

Tab.2: Übersicht über die in RT, PCR, nested-PCR und zur Sequenzierung verwendeten Primer

Primer / Vektorsystem	Sequenz	annealing Temperatur	Gen-Position
pBAD /gIII			
gIII/IFN -A	AT AGC ACC ATG GGA CAG GCT GCT TTC TTT AAA G	51,8°C	64 - 82
gIII/IFN -B	GAA TTC TAG AGA CTG AAG AGC ACG ACG ACC A		478 - 498
gIII/IL-4A	AT AGC ACC ATG GGA TGC ATA TAC GAC ATC A	49,5°C	73 - 88
gIII/IL-4B	CG TTC TAG ACA CTT GGA GTA TTT CTC T		393 - 411
GM/NcoI	TG TCG TCC ATG GGA CCC GCA CCC ACC CGC CAA	57,5°C	49 - 66
GM/XbaI	ATA TTC TAG AGC CTT CTG GGC TGG TTC CCA		415 - 432
pGEM-T Easy			
GM3v	ATG TGG CTT CAG AAC CTG CTT	57,4°C	1 - 21
GM4r	CTT CTG GGC TGG TTC CCA GCA		412 - 432
eqGMv	TGA ACA ACA GTA GTG ACA CTG CTG C	53,5°C	128 - 152
eqGMr	TTG TAC AGC TTC AGG CGA GTC TG		217 - 239

Primer / Vektorsystem	Sequenz	annealing Temperatur	Gen- Position
BCMGSneo			
GM-J3V GM-JH4R	G CTC GAG ACA ATG TGG CTT CAG AAC CTG CTT GCCGCCGCTAGTGATGGTGATGGTGATGCTTCTGGGCTGGTTCCCA	57,4°C	1 - 21 412 - 432
IL-4/JV IL-4/JR	G CTC GAG ACA ATG GGT CTC ACC TAC CAA CTG G CGG CCG CTA ACA CTT GGA GTA TTT CTC	51,5°C	1- 21 401 - 411
IFN -JV IFN -JR	G CTC GAG ACA ATG AAT TAT ACA AGT TTT ATC G CGG CCG CTA TTG CAA CGC TCT CCG GCC TCG	48,8°C	1 -21 478 - 498
pcDNA6/V5			
IL-4V6vor gIII/IL-4B	AT ACG TCT TAA GCC ATG GGT CTC ACC TAC CAA CTG CG TTC TAG ACA CTT GGA GTA TTT CTC T	51,5°C	1 - 21 393 - 411
IFN V6vor IFN V6r	AT ACG TCT TAA GCC ATG AAT TAT ACA AGT TTT ATC G AAT TCT AGA TTG CAA CGC TCT CCG GCC TCG	48,8°C	1 - 21 478 - 498

Primer / Vektorsystem	Sequenz	annealing Temperatur	Gen- Position
pPAMks			
GM-P3V GM-PH4R	T TCC ATG GCT TGG CTT CAG AAC CTG CTT AAGGATCCTAGAGCTCATCTTTCTCAGAGTGATGGTGATGGTGATGCT TCTGGGCTGGTTCCCA	57,4°C	1 - 21 412 - 432
IL-4PV IL4-PHR	T TCC ATG GGT CTC ACC TAC CAA CTG TTGGATCCTAGAGCTCATCTTTCTCAGAGTGATGGTGATGGTGATGA CACTTGGAGTATTTCTC	51,5°C	1 - 21 401 - 411
IFN -PV IFN -PHR	TTCC ATG GCT AAT TAT ACA AGT TTT ATC TTGGATCCTAGAGCTCATCTTTCTCAGAGTGATGGTGATGGTGATGTT GCAACGCTCTCCGGCC	48,8°C	1 -21 478 - 498
pPIC9K			
Hefe4-A Hefe4-B	CTC TCC ATG GGT CTC ACC TAC CAA CTG C TCT CTC TGC GGC CGC ACA CTT GGA GTA TTT CTC T	50,4°C	1 - 21 393 - 411
Hefe -A Hefe -B	CTC TCC ATG GAT TAT ACA AGT TTT ATC C TCT CTC TGC GGC CGC TTG CAA CGC TCT CCG GCC TCG	48,8°C	1 -21 478 - 498
HefeGM-A HefeGM-B	CTC TCC ATG GGG CTT CAG AAC CTG CTT C TCT CTC TGC GGC CGC CTT CTG GGC TGG TTC CCA GCA	58°C	1 - 21 412 - 432

Primer / Vektorsystem	Sequenz	T_m	Gen- Position
RT und RACE RT			
T 25V	TTT TTT TTT TTT TTT TTT TTT TTT TV		
RACE RTIII	AAGCAGTGGTAACAACGCAGAGTACTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTT TTTT TVN		
RACE und PCR			
UPML	CTAATACGACTCACTATAGGGCAAGCAGTGGTAACAACGCAGAGT	74,0°C	
UPMS	CTA ATA CGA CTC ACT ATA GGG C	45,1°C	
NUP	AAG CAG TGG TAA CAA CGC AGA GT	54,8°C	
GM-Rv1	ATG CCC GCA CCC ACC CGC CAA CCC AG	74,3°C	46 - 71
GM-Rr1	GCA GGC ATG TCA GCT CCT CGG CG	69,6°C	195 - 217
GM-Rv2	GAC GCC GAG GAG CTG ACA TGC CTG C	71,2°C	193 - 217
GM-Rr2	AGG GCT GGG TTG GCG GGT GGG TGC	73,0°C	52 - 75

Primer / Vektorsystem	Sequenz	annealing Temperatur	Gen- Position
Nachweis- primer			
CD1a v CD1a r	ATC TCC GAA TGG TGG AAG TAA GG TTT GGG TGG AAG CCA GAA GTG	54°C	intern*
IL-1 v IL-1 r	CAG CGG CAA TGA GAA TGA CC GGA CAG CAC CAG GGA TTT ATG G	56,8°C	42 - 61 387 - 408
GM-PCRv2 GM-PCRr2	TGG AAA CTT CCT GTG CAA CCC TGG TTC CCA GCA GTC AAA CG	51,3°C	326 - 346 404 - 423
GM-PCRv1	GCA TGT GGA TGC CATC AAG G	59,4°C	93 - 112
IL-4/PCRv2 IL-4/PCRr2	ACC TCA AGG GCA TGG CAA AC GTC TTT CAA TGT GCT CTT CTT GGC	51,3°C	296 - 315 340 - 363
IL-4/PCRv1	GGG TCT CAC CTA CCA ACT GAT TCC	64,4°C	3 - 26

Primer / Vektorsystem	Sequenz
Sequenzier-Primer	
T7	TAA TAC GAC TCA CTA TAG GG
PSS-3	AGA GAG AGA TAG ATT TGT AGA
PSS-5	ATC CTT CGC AAGACC CTT CCT
P1n	CTC TGC TAA CCA TGT TCA TGC
pBAD	ATG CCA TAG CAT TTT TAT CC

Die fett hervorgehobenen Buchstaben kennzeichnen die cDNA (codierender Bereich) des Zytokines, „r“, „R“ oder „B“, weist auf die Leserichtung des Rückwärtsprimers hin. Die nichthervorgehobenen Buchstaben sind für die Klonierung in die Expressionssysteme von Bedeutung. T_m = Schmelztemperatur des Primers, bzw für die PCR-Reaktion; Gen-Position = Position des Primers im codierenden Bereich der Zytokinsequenz; V = variabel A, C oder G; N = variabel A, C, G oder T.

* Sequenzen noch nicht veröffentlicht, Primerbindung liegt intern im codierenden Bereich.