

9 Anhang

9.1 Rezepturen der Puffer und Lösungen

9.1.1 Vorbereitung der Proben zur Extraktion

Coon's-Puffer (0,1 M, pH 7,2-7,6)

Na ₂ HPO ₄ x 12 H ₂ O	3,58 g
KH ₂ PO ₄	0,136 g
NaCl	8,77 g
Aqua dest.	ad 100 ml

9.1.2 Aufbereitung der Pferdekotproben

NaCl-Saccharose-Lösung

NaCl	2880 g
Saccharose	2000 g
H ₂ O	ad 8000 ml

9.1.3 DNA-Extraktion

Die DNA-Extraktion erfolgte mit den kommerziell erhältlichen Test-Kits QIAamp[®] DNA Blood Mini Kit, Dneasy[®] Tissue Kit und QIAamp[®] DNA Stool Mini Kit der Firma Qiagen (Hilden, Deutschland). Alle notwendigen Reagenzien zur Durchführung einer Extraktion waren im Kit enthalten.

9.1.4 PCR

10x PCR-Puffer (pH 8,3)

100 mM Tris	1,211 g
500 mM KCL	3,728 g
1 % Triton X-100	1 ml
DNAase u. RNAase freies Aqua dest.	ad 100 ml

50 mM-MgCl₂

MgCl ₂	0,476 g
DNAase u. RNAase freies Aqua dest.	ad 100 ml

9.1.5 Elektrophorese

10x Elektrophorese-Puffer (pH 8,0)

Tris	43,6 g
NaH ₂ PO ₄	41,4 g
EDTA	3,72 g
Aqua dem.	ad 1000 ml

Zur Herstellung von 1x Elektrophorese-Puffer wurden 50,0 ml 10x Elektrophorese-Puffer mit 450,0 ml Aqua dem. gemischt. Der Puffer wurde bei 4 °C aufbewahrt.

Probenpuffer für die Gelelektrophorese

4x TBE-Puffer	10,0 ml
FICOLL- 400	10 % (w/v)
SDS	0,4 % (w/v)
Bromphenolblau	8,0 mg

10x TBE-Puffer (pH 8,1) zur Herstellung von Probenpuffer

Tris	121,1 g
Borsäure	61,8 g
EDTA	7,44 g
MgCl ₂ x 6H ₂ O	10,165 g
Aqua dem.	ad 1000 ml

DNA-Marker

DNA Marker 100 bp	50 µl
Probenpuffer	300 µl
DNAase u. RNAase freies Aqua dest.	650 µl

Ethidiumbromid

Zur Herstellung der Stammlösung wurden 10 mg Ethidiumbromidpulver in 1 ml DNAase und RNAase freiem H₂O gelöst. Zu 25 ml Agarosegel wurden 2,5 µl dieser Stammlösung hinzugefügt, so entstand eine Endkonzentration von 0,01 %.

9.2 Reagenzien, Chemikalien und Enzyme

Agarose 2 %	Invitrogen [®] , Karlsruhe, Deutschland
Borsäure	Sigma Chemie, Steinheim, Deutschland
Bromphenolblau	Pharmacia LKB, Uppsala, Schweden
Chelex [®] 100 Resin	BIO-RAD, München, Deutschland
DNA 100 bp Marker	Invitrogen [®] , Karlsruhe, Deutschland
DNAase u. RNAase freies H ₂ O	Sigma Chemie, Steinheim, Deutschland
DNTPs	Sigma Chemie, Steinheim, Deutschland
EDTA Na ₂	Sigma Chemie, Steinheim, Deutschland
Ethidiumbromid	Sigma Chemie, Steinheim, Deutschland
FICOLL-400	Sigma Chemie, Steinheim, Deutschland
KH ₂ PO ₄	Merck KgaA, Darmstadt, Deutschland
MgCl ₂	Sigma Chemie, Steinheim, Deutschland
MgCl ₂ x 6H ₂ O	Sigma Chemie, Steinheim, Deutschland
Mineralöl	Sigma Chemie, Steinheim, Deutschland
NaCl	Serva Feinbiochemica GmbH, Heidelberg, Deutschland
Na ₂ HPO ₄ x H ₂ O	Merck KgaA, Darmstadt, Deutschland
KCL	Merck KgaA, Darmstadt, Deutschland
Taq Gold [®] Polymerase	Perkin Elmer, Weiterstadt, Deutschland
Tris	Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
Triton X-100	Sigma Chemie, Steinheim, Deutschland

9.3 Geräte und Verbrauchsmaterial

Absaugpumpe CUV-O-MAT [®]	Hellma Laborgeräte, Müllheim, Deutschland
Becherglas 500 ml	Schott Duran [®] , Mainz, Deutschland
Concentrator 5301	Eppendorf [®] AG, Hamburg, Deutschland
Elektrophoresekammer- Agargel Mini	Biometra [®] GmbH i.L., Göttingen, Deutschland
Eppendorf [®] -Gefäße 1,5 ml	Eppendorf [®] , AG, Hamburg, Deutschland
Gefrierschrank	Bosch GmbH, Gerlingen, Deutschland
Gene Quant Calculator [®]	Pharmacia Biotech, Freiburg, Deutschland
Hämatokritzentrifuge - Biofuge pico [®]	Heraeus Instruments GmbH, Hanau, Deutschland
Filmkassette Polaroid (ISO 3000/36°)	Polaroid GmbH, Offenbach, Deutschland
Kühlschrank	Bosch GmbH, Gerlingen, Deutschland
Mikroskop Standard 25	Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland
Mikrowelle	Sanyo Electric Co., Ltd., Singapur
Pipetten(2,5; 10; 100; 1000 µl)	Eppendorf [®] AG, Hamburg, Deutschland
Polaroid Gel-Cam mit Lichtblendenzubehör	Polaroid GmbH, Offenbach, Deutschland
Schraubdeckelgefäße	Sarstedt [®] , Nürnbrecht, Deutschland
Stereomikroskop STEMI DV 4	Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland
TRIO-Thermoblock	Biometra [®] GmbH i.L., Göttingen, Deutschland
Ultratiefkühlschrank Sanyo MDF-U 3086 S	Sanyo, Berlin, Deutschland
UV-Transilluminator - CAMAG PEPROSTAR II	Biometra [®] GmbH i.L., Göttingen, Deutschland
Wasserbad, Köttermann [®]	Köttermann GmbH u. CO KG, Hänigsen, Deutschland
Wasserbad	Fried Electric [®] , Haifa, Israel
Zentrifuge, Labofuge 400e	Heraeus Instruments GmbH, Hanau, Deutschland
Zentrifugenröhrchen 12 ml	Schott Duran [®] , Mainz, Deutschland