

## 7 Anhang

- 10 X PBS nach Tropix:
  - 0,58 M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ <sup>1</sup>
  - 0,17 M  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \bullet \text{H}_2\text{O}$ <sup>2</sup>
  - 0,68 M  $\text{NaCl}$ <sup>3</sup>
  
- Blocking Buffer nach Tropix:
  - 0,2% I- Block<sup>TM</sup> <sup>4</sup>
  - 1 X PBS
  - 0,1% Tween-20<sup>5</sup>
 PBS in Wasser lösen, Blocking Reagenz (Casein) zusetzen und 5 Min. bei 70°C erhitzen.
  
- Detection Wash Buffer nach Tropix
  - 1 X PBS
  - 0,1% Tween-20
  
- Assay Buffer nach Tropix:
  - 0,1 M Diethanolamine (DEA)
  - 1 mM  $\text{MgCl}_2$
 DEA in Wasser lösen und den pH auf 10,0 mit HCl einstellen,  $\text{MgCl}_2$  zusetzen
  
- Wash Buffer 1<sup>6</sup> nach Tropix:
  - 0,9 M Na Cl
  - 50 mM  $\text{NaPO}_4$  (pH 7,7)
  - 5 mM EDTA<sup>7</sup>
 bei Raumtemperatur lagern
  
- Wash Buffer 2<sup>8</sup> nach Tropix:
  - 3 M Tetramethylammonium chloride (TMAC)
  - 50 mM Tris (pH 8,0)
  - 2 mM EDTA
  - 0,025% Triton X- 100.
 Bei Raumtemperatur lagern  
 (TMAC ist hochtoxisch)
  
- Substratlösung nach Tropix:
  - 0,4 mM CSPD<sup>9</sup>
  - 10 % Sapphire II<sup>10</sup>

---

<sup>1</sup> Merck, D-Darmstadt, Art. Nr. 6580

<sup>2</sup> Merck, D-Darmstadt, Art. Nr. 6346

<sup>3</sup> Merck, D-Darmstadt, Art. Nr. 6404

<sup>4</sup> Casein, Bestandteil des Tropix PCR Light Chemiluminescent Assays

<sup>5</sup> Merck, D-Darmstadt, Art. Nr. 822184

<sup>6</sup> Bestandteil des Tropix PCR Light Chemiluminescent Assays

<sup>7</sup> Merck, D-Darmstadt, Art. Nr. 8418

<sup>8</sup> Bestandteil des Tropix PCR Light Chemiluminescent Assays

<sup>9</sup> Bestandteil des Tropix PCR Light Chemiluminescent Assays

<sup>10</sup> Bestandteil des Tropix PCR Light Chemiluminescent Assays

mit Assay Buffer auf 1 ml auffüllen

- Substratlösung mit Methylumbelliferylphosphat:  
200 mM Tris<sup>11</sup> (pH 9)  
50 mM MgCl<sub>2</sub><sup>12</sup>  
0,033 mM Methylumbelliferylphosphat (1mg/100 ml)
- Substratlösung mit Methylumbelliferylphosphat nach TADA et al. (1992)  
200 mM Tris pH 9  
50 mM MgCl<sub>2</sub>  
0,01 mM Methylumbelliferylphosphat
- Substratlösung mit Methylumbelliferylphosphat nach LÜNEBERG et al. (1993)  
100 mM Tris pH 9,6  
50 mM MgCl<sub>2</sub>  
100 mM NaCl  
1 mg Methylumbelliferylphosphat/50 µl
- Assay Buffer 1:  
200 mM Tris (pH 9)  
50 mM MgCl<sub>2</sub>
- Waschlösung nach RASMUSSEN et al. (1991)  
0,4 N NaOH  
0,25% SDS<sup>13</sup>  
auf 50 °C erhitzen
- Puffer A  
0,1 M Tris (pH 7,5)  
1 M NaCl  
2 mM MgCl<sub>2</sub>  
0,05 % Triton X- 100<sup>14</sup>  
5 % Trockenmilchpulver<sup>15</sup>
- Hybridisierungspuffer A  
0,1 M Tris (pH 7,5)  
1 M NaCl  
2 mM MgCl<sub>2</sub>  
0,05 % Triton X- 100  
0,2 M Essigsäure<sup>16</sup>
- Hybridisierungspuffer B  
0,0625 M Tris (pH 7,5)  
0,625 M NaCl  
1,25 mM MgCl<sub>2</sub>

---

<sup>11</sup> Serva, D-Heidelberg, Art. Nr. 37180

<sup>12</sup> Merck, D-Darmstadt, Art. Nr. 5833

<sup>13</sup> Serva, D-Heidelberg, Art. Nr. 20760

<sup>14</sup> Merck, D-Darmstadt, Art. Nr. 8603

<sup>15</sup> Glücksklee

<sup>16</sup> Merck, D-Darmstadt, Art. Nr. 56

0,031 % Triton X- 100

0,125 M Essigsäure

Durch Verdünnen des Hybridisierungspuffer A mit Wasser im Verhältnis 5 : 8 (5 Teile Hybridisierungspuffer A mit 3 Teile Wasser

- Konjugatpuffer A

0,1 M Tris (pH 7,5)

1 M NaCl

2 mM MgCl<sub>2</sub>

0,05 % Triton X- 100

3% BSA<sup>17</sup> (Bovines Serum Albumin)

- Tris- EDTA- Puffer (TE- Puffer) pH 8

10 mM Tris, pH 8

1 mM Na- EDTA, pH 8

- 50 fach TAE- Puffer

242 g Tris

57,1 ml Eisessig

100 ml 0,5 M EDTA pH 8

auffüllen auf 1 l mit Millipore

- Ethidiumbromidlösung

10 mg Ethidiumbromid<sup>18</sup> werden in 1 ml 1 fach TAE- Puffer aufgelöst.

- TSB- Agar

TSB Bouillion nach Herstellerangaben auflösen und dabei

20 g/l Agar<sup>19</sup> zusetzen.

- PLET- Agar (Polymyxin Lysozym EDTA Thalliumacetat agar)

Difco Heart Infusion Agar<sup>20</sup> nach Herstellerangaben ansetzen

0,3 g/l EDTA

0,04 g/l Thallium- Acetat<sup>21</sup>

für 20 Minuten autoklavieren und auf 50 °C abkühlen

30000 U/l Polymyxin-B-Sulfat<sup>22</sup>

300000 U/l Lysozym<sup>23</sup>

<sup>17</sup> Sigma, D-Deisenhofen, Art. Nr. 6793

<sup>18</sup> Roth, D-Karlsruhe, Art. Nr. 7870

<sup>19</sup> Fluka Bio Chemika, D-Neu- Ulm, Art. Nr. 05040

<sup>20</sup> Difco, D-Augsburg, Art. Nr. 0044-17-9

<sup>21</sup> Merck, D-Darmstadt, Art. Nr. 12365

<sup>22</sup> Sigma, D-Deisenhofen, Art. Nr. P1004

<sup>23</sup> Sigma, D-Deisenhofen, Art. Nr. L6876