

5 MATERIAL

5.1 Geräte

5.1.1 Elektrophorese und Elektroblot

- Vertikal-Elektrophorese-System für Minigele (CBS, Del Mar, USA)
- Tankblot-Apparatur Transblot-Cell (Biorad, München)
- Gelrockner 583 (Bio-Rad, München)

5.1.2 Zellkultur

- Begasungsbrutschrank BB 6220 (Heraeus-Christ, Hanau)
- Lichtmikroskop Axiovert 25 (Zeiss, Jena)
- Sterile Werkbank Herasafe (Heraeus-Christ, Hanau)
- Homogenisator nach Potter-Elvehjem (Braun, Melsungen)

5.1.3 Zentrifugen

- Tischzentrifuge 5415 (Eppendorf, Hamburg)
- Tischzentrifuge 5402, kühlbar (Eppendorf, Hamburg)
- Zellzentrifuge Megafuge 2.0 R (Heraeus-Christ, Hanau)
- Kühlzentrifuge EvolutionRC (Sorvall / Du Pont, Bad Homburg)
- Hochgeschwindigkeitszentrifuge Optima L-90 K (Beckman-Coulter, München)

5.1.4 Chromatographie

- Mitteldruckchromatographieranlage Äkta Explorer (Pharmacia, Freiburg)
- Anionenaustauschersäule Mono Q HR 5 / 5 (Pharmacia, Freiburg)
- Hydrophobe-Interaktionschromatographie-Säule Resource ISO (Pharmacia, Freiburg)

5.1.5 ELISA

- Mikroplattenschüttler IS98 (Wesbart LTD, England)
- Mikrowell Waschvorrichtung Nunc-Immuno Wash 8 (Nunc, Wiesbaden)
- Mikroplattenphotometer Spectra MAX 340 PC (Molecular Devices, Sunnyvale, Kalifornien, USA)

5.1.6 Sonstige Geräte

- Vakuumkonzentrator CentriVac (Heraeus, Berlin)

- Analysenwaage BP 211D (Sartorius, Göttingen)
- Fluoreszenzphotometer Spectra MAX Gemini (Molecular Devices, Sunnyvale, Kalifornien, USA)
- Entwicklermaschine Optimax Typ TR (Ms Laborgeräte Heidelberg)
- Lumiimager FujiFilm LAS-1000 (FujiFilm, Düsseldorf)
- Lyophilisator Lyovac GT-2 (Heraeus, Berlin)

5.2 Verbrauchsmaterial

- Mikrokollodiumhülsen SM 13202 (Sartorius, Göttingen)
- Mikroplatten Maxi Sorb U16 Module (Nunc, Wiesbaden)
- Nitrozellulosemembran HybondECL (Pharmacia, Freiburg)
- PVDF-Sequenziermembran Immobilon-P^{SQ} (Millipore, Bedford, USA)
- Filterpapier Whatman 3MM (Whatman International Ltd., Maidstone, GB)
- Röntgenfilme Biomax MR-1 (Kodak, Stuttgart)
- Sterile Einwegmaterialien wie Zellkulturgefäße, Pipetten und Schraubdeckelröhrchen für die Zellkultur (Nunc, Wiesbaden oder Falcon / Beckton-Dickinson, Heidelberg)
- Sterilfilter, Minisart, Porengröße 0,2 µm (Sartorius, Göttingen)
- Visking Dialyseschläuche, Ausschlussgrenze 12 bis 14 kDa (Roth, Karlsruhe)

5.3 Zellkulturmaterial

- Dulbecco-PBS⁺⁺ (GibcoBRL, Eggenstein)
- RPMI 1640 Medium (GibcoBRL, Eggenstein)
- L-Glutamin (200 mM) (GibcoBRL, Eggenstein)
- Penicillin / Streptomycin (10 000 U / 10 000 µg/ml) (GibcoBRL, Eggenstein)
- FCS (Biochrom, Berlin)

5.4 Chemikalien

- Acrylamid Rotiphorese GEL 30, 30 % Acrylamid, 0,8 % Bisacrylamid (Roth, Karlsruhe)
- Brij 58 (Fluka, Neu-Ulm)
- Bromphenolblau (Serva, Heidelberg)
- Coomassie Blau R-250 (Pharmacia, Freiburg)
- CHAPS, 3-[(3-Cholamidopropyl)dimethylammonio]-1-propansulfonat (Sigma, Deisenhofen)
- *Chemiluminescence Reagent Plus* (NEN Life Science Products, Boston, USA)
- Deferoxaminmesylat (Sigma, Deisenhofen)
- EZ-Link Sulfo-NHS-LC-Biotin (Pierce, Rockford, USA)

- Magermilchpulver Glücksklee (Nestlé, Frankfurt am Main)
- β -Mercaptoethanol (Merck, Darmstadt)
- NP-40 (Sigma, Deisenhofen)
- n-OGP, n-Octylglycopyranosid (Pharmacia, Freiburg)
- Natriumorthovanadat (Merck, Darmstadt)
- PMA (Sigma, Deisenhofen)
- 8-POE, Octylpolyoxyethylen (W. Kolb AG, Hedingen, Schweiz)
- SDS (Merck, Darmstadt)
- TEMED (Pharmacia, Freiburg)
- TMB (Merck, Darmstadt)
- Triton X-100 (Sigma, Deisenhofen)
- Tween 20 (Sigma, Deisenhofen)
- Wasserstoffperoxid (Merck, Darmstadt)

Alle gängigen Chemikalien wurden in p. A. Qualität von den Herstellern Merck (Darmstadt) oder Sigma (Deisenhofen) bezogen.

5.5 Proteaseinhibitoren

- Antipain (Sigma, Deisenhofen)
- Aprotinin (Sigma, Deisenhofen)
- Chymostatin (Sigma, Deisenhofen)
- E64, Trans-epoxysuccinyl-L-leucylamido-(4-guanidino)butan (Sigma, Deisenhofen)
- EDTA (Merck, Darmstadt)
- EGTA (Merck, Darmstadt)
- Elastatinal (Sigma, Deisenhofen)
- FCI, Decanoyl-Arg-Val-Lys-Arg-chlormethylketon (Alexis Biochemicals, Grünberg)
- [³H]-DFP (NEN, Boston, USA)
- Leupeptin (Sigma, Deisenhofen)
- MMP-Inhibitor-1 (Calbiochem, Schwalbach)
- MMP-Inhibitor-2 (Calbiochem, Schwalbach)
- PefablocSC (Boehringer, Mannheim)
- Pepstatin A (Sigma, Deisenhofen)
- 1,10-Phenanthrolin (Merck, Darmstadt)
- Phosphoramidon (Sigma, Deisenhofen)
- TAPI-2 (Calbiochem, Schwalbach)
- humanes TIMP-1 isoliert aus Neutrophilen (Alexis Biochemicals, Grünberg)
- humanes TIMP-2 isoliert aus Fibroblasten (Alexis Biochemical, Grünberg)
- humanes rekombinantes TIMP-3 (Calbiochem, Schwalbach)

5.6 Antikörper

5.6.1 Primärantikörper

- Monoklonaler Antikörper aus der Maus (OKT9) gegen die extrazelluläre Domäne des humanen TfR, gereinigt aus den Zellkulturüberständen der Hybridomazelllinie OKT9, 1 mg/ml (*American Type Culture Collection*, Rockville, Maryland, USA)
- Monoklonaler Antikörper aus der Maus (H68.4) gegen die cytoplasmatische Domäne des humanen TfR, 0,5 mg/ml (I. S. Trowbridge, *Department of Cancer Biology*, Salk Institute, San Diego, California, USA)
- Polyklonaler Antikörper aus dem Kaninchen (pAB063) gegen den humanen TfR (R. Geßner, Institut für Laboratoriumsmedizin und Pathobiochemie, Charité, Berlin)
- Monoklonaler Antikörper aus der Maus (AHN-10) gegen die katalytische Domäne der Neutrophilen Elastase, 0,5 mg/ml (BD Pharmingen, San Diego, CA, USA)
- Polyklonaler Antikörper aus dem Kaninchen (Anti-Cathepsin G) gegen Cathepsin G, 25,25 mg/ml (Calbiochem, Schwalbach)
- Polyklonaler Antikörper aus der Ziege (GABiotin) gegen Biotin, 1 mg/ml (Sigma, Deisenhofen)

5.6.2 Sekundärantikörper

- Kaninchen-IgG gegen Maus-IgG (RAM), 3,5 mg/ml (Dako, Hamburg)
- Kaninchen-IgG gegen Maus-IgG, HRP-(*horseradish peroxidase*-)konjugiert (RAM*), 1,3 mg/ml (Dako, Hamburg)
- Schweine-IgG gegen Kaninchen-IgG, HRP-(*horseradish peroxidase*-)konjugiert (SAR*), 1,3 mg/ml (Dako, Hamburg)
- Kaninchen-IgG gegen Ziege-IgG, HRP-(*horseradish peroxidase*-)konjugiert (RAG*), 0,5 mg/ml (Dako, Hamburg)

5.7 Weitere Proteine

- Trypsin (Sigma, Deisenhofen)
- Neutrophile Elastase (Sigma, Deisenhofen)
- Cathepsin G (Sigma, Deisenhofen)
- Plasmin (Sigma, Deisenhofen)
- Protein-A-Sepharose CL-4B (Pharmacia, Freiburg)
- Molekulargewichtsmarker BENCHMARK und BENCHMARK *prestained* (GibcoBRL, Karlsruhe)
- BSA (Sigma, Deisenhofen)
- ferri-Transferrin, human (Sigma, Deisenhofen)

- CNBr-aktivierte Sepharose (Pharmacia, Freiburg)
- Phosphatidylinositol-spezifische Phospholipase C (Sigma, Deisenhofen)

5.8 Zelllinien

- HL60, humane promyeloische Leukämiezelllinie (American Type Culture Collection)
- U937, humane histiozytäre Leukämiezelllinie (American Type Culture Collection)
- Jurkat, humane T-Zell-Leukämiezelllinie (American Type Culture Collection)
- K562, humane myeloische Leukämiezelllinie (American Type Culture Collection)

5.9 Allgemeine Puffer

- **PBS:** 8,33 mM Na₂HPO₄; 1,67 mM KH₂PO₄; 150 mM NaCl; pH 7,4
- **PBSB:** 0,2 % (w/v) Brij 58 in PBS
- **PBSB_M:** 1 % (w/v) Magermilchpulver in PBSB