

2 Material

Die benutzten Chemikalien hatten den Reinheitsgrad p.A. und wurden von den Firmen Merck (Darmstadt), Serva (Heidelberg) und Sigma (München) bezogen. DNA-Restriktionsenzyme wurden von den Firmen Life-BRL oder NEB-Biolabs geliefert, die verwendeten Enzympuffer entsprachen den Herstellerangaben. DNA-ODN wurden von der Firma TIBMolBiol (Berlin) bezogen.

2.1 Bezugsquellen verwendeter Materialien und Chemikalien

Acrylamid	National Diagnostics, England
Agar (select)	Lifetechnologies , Berlin
Agarose ultrapure	Lifetechnologies, Berlin
ATP	Boehringer, Mannheim
Bactotrypton	Lifetechnologies, Berlin
Ballistischer Transfer -Berstscheiben -Gold, 1,6 µm -Stopp-Gitter -Trägerscheiben	Bio-Rad, München
Bisacrylamid	National Diagnostics, England
Bromphenolblau	Pharmacia, Freiburg
Corextubes	Sorvall, Bad Nauheim
dNTP's	Pharmacia, Freiburg
Elektroporationsküvetten	Eurogentec, Belgien
Ethidiumbromid	Sigma, München
Falcon Tubes	Nunc, Dänemark
Fötale Kälberserum	Biochrom, England
Gewebekulturflaschen/-schalen	Greiner, Frickenhausen

L-Glutamin	Lifetechnologies, Berlin
GSA-Schraubbecher	Sorvall, Bad Nauheim
Magnetische Sortierung: -Magnetpartikel, unkonjugiert -Magnetsäulen Typ AS	Miltenyi Biotech, Bergisch-Gladbach
Marker für Agarose-Gelelektrophorese	Lifetechnologies, Berlin
Penicillin/Streptomycin	Lifetechnologies, Berlin
Poly-L-Lysin, 0,1 mg/ml	Biochrom/Seromed, Berlin
Propidium-Jodid	Sigma, München
RPMI 1640 w/o L-Glutamin	Lifetechnologies, Berlin
Yeast-Extract	Lifetechnologies, Berlin

Tabelle 2.1 Materialienliste

2.2 Herkunft der Geräte

Biolistic PDS1000/He-System	Bio-Rad, München
Brutschrank im Bakterienlabor	Memmert, Schwabach
Brutschrank im Zellkulturlabor	Labotect, Göttingen
DNA-Thermocycler	Biometra, Deutschland
Elektroporationsgerät für Transformation von Bakterien	Bio-Rad, München
Durchflußcytometer FACSCalibur	Becton-Dickinson, Heidelberg
Sequenzierautomat LiCor	MWG-Biotech, München
Photometer	Cary, Australien
Geldokumentationsstation	Polaroid, Deutschland

Tabelle 2.2 Geräteliste

2.3 Herkunft der Plasmide

Die Ausgangsplasmide für die Klonierung und Transfektion kamen von der Firma Invitrogen (Holland).

2.3.1 pCDNA3

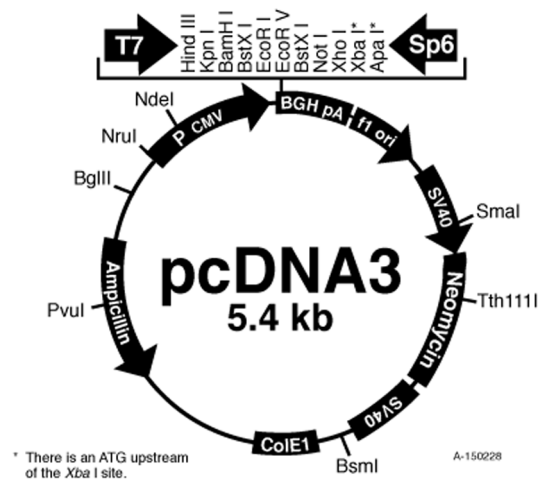


Abbildung 2.1 Vektorkarte des pCDNA3-Vektors

Der pCDNA3-Vektor ist ein Expressionsvektor für eukaryontische Zellen unter der Kontrolle des CMV-Promoters.

2.3.2 pCEP4

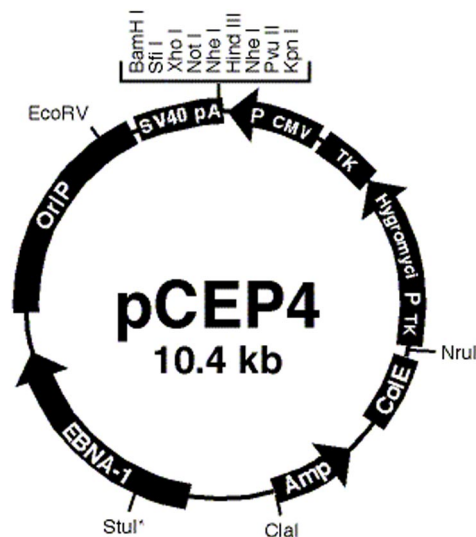


Abbildung 2.2 Vektorkarte des pCEP4-Vektors

Der pCEP4-Vektor ist ein episomal replizierender Vektor (Sugden, Marsh et al. 1985; Yates, Warren et al. 1985) für die Genexpression in eukaryontischen Zellen unter der Kontrolle des CMV-Promoters

2.3.3 pCR3

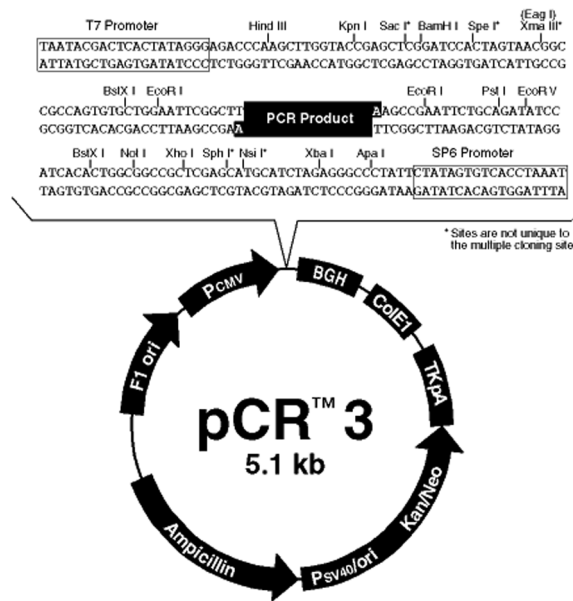


Abbildung 2.3 Plasmidkarte des pCR3-Vektors

Der pCR3-Vektor ist ein Expressionsvektor für eukaryontische Zellen, mit dem das molekulare Klonieren nach der TA-Klonierungsmethode (Clark 1988; Mead, Pey et al. 1991) möglich ist. Auch hier steht das zu exprimierende Gen unter der Kontrolle des CMV-Promoters.