

8. Anhang

Puffer und Stocklösungen

Kapazitationsmedium (modifiziertes Tyrodemedium ohne Ca^{2+})

Chemikalien	Hersteller	mM	g/l
NaCl	Sigma S 9625	112	6,545
KCl	Sigma P 5886	2,7	0,200
NaHCO_3	Sigma S 5761	25	2,100
NaH_2PO_4	Sigma S 5011	0,4	0,048
Na-Laktat o.	Sigma L 7022	10	1,121
Na-Laktat (60% w/w)	Sigma L 7900		1,866 (1,4 ml)
MgCl_2 (anhydr.)	Sigma M 8266	0,5	0,047
HEPES	Biochrom L 1603	5	1,200
Glucose	Sigma G7021	13,8	2,500
Na-Pyruvat	Biochrom L 0473	1	10 ml
BSA	Fluka 05477	0,6%	6,000
Aqua bidest.			ad 1l

Medium ohne Na-Pyruvat und BSA herstellen, pH-Wert einstellen (7,4), steril filtrieren (0,2 μm) und in 45 ml Portionen abfüllen, senkrecht einfrieren (-20°C)

für 25 ml:

1. ein Röhrchen (45 ml) Kapazitationsmedium auftauen
2. 20 ml in einen 25 ml Zylinder geben
3. 250 μl Na-Pyruvat dazu pipettieren
4. 150 mg BSA abwiegen und auf die Flüssigkeitsoberfläche geben, abgedeckt stehen lassen, bis das BSA gelöst ist
5. mit Kapazitationsmedium auf 25 ml auffüllen
6. in eine Becherglas umfüllen und steril filtrieren (0,2 μm), im CO_2 -Schrank locker abgedeckt stehen lassen.

Phosphate Buffered Saline (PBS)

20 mM	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 / \text{NaH}_2\text{PO}_4$	pH 7,4
0,8%	NaCl	
0,02%	KCl	