

6. Material

6.1. Bezugsquellen der verwendeten Materialien

Agarose	
- für 0,5 - 0,7 %ige Agarosegele: Agarose MP.....	Boehringer, Mannheim
- für 1,0 - 1,5 %ige Agarosegele: Typ I, low EEO	Life Technologies, Eggenstein
- für 2,0 - 4,0 %ige Agarosegele: NuSieve® GTG®	Biozym, Hess. Oldendorf
Acrylamid	
- für 5 - 20 %ige PAA-Gele: 40 % AA Lsg (19:1 AA:Bis).....	Life Technologies, Eggenstein
- für 6 %ige Sequenziergele: 6 % Acrylamid XL.....	Biozym, Hess Oldendorf
- für 4 %ige Sequenziergele: 50 % Long Ranger™.....	Biozym, Hess Oldendorf
- für SDS-PAGE Gele: 40 % AA LSG	Life Technologies, Eggenstein
α [³² P]-dCTP.....	NEN, Bad Homburg
α [³² P]-rUTP.....	NEN, Bad Homburg
Biotin-7-dATP.....	Life Technologies, Eggenstein
Biotin-14-dATP	Life Technologies, Eggenstein
Blottingpapier: GB002, GB003, GB004.....	Scleicher&Schuell, Dassel
Blotmembranen	
-PVDF-Membran.....	Schleicher&Schuell,Dassel
- Nylonmembran: Gene Screen™	NEN, Bad Homburg
BSA (Rinderserumalbumin)	
- für Hybridisierungspuffer: cryst. + lyoph.....	Sigma, München
- Ansonsten: fraction V.....	Sigma, München
Cycloheximid.....	Sigma, München
Casamino acids.....	Life Technologies, Eggenstein
dNTPs	Life Technologies, Eggenstein
.....	Roth, Karlsruhe
.....	Pharmacia, Freiburg
ECL-Kit.....	NEN, Bad Homburg
Ethidiumbromid	Sigma, München
Ficoll 400.....	Pharmacia, Freiburg
fötales Kälber Serum.....	Life Technologies, Eggenstein
Formaldehyd p.A.....	Roth, Karlsruhe
Formamid p.A.....	Roth, Karlsruhe
γ -Interferon, human (INF- γ).....	Sigma, München
Gelatine	Sigma, München
genomic DNA isolation Kit.....	Stratagene, Heidelberg
Gewebekulturflaschen.....	Costar; NUNC; Greiner
Gewebekulturschalen.....	Costar; NUNC; Greiner
Harnstoff, Ultra pure.....	Amersham, Buchler
IPTG.....	Life Technologies, Eggenstein
Lachsspermien DNA (Ultraschall behandelt).....	Life Technologies, Eggenstein
Lachs Testes DNA.....	Life Technologies, Eggenstein
Mikro BCA-Kit.....	Pierce, Illinois
Mikrotiterplatten (96-Loch).....	Costar; NUNC; Greiner
Molekulargewichtsmarker für Nukleinsäuren	
- Φ x-DNA, HaeIII verdaut.....	Life Technologies, Eggenstein
- λ DNA, HindIII verdaut.....	Life Technologies, Eggenstein
- RNA Ladder, Low Molecular Weight	Life Technologies, Eggenstein
- RNA Ladder High Molecular Weight	Life Technologies, Eggenstein
- Smartladder.....	Eurogentech, Belgien
Molekulargewichtsmarker für Proteine	
- Low and High Molecular Weight Marker, prestained	NEN, Bad Homburg
NP-40.....	Sigma, München
Oligotex™ mRNA Isolierungskit	Qiagen, Hilden
pdN ₆ -Primer.....	Pharmacia, Freiburg

Penicillin/Streptomycin.....	Life Technologies, Eggenstein
Peptone.....	Life Technologies, Eggenstein
Phenol, Tris gesättigt (pH > 7,8).....	Roth, Karlsruhe
Phenol/Chloroform/Isoamylalkohol (25:24:1).....	Life Technologies, Eggenstein
Poinceau S.....	Sigma, München
Propidiumiodid	Sigma, München
PVP (Polyvinylpyrrolidon).....	Pharmacia, Freiburg
QIAquick™ Gel Extraction Kit.....	Qiagen, Hilden
QIAquick™ PCR purification Kit.....	Qiagen, Hilden
QIAshredder™	Qiagen, Hilden
QIASpin™ Miniprep Kit.....	Qiagen, Hilden
Rneasy™ Midi/mini RNA Isolierungskit	Qiagen, Hilden
Röntgenfilm Biomax L.....	Kodak, England
RPMI 1640 Medium.....	Life Technologies, Eggenstein
Select Agar.....	Life Technologies, Eggenstein
Select Yeast Extract	Life Technologies, Eggenstein
Sephadex™ Probequant Spin Columns.....	Pharmacia, Freiburg
Tetracyclin	Sigma, München
Triton-X-100	Boehringer, Mannheim
Tween 20.....	Roth, Karlsruhe
X-Gal	Life Technologies, Eggenstein

Alle weiteren verwendeten Chemikalien wurden von den Firmen Merck, Serva, Sigma und Roth in p.A.-Qualität bezogen.

6.2. Bezugsquellen der verwendeten Enzyme und Kits

Advantage™ KlenTaq Polymerasemix.....	Clontech, Heidelberg
Alkalische Phosphatase (calf intestine).....	Life Technologies, Eggenstein
ExoIII - Mungbean Deletion Kit.....	Stratagene, Heidelberg
In vitro Transkriptionskit (T7, SP6).....	Promega, Atlanta
T7 Cap-Scribe™	Boehringer Mannheim
In vitro Translationskit.....	Promega, Atlanta
LCR-Kit	Stratagene, Heidelberg
Luziferase-Assay Kits.....	Promega, Atlanta
Marathon cDNA Synthese Kit	Clontech, Heidelberg
pfu-DNA-Polymerase.....	Stratagene, Heidelberg
Random Primer Extension Labeling System.....	NEN, Bad Homburg
Restriktionsenzyme.....	Boehringer, Mannheim
.....	Life Technologies, Eggenstein
.....	Promega, Atlanta
.....	MBI, St. Leon Roth
RNase H.....	Life Technologies, Eggenstein
RNase One.....	Promega, Atlanta
RNase Protektions Kit	Boehringer, Mannheim
RNase Protection Template Set (hApo 2).....	Pharmingen
Sequenase™ vs. 2.0	Amersham, Buchler
Superscript II™ reverse Transkriptase	Life Technologies, Eggenstein
T4-DNA-Ligase.....	Life Technologies, Eggenstein
T4-Polynucleotid-Kinase.....	MBI/Fermentas, Vilnius
TA-Cloning Kit.....	Invitrogen, Schelp NL
Taq-DNA-Polymerase	Life Technologies, Eggenstein
.....	MBI, St. Leon Roth
Thermosequenase™ Cycle Sequencing Kit.....	Amersham, Buchler
vent®/deep vent® DNA-Polymerase.....	New England Biolabs, USA

6.3. Bezugsquellen der verwendeten Plasmidvektoren, Oligonukleotide und cDNA-Banken

cDNA-Banken:

- human blood λ -ZAP-Express™	Stratagene, Heidelberg
- Jurkat; T-cell λ -ZAP II™	Stratagene, Heidelberg
Oligonukleotide	Metabion, München
	TIB Molbiol, Berlin
	MWG, München
	Metabion, München

Plasmide:

- pBluescript IISK	Stratagene, Heidelberg
- pCDNA 3	Invitrogen, Schelp NL
- pCDNA 3.1 (\pm)	Invitrogen, Schelp NL
- pCR II; pCR 2.1	Invitrogen, Schelp NL
- pEGFP C1	Clontech, Heidelberg
- pEGFP N1	Clontech, Heidelberg
- pGL3 Vektoren	Promega, Atlanta

6.4. Bezugsquellen der verwendeten Antikörper

TaqStart™ Antikörper	Clontech, Heidelberg
α -Bcl-x, rabbit polyclonal	Transduction Laboratories,
α -GFP, mouse monoclonal	Clontech, Heidelberg
Goat anti Mouse, Horseradish Peroxidase	DAKO
Swine anti Rabbit, horseradish Peroxidase	DAKO

6.5. Bezugsquellen der verwendeten Geräte

Biofuge A	Heraeus, Osterode
Coulter Counter	Coulter, Heidelberg
Coulter Multisizer	Coulter, Heidelberg
DNA-Cycler	Eppendorf, Hamburg
Elektrophoresekammern	
- für Agarosegele 20 x 20 cm: GNA 2000	Pharmacia, Freiburg
- für Agarosegele 11 x 7 cm : GNA 200	Pharmacia, Freiburg
- für SDS-Page Gele	Phase, Göttingen
- für Sequenzgele: Gibco Mod. 2	Life Technologies, Eggenstein
Elektroporationsapparate	BioRad, München
Eurogentech, Belgien	
ELISA reader	Molecular Devices, München
Spektral Fluorometer	Molecular Devices, München
FACS	Becton Dickinson
Geltrockner	BioRad, München
Hybaid Hybridisierungsöfen	MWG, München
Kühlzentrifuge 3K10	Sigma, Heidelberg
Kühlzentrifuge RC2-B	Sorvall, Bad Nauheim
LiCor DNA Sequencer	MWG, München
Luminometer	Berthold
Minifuge	Heraeus, Osterode
PhosphorImager™ 445 SI	Molecular Dynamics, USA
Phosphor Screen	Molecular Dynamics, USA
Personal Cycler	Biometra, Göttingen
Polaroid Videokamera	Polaroid, Berlin
Trio Thermoblock	Biometra, Göttingen

TurboBlotter™	Schleicher&Schuell, Dassel
UNO Thermoblock.....	Biometra, Göttingen
UV-Crosslinking Einheit (Stratalinker™).....	Stratagene, Heidelberg
UV-Transilluminator.....	Serva, Heidelberg

6.6. Verwendete Software

Attractors.....	Coulter, USA
Base ImagIR™	LiCor, USA
CellQuest.....	Becton Dickinson, Heidelberg
Excel™.....	Microsoft™, USA
IPLab Gel™.....	Signal Analytics Corp., USA
MacMolly™ Tetra.....	Soft Gene GmbH, Berlin
Photoshop™	Adobe, USA
Right Primer™.....	
Soft Max Pro	Molecular Devices, München
Word™.....	Microsoft™, USA

6.7. Verwendete Puffer und Lösungen

6.7.1. Elektrophoresepuffer

20x TAE-Puffer:	20 mM Tris, 2,5 mM Natriumacetat, 1 mM EDTA; pH 7.8 mit Essigsäure einstellen
10x TBE-Puffer:	90 mM Tris, 90 mM Borsäure, 2,5 mM EDTA; ergibt ~ca. pH=8.3
10x MOPS-Puffer:	200 mM MOPS, 80 mM Natriumacetat, 10 mM EDTA; pH=7,0 mit NaOH einstellen
5x Tris-Glycin-Puffer:	125 mM Tris, 960 mM Glycin, 1 % (w/v) SDS
Tris-Glycin Laufpuffer:	25 mM Tris, 192 mM Glycin
DNA-Ladepuffer:	12,5 % (w/v) Ficoll 400, 0,025 % (w/v) Bromphe- nolblau, 0,5 % (w/v) SDS, 50 mM EDTA, 1xTAE
RNA-Denaturierungsmix:	12,5 Vol. Formamid, 2,5 Vol. 10x MOPS, 1Vol. Formaldehyd; 2Vol. RNA-Lsg. mit 3 Vol. Denatu- rierungsmix mischen und 10 min bei 72°C inkubie- ren, dann auf Eis
10xRNA-Ladepuffer:	50% Glycerin, 0.25% Bromphenolblau, 1,0 mM ED- TA
RNA Ladepuffer (PAGE):	80% Formamid, 0,1 % Xylen Cyanol, 0,1 % Brom- phenolblau, 2mM EDTA
5x SDS-Probenpuffer reduzierend:	0.5 M Tris/HCl, pH=6.8, 0.025 % Bromphenolblau, 10% (w/v) SDS, 20 % (v/v) Glycerin, 25 % 2- Mercaptoethanol

6.7.2. Blotpuffer

Southern Denaturierungspuffer:	3 M NaCl, 0.4 M NaOH
Transferpuffer:	3 M NaCl, 8 mM NaOH
Neutralisierungspuffer:	0.2 Natrium-Phosphat, pH=6.8
Western Transferpuffer:	25 mM Tris, 192 mM Glycin, 10 % Methanol

6.7.3. Hybridisierungslösungen

20fach SSC:	3 M NaCl, 0.3 M Natriumcitrat; pH=7 mit NaOH einstellen
100 x Denhardt's:	2 % (w/v) Ficoll 400, 2 % (w/v) PVP, 2 % (w/v) BSA
Southern Hybridisierungspuffer:	5 x Denhardt's, 5 x SSC, 0.1 % SDS
'High Stringency' Waschpuffer:	0.1 x SSC, 0.1 % SDS
Northern Hybridisierungspuffer:	50 % (v/v) Formamid deion., 5 x Denhardt's, 5 x SSC, 0.1 % SDS
RPA Hybridisierungspuffer:	80 % (v/v) Formamid deion., 40 mM PIPES , 400 mM NaCl, 1 mM EDTA; pH=6,4

6.7.4. Allgemeine Lösungen

TBS (Tris buffered Saline):	10mM Tris-HCl, pH=8,0, 150 mM NaCl
TBST:	1xTBS + 0,05% Tween-20
PBS:	137 mM NaCl, 2,7 mM KCl, 1,5 mM KH ₂ PO ₄ , 6,5 mM NaHPO ₄ ·2H ₂ O
TE-Puffer:	10 mM Tris, 1 mM EDTA; pH=8,0 mit HCl
Puffer RLN:	50 mM Tris, 140 mM NaCl, 1,5 mM MgCl ₂ , 0,5% NP-40 oder Triton-X100; pH=8,0 mit HCl

6.7.5. SDS-PAGE Lösungen

Sol. A:	24% Acrylamid, 0,64% Bis-Acrylamid
Sol. B:	1,5 M Tris-HCl, pH=8,8
Sol C:	10% SDS
Sol. D:	0,5 M Tris-HCl, pH=6,8