

2. Materialien

2.1. Substrate, Cosubstrate und Inhibitoren

Folgende Substrate, Cosubstrate und Inhibitoren wurden von Sigma Chemical Co. (St. Louis M.O. USA) bezogen: Cortisol, Dexamethason, β -NAD⁺(Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid)-Monosodium-Salz, β -NAD⁺ (Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid), β -NADPH-Tetrasodiumsalz, β -NADH-Disodiumsalz, 18 β -Glycyrrhetinsäure, Carbenoxolon, 11 α -OH-Progesteron, 11 β -OH-Progesteron, 5 α -Dihydroprogesteron, 5 β -Dihydroprogesteron, 20 β -OH-Progesteron, Deoxycorticosteron (DOC), Chenodeoxycholsäure (CDCA), Lithocholsäure. Von Steraloids Inc (Wilton, NH, USA) stammen 3 α ,5 β -Tetrahydro-Deoxycorticosteron und 3 α ,5 β -Tetrahydro-Progesteron, während Metopiron von Fluka AG (Buchs, Schweiz) und Ketokonazol von Biotrend GmbH (Köln) bezogen wurden. Das unmarkierte 11-Dehydro-Dexamethason war ein Geschenk der Schering AG (Berlin). Die radioaktiven Tracer [1,2,6,7-³H]-Cortisol (spezifische Aktivität: 41 Ci/mmol) und [1,2,4,6,7-³H]-Dexamethason (spezifische Aktivität 70 Ci/mmol) wurden von DuPont de Nemours GmbH (Bad Homburg) bzw. Amersham International plc (Buckinghamshire, England) bezogen.

2.2. Chemikalien und Materialien für Mikrosomen- und [1,2,4,6,7-³H]-Oxo-Dexamethason-Herstellung, Proteinbestimmung, Inkubation, Analytik und Tracerreinigung

Für die Mikrosomenherstellung und -inkubation wurden Dinatrium-Hydrogenphosphat-Dihydrat (Na₂HPO₄ * 2H₂O) und Natrium-Dihydrogenphosphat-Monohydrat (NaH₂PO₄ * H₂O) von Merck Ltd. (Darmstadt) und Sucrose von Sigma Chemical Co. (St. Louis M.O. USA) zur Pufferherstellung benutzt.

Bei der Herstellung von [1,2,4,6,7-³H]-Oxo-Dexamethason wurde Chrom-VI-Oxid (CrO₃) der Firma Merk (Darmstadt) verwendet. Zur Aufreinigung wurden Sep-Pak[®] C₁₈-Kartuschen von Waters Millipore GmbH (Eschborn) benutzt und zur Messung das Szintillat Ultima Gold[®] von Packard (Frankfurt).

Die Proteinbestimmung erfolgte mit einem Protein-Assay der Firma Bio-Rad (Hercules, USA). Zusätzliches Rinderserumalbumin als Proteinstandard wurde von der Behring AG (Marburg) gekauft.

Die für die Analytik benutzten Kieselgel 60 F₂₅₄ Dünnschichtchromatographie-Platten (20 x 20 cm mit Konzentrierungszone) stammen von Merck Ltd. (Darmstadt). Die Szintillationsflüssigkeit Instagel Plus[®] wurde von Packard (Frankfurt) erstanden.

Als Laufmittel für die HPLC oder Dünnschichtchromatographie bzw. als Lösungsmittel wurden folgende Reagenzien von LiChrosolv[®] verwendet: Methanol, Dichlormethan, n-Hexan, Isopropanol und Ethylacetat.

2.3 Geräte

Folgende Geräte wurden verwendet:

Allgemein:

- Feinwaage der Sartorius Werke AG (Göttingen)

Mikrosomenherstellung:

- pH-Meter 761 Calimatic von Knick
- Ultra-Turrax TP18\10 von Janke & Kunkel GmbH (Ika-Werke, Staufen)
- Potter S von B. Braun
- Sorvall[®]-Zentrifuge RC5C mit Rotor SA von 600 von DuPont
- Ultrazentrifuge L855 mit Rotor 60 Ti von Beckmann

Proteinbestimmung:

- Spectro-Photometer Uvikon 930 von Kontron Instruments (Neufahrn)

Steroidherstellung, -reinigung, -analytik:

- β -Szintillationszähler Minaxi Tri-Carb[®] 4000 Series von Packard Instruments B.V. (Groningen, Niederlande)
- UV-Lampe Fluotest[®] von Universal

- HPLC-Anlage:
 - Säule: 250x4,0 mm LiChrosorb-Diol-normal-phase-HPLC-Säule (Partikelgröße 5 µm) von VDS-Optilab (Berlin)
 - Vorsäule: Normal-phase Vorsäule LiChrosorb-Diol (Partikelgröße 5µm) von VDS-Optilab (Berlin)
 - Fließmittel-Entgasungsgerät: Degasys DG 1200 von Uniflows Co. Ltd. (Tokyo, Japan)
 - Pumpe: Solvent delivery system 6000 A von Waters Millipore (Milford, MA, USA)
 - Probenaufgeber: Sample processor WISP 710 A von Waters Millipore (Milford, MA, USA)
 - Fließmittel-Mischregler: CIM und CSI (Sampling)
 - UV-Meßgerät (Bischoff Lambda 1000) von Bischoff GmbH (Leonberg)
 - Szintillat-Pumpe: Berthold HPLC-pump CB 5035 von Berthold GmbH (Wildbad)
 - Radioaktivitäts-Detektor: Berthold HPLC radioactivity monitor LB 506 C1 von Berthold GmbH (Wildbad)

2.4. Gewebe

Das menschliche Lebergewebe stammt von 15 Patienten zwischen 25 und 82 Jahren (9 Männer und 6 Frauen), die wegen eines hepatozellulären Karzinoms oder wegen Kolonkarzinommetastasen eine Leberteilektomie in der chirurgischen Abteilung des Virchow-Klinikums Berlin (Leitung: Prof. Neuhaus) erhielten. Makroskopisch gesunde Anteile der Resektate wurden sofort nach Entnahme in flüssigem Stickstoff tiefgefroren.

Das Nierenrindengewebe stammt von Patienten, die wegen eines Nierenzellkarzinoms in der urologischen Abteilung des Universitätsklinikums-Benjamin-Franklin (Leitung: Prof. Miller) nephrektomiert wurden (insgesamt 3 weibliche und 3 männliche Patienten zwischen 47 und 81 Jahren). Das Gewebe wurde in gekühlter Ringerlösung zwischen der Entnahme und der Begutachtung durch einen Pathologen aufbewahrt. Die für den Pathologen entbehrlichen gesunden Anteile wurden anschließend in flüssigem Stickstoff tiefgefroren.