

3. Material

3.1 Chemikalien, Biochemica, Lösungsmittel

10-Formyltetrahydrofolat	Serva
2-Mercaptoethanol	Merck
3-N-(Morpholino)propansulfonsäure (MOPS)	Merck
Aceton	Roth
Acrylamid 30% (Acrylamid/Bis-Acrylamid = 30:0,8)	Roth
Acrylamid 40% (Acrylamid/Bis-Acrylamid = 37,5:1)	Amresco
Adenosintriphosphat (ATP)	Boehringer (Roche)
Agar	Gibco
Agarose für die Gelelektrophorese	Gibco, Biozym
Aminosäuren	Amersham
Ammoniumchlorid (NH ₄ Cl)	Merck
Ammoniumperoxidsulfat (APS)	Serva
Ampicillin Natriumsalz	Boehringer (Roche)
Bind-Silan	Pharmacia
Borsäure	Merck
Bromphenolblau	Merck
Casein-Hydrolysat (Pepton No. 140)	Gibco, Paisley
Casein-Hydrolysat (Pepton No. 5)	Gibco, Paisley
Chloroform	Roth
Coomassie Brilliant Blue R-250	Serva
Cytidintriphosphat (CTP)	Boehringer (Roche)
DEAE (DE52)	Roth
Desoxynukleotidtriphosphate (dNTPs)	Boehringer (Roche)
Desthiobiotin	Sigma
Dichlormethylsilan	Merck
Diethylpyrocarbonat (DEPC)	Fluka
Dithioerythritol	Merck
Dithiothreitol (DTT)	Merck
Essigsäure	Roth
Ethanol	Roth
Ethidiumbromid (EtBr)	Gibco
Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)	Merck
Ethylenglycolbis(2-aminoethylether)-	Serva
Glycerin	Merck
Glycin für Elektrophoresepufer	Merck
Guanosintriphosphat (GTP)	Boehringer (Roche)
Harnstoff	Gerbu
Hefeextrakt	Merck
Isopropanol	Roth
Kaliumacetat	Merck
Kaliumhydroxid (KOH)	Merck
Magnesiumchlorid	Merck
Methanol	Roth
N, N'-Methylenbisacrylamid	Serva

N,N,N',N'-Tetramethylendiamin (TEMED)	Serva
N-2-Hydroxyethylpiperazin-N'-2-ethan-	Biomol
Natriumacetat	Merck
Natriumazid	Merck
Natriumchlorid	Merck
Natriumdodecylsulfat (SDS)	Fluka
Natriumhydroxid (NaOH)	Merck
Natriumpyrophosphat	Merck
Phenol	Roth, Amresco
Phenol/Chloroform/Isoamylalkohol (25:24:1)	Amresco
Phosphoenolpyruvat (PEP)	Boehringer (Roche)
Polyethylenglycol 2000 (PEG)	Fluka, Merck
Rifampicin	Boehringer (Roche)
Saccharose	BRL
Salzsäure	Merck
Spermidin	Serva
Sulfonsäure	
Szintillationsflüssigkeit	Beckmann
Trichloressigsäure (TCA)	Roth
Tris-(hydroxymethyl)aminomethan (Tris)	AppliChem
Triton X100	Pierce
Uridintriphosphat (UTP)	Boehringer (Roche)
Xylencyanolblau	Serva

3.2 Radiochemikalien

α -[³⁵ S]dATP	Amersham
α -[³⁵ S]dCTP	Amersham
α -[³⁵ S]ATP	Amersham
α -[³⁵ S]CTP	Amersham
¹⁴ C-Protein-Molekulargewichts-Standard	BRL
¹⁴ C-Aminosäuren	Amersham

3.3 Nukleinsäuren, Proteine, Enzyme

Alkalische Phosphatase (CIP)	Stratagene, NEB
Anorganische Pyrophosphatase	Sigma Aldrich
Aprotinin	Boehringer (Roche)
Bulk-tRNA	Boehringer (Roche)
DNA-Längenstandard XIV	Boehringer (Roche)
DNA-Längenstandard XVII	Boehringer (Roche)
DNA-Oligomere	IBA (NAPS)
DNaseI	Boehringer (Roche)
E.coli RNA-Polymerase	Promega
Klenow-Polymerase	Promega
Leupeptin	Boehringer (Roche)

LMW5	Pharmacia
LMW6	Pharmacia
Lysozym	Boehringer (Roche)
Pepstatin	Boehringer (Roche)
<i>Pfu</i> -DNA-Polymerase	Stratagene
Plasmide (insofern nicht eigene Konstrukte)	
pSP64	Promega
pACYC184	Promega
pCAT _{Amb10} (amber suppressor control plasmid)	Promega
pED3d	Promega
pHMFA	Helmut Merk (AG Erdmann, FU-Berlin)
Proteinase K	Gibco
Protein-Molekulargewichtstandards	Pharmacia, Freiburg
<i>Pwo</i> -DNA-Polymerase	Boehringer (Roche)
Pyruvatkinase	Boehringer (Roche)
Restriktionsendonukleasen	Boehringer; Gibco, NEB, AGS
Ribonuklease-Inhibitor	Promega
Rinerserumalbumin (BSA)	Boehringer (Roche)
RNaseA	Boehringer (Roche)
T3 RNA-Polymersae	Stratagene
T4 DNA-Ligase	Stratagene
T4-Polynukleotidkinase	Gibco
T4-RNA-Ligase	Stratagene
T7 RNA-Polymerase	Stratagene
<i>Taq</i> -DNA-Polymerase	Stratagene

3.4. Kits

CAT Assay Kit (CAT-Assay)	Molecular Probes
Cycle Sequencing Kit	Pharmacia
High Pure PCR Product Purification Kit	Boehringer (Roche)
INTERCHANGE™ Amber Suppression <i>in vivo</i> mutagenesis system	Promega
JET-Star Plasmid Prep Kit (Mini, Midi)	Genomed
Quiaquick Gel Extraction Kit	Quiagen
T7-Sequencing Kit	Pharmacia

3.5. Sonstige Materialien und Geräte

Gerät und Zubehör	Typ	Hersteller
Absauganlage	(manuell)	Sartorius, Göttingen
Absauganlage	12 well Cell Harvester	Skatron, Sterling, USA
Aktivkohlebeutel	Destaining Bags	Amresco, Solon (USA)
Analysenwaage	AE 163	Mettler, Gießen

Autoklav	Vapoclav 500 D	Sterico, Dietikon (CH)
Brutschrank	B5042	Heraeus
DNA-Sequenzierungskammer	Modell S2	Gibco
Einmal-Filterhalter	0,2 µm, FP 030/3	Schleicher & Schuell, Dassel
Elektrophoresekammern	Agagel Mini Mini-Sub Cell GT Mini-Protean II Sequenzier-Gel sonstige	Biometra, Göttingen Bio Rad, München Bio Rad, München AGS AGS, Eigenbau FU-Berlin
Faltenfilter	595½	Schleicher & Schuell, D.
Filterpapier	3MM	Whatman, Maidstone GB
Gefriertrockner	Beta A mit Speed Vac Concentator	Heraeus Christ, Hanau; Savant, N.Y. (USA)
Geltrockner	Mididry	Biometra, Göttingen
Glasfaserfilter	GF/C	Whatman, Maidstone GB
HPTLC-Alufohlen	Kieselgel 60	Merck
Heizblock	Bioblock-scientific	Barnstead, Dubuque (USA)
Inkubationsschüttler	Thermomixer 5436 Modell G25	Eppendorf, Hamburg New Brunswick Scientific, Edison (USA)
Magnetrührer	IKA Combimag RCT	Janke & Kunkel, Staufen
Mikrowellenofen	ER-7720DC	Toshiba, Japan
Membranfilter	0,2 µm, BA 83 und NC 20	Schleicher & Schuell, D.
Membranpumpe	M7 2C / 1,7	Vacuubrand, Wertheim
Netzgerät	Modell 200 ECPS 3000/150	Bio Rad, München Pharmacia, Freiburg
PCR-Gerät	PTC 100	M-Research USA
pH-Meter	761 Calimatic	Knick, Berlin
Phosphoimager mit Zubehör	Storm 840 mit Storage Phosphor Screens	Molecular Dynamics, Krefeld
Photoausrüstung	OM-2	Olympus, Japan
Photometer	UV-260	Shimadzu, Kyoto, Japan
Pipetten	Pipetman P2, 10, 20, 100, 200, 1000	Gilson, Villiers-le-Bel (Frankreich)
Reinstwasseranlage	Milli-Q	Millipore, Bedford (USA)
Röntgenfilme	X-Ray Film RX	Fuji (Japan)
Röntgenfilm-Chemikalien	Entwickler G150, Fixierer G334	Agfa, Leverkusen
Rotor	Sorvall SA 600	DuPont, Bad Homburg
Rüttler	Vortex Genie	Bender & Hobein, Zürich
Schüttler	Celloshaker Variospeed	Chemetron
Sterilfiltrationsanlage		Schleicher & Schuell, Dassel
Szintillationszähler	LS 7500	Beckman, München
Szintillationsvials	Minis 2000	Zinsser Analytik, Frankfurt
Thermocycler für PCR	PCT-100	MJ Research, Inc., Watertown (USA)
Ultraschallbad	Sonorex RK 102	Bandelin, Berlin

Ultrazentrifugen		Beckmann DuPont
UV-Transilluminator	Reprostar II	Camag
Waage	1401 MP8	Satorius, Göttingen
Wasserbad	1083	GFL, Burgwedel
Zentrifugen	Mikrocentrifuge 5415 C Biofuge A Biofuge 13 Sorvall RC 28S J2-21	Stratagene Eppendorf, Hamburg Heraeus Christ, Hanau Heraeus Christ, Hanau DuPont, Bad Homburg Beckmann

3.6. Zellstämme

Escherichia coli amber-Suppressor-Zellstämme (Promega #Q5080, Kleina et al. 1990):

Zellstämme mit chromosomal kodierten *amber*-Suppressor-tRNAs (Su1, Su3, Su5, Su6):

Zellstamm	Genotyp
Amber-Ser (Su1, <i>supD</i>), Amber-Tyr (Su3, <i>supF</i>), Amber-Lys* (Su5, <i>supG</i>), Amber-Leu (Su6, <i>supP</i>)	<i>ara</i> , Δ (<i>lac-pro</i>), <i>gyrA</i> , <i>metB</i> , <i>argEam</i> , <i>rpoB</i> , <i>thi</i>

Zellstämme mit Plasmid kodierten *amber*-Suppressor-tRNAs:

Zellstamm	Genotyp
Amber-Cys, Amber-Phe, Amber-Gly, Amber-His, Amber-Pro, Amber-Arg*, Kontroll Stamm	<i>ara</i> , Δ (<i>lac-pro</i>), <i>gyrA</i> , <i>argEam</i> , <i>rpoB</i> , <i>thi</i>

*Die Amber-Arg and Amber-Lys Strains enthalten zusätzlich nicht charakterisierte Mutationen, die zur Resistenz gegenüber Tetrazyklin führen.

Escherichia coli BL21

F⁻, *ompT* [*lon*], *hds*S_B, (*r*_B⁻, *m*_B⁻; *E. coli* B-Stamm), *dcm*, *gal*

Escherichia coli BMH 71/18 (Kramer und Fritz 1987)

Δ (*lac-proAB*), *thi*, *supE*, F', *laq*^q, *lacZ* Δ M15, *proA*⁺*B*⁺

Escherichia coli D10 (Gesteland 1966)

relA1, *spoT1*, *metB1*, *RNaseI*

Escherichia coli JM109 (Yanisch-Perron et al. 1985)

endA1, *recA1*, *gyrA96*, *thi*, *hds*R17, (*r*_K⁻, *m*_K⁺), *relA1*, *supE44*, Δ (*lac-proAB*), [F⁻, *traD36*, *proAB*, *laq*^q, *lacZ* Δ M15]

Escherichia coli MRE 600 (Cammack und Wade 1965)

RNaseI