A2. Verwendete Medien

---

Zellkulturmedium 1	Medium 199 mit 15% fetalem Kälberserum, 6.8 ml/l L-Glutamin (200 mmol/l), 20 ml/l HEPES-Puffer (1 mol/l), $2.4 \cdot 10^5$ U/l Nystatin, 50 mg/l Gentamycin, 100 mg/l Kanamycin
Zellkulturmedium 2	Medium 199 mit 10% fetalem 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
Einfriermedium	HAM's F-12 oder Dulbecco's MEM mit 10% FBS, 10% Glycerin oder DMSO, 0.5% Glukoselösung (20%), 1% Penicillin-Streptomycin-Lösung
Beladungsmedium (pH = 7.1)	Reinstwasser mit 130 mmol/l K-Glukonat, 15 mmol/l KCl, 10 mmol/l NaCl, 10 mmol/l HEPES, 6 mmol/l MgCl <sub>2</sub> , 6 µmol/l A-23187
Waschmedium zum Entfernen von A-23187 (pH = 7.1)	Reinstwasser mit 130 mmol/l K-Glukonat, 15 mmol/l KCl, 10 mmol/l NaCl, 10 mmol/l HEPES, 6 mmol/l MgCl <sub>2</sub> , boviner Serumalbuminlösung (1%, Fraktion V)
Medium 199 Hanks modifiziert	Medium 199 Hanks ohne L-Glutamin, Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup>
Dulbecco's PBS modifiziert m. NMDG	Dulbecco's PBS mit 144.99 mmol/l NMDG-Cl, 1000 g/l Glukose, ohne Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Na <sup>+</sup>

---

### A3. Gemessene Einzelwerte

zu **Abb. 31:** Abhängigkeit der  $Mg^{2+}$ -Abgabe aus PEZ von der  $[Na^+]_e$

$[Na^+]_e$ (mmol/l)	0	2.5	5	10	20	50	80	145
$[Mg^{2+}]_e$ (mmol/l)	0.11	1.26	2.53	4.12	5.53	10.00	9.10	8.50
nach 15 Minuten	0.35	1.58	2.37		4.09	10.75	9.15	16.14
	0.36	1.42	2.40		4.71	6.80	5.67	5.52
			0.17		2.38	7.76	9.35	7.34
					1.02	7.78		
						7.79		

zu **Abb. 34:** Einfluss von Imipramin auf den  $Mg^{2+}$ -Efflux

$[Mg^{2+}]_e$ der Kontrolle (mmol/l)	$[Mg^{2+}]_e$ der Imipraminmessung (mmol/l)
5.01	2.10
5.08	1.87
5.21	3.77
4.87	
5.04	
4.47	

zu **Abb. 36:** Einfluss von Cobalt(III)hexamin auf den  $Mg^{2+}$ -Efflux

$[Mg^{2+}]_e$ der Kontrolle (mmol/l)	$[Mg^{2+}]_e$ der Cobalt(III)hexaminmessung (mmol/l)
5.01	4.40
5.08	6.55
5.21	3.78
4.87	
5.04	
4.47	

zu **Abb. 37:** Effekt der kombinierten Gabe von Imipramin und Cobalt(III)hexamin auf die  $Mg^{2+}$ -Abgabe

$[Mg^{2+}]_e$ der Kontrolle (mmol/l)	$[Mg^{2+}]_e$ der Blockermessung (mmol/l)
5.01	2.56
5.08	2.08
5.21	2.41
4.87	
5.04	
4.47	

zu **Abb. 39:** Einfluss von db-cAMP auf den  $Mg^{2+}$ -Efflux

$[Mg^{2+}]_e$ der Kontrolle (mmol/l)	$[Mg^{2+}]_e$ der db-cAMP-Messung (mmol/l)
5.01	8.34
5.08	8.08
5.21	6.54
4.87	
5.04	
4.47	

zu **Abb. 40:** Einfluss des Na<sup>+</sup>-Entzugs auf die db-cAMP-stimulierte Mg<sup>2+</sup>-Abgabe

Zeit (min)	[Mg <sup>2+</sup> ] <sub>e</sub> der Kontrolle (mmol/l)	[Mg <sup>2+</sup> ] <sub>e</sub> der db-cAMP-Messung (mmol/l)
5	0.00	0.13
	0.11	0.10
	0.11	0.17
	0.11	
10	0.02	0.19
	0.23	0.17
	0.23	0.18
	0.19	
15	0.11	0.26
	0.35	0.22
	0.36	0.23
	0.28	

zu **Abb. 41:** Einfluss von PGE<sub>2</sub> auf den Mg<sup>2+</sup>-Efflux

[Mg <sup>2+</sup> ] <sub>e</sub> der Kontrolle (mmol/l)	[Mg <sup>2+</sup> ] <sub>e</sub> der PGE <sub>2</sub> -Messung (mmol/l)
5.01	5.65
5.08	6.22
5.21	5.39
4.87	
5.04	
4.47	