

3 Materialien

3.1 Geräte

Folgende spezielle Geräte wurden in dieser Arbeit verwendet.

<i>Geräte</i>	<i>Firma</i>
Autoklav H+P Varioclav Typ 250 T	Schembera (München)
Brutschrank Memmert INCO 2	Memmert (Schwabach)
Eppendorf Multipipette Plus	Eppendorf (Hamburg)
Eppendorf Pipetten Reference	Eppendorf (Hamburg)
Eppendorf-Tischzentrifuge 5415 D	Eppendorf (Hamburg)
Fluoreszenzmikroskop Diaplan Leitz	Leica Microsystems (Wetzlar)
Invert-Mikroskop Axiovert 25	Zeiss (Jena)
Luminometer Sirius-2	Berthold Detection Systems (Pforzheim)
Mikroplatten-Reader Elx800	Bio-Tek Instruments (Winooski/USA)
Mikroskop Optiphot 2	Nikon (Düsseldorf)
Neubauer Zählkammer	GLW (Würzburg)
Pipettierhilfe Eppendorf easypet	Eppendorf (Hamburg)
Reinraumwerkbank	BDK Luft- und Reinraumtechnik (Sonnenbühl-Genkingen)
Transmissionselektronenmikroskop EM 10CR	Zeiss (Jena)
Ultramikrotom Ultracut E	Reichert-Jung (Wien/Österreich)
Vakuumpumpe Laboport	KNF Neuberger (Freiburg)
Videokamera C3 CCD DXC (für Mikroskop Optiphot 2 und Fluoreszenzmikroskop Diaplan Leitz)	Sony (Köln)
Videokamera Inteq 000610 (für Invert-Mikroskop Axiovert 25)	Inteq (Berlin)
Vortex-Mixer 7-2020	Neolab (Heidelberg)
Wärmeschrank Memmert Modell 600	Memmert (Schwabach)
Zentrifuge Varifuge RF	Heraeus Sepatech (Osterode)

3.2 Verbrauchsmaterialien

<i>Verbrauchsmaterialien</i>	<i>Firma</i>
Beemkapsel (Elektronenmikroskopie)	Plano (Marburg)
Combitips plus (für Eppendorf Multipipette Plus)	Eppendorf (Hamburg)
Glasplättchen (Ø 12 mm)	Carl Roth (Karlsruhe)
Kanülen	Lehnecke (Schortens)
Kodak Electron Microscope Film (4489)	Kodak (Stuttgart)
Kryoröhrchen	Bibby Sterilin (Staffordshire/UK)
Kupfergrids (Elektronenmikroskopie)	Plano (Marburg)
Membranfilter (steril, 0,45 µm)	Eppendorf (Hamburg)
Messröhrchen (Ø 12 mm, 75 mm Höhe)	Sarstedt (Nümbrecht)
Mikrotiterplatten (96er)	Iwaki (Tokyo/Japan)
Pasteurpipetten	Th. Geyer Berlin (Berlin)
Pipettenspitzen	Carl Roth (Karlsruhe)
Reaktionsgefäße	Eppendorf (Hamburg)
Serologische Einwegpipetten	Carl Roth (Karlsruhe)
Spritzen	Lehnecke (Schortens)
Sterilfilter (0,2 µm)	Schleicher & Schuell (Dassel)
Zellkulturschalen	Iwaki (Tokyo/Japan)
Zellschaber	Sigma-Aldrich Chemie (Deisenhofen)
Zentrifugenröhrchen	Zefa Labortechnik (Harthausen)

3.3 Zellkulturmedien und Zusätze

<i>Medien/Mediensupplemente</i>	<i>Firma</i>
BME-Vitamine (Basal Medium Eagle Vitamin Solution)	Sigma-Aldrich Chemie (Deisenhofen)
DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium)	Sigma-Aldrich Chemie (Deisenhofen)
ECGS (Endothelial Cell Growth Supplement)	Becton Dickinson (Bedford/USA)
EGM-2 MV BulletKit (Microvascular Endothelial Cell Growth Medium-2)	Cambrex Bio Science Verviers (Verviers/Belgien), ehemals Bio Whittaker Europe
FBS (Fetales Bovines Serum)	Sigma-Aldrich Chemie (Deisenhofen)
Heparin	Sigma-Aldrich Chemie (Deisenhofen)
L-Glutamin	Sigma-Aldrich Chemie (Deisenhofen)
Penicillin/Streptomycin	Sigma-Aldrich Chemie (Deisenhofen)

3.4 Chemikalien/Reagenzien

<i>Chemikalien/Reagenzien</i>	<i>Firma</i>
Agar	Merck Eurolab (Darmstadt)
Azur II	Merck Eurolab (Darmstadt)
Bacto Gelatine	Difco Laboratories (Detroit/USA)
Cacodylsäure Natriumsalz Trihydrat	Merck Eurolab (Darmstadt)
DDSA (2-Dodeceny succinic-Acid Anhydride)	Serva Electrophoresis (Heidelberg)
Di-Natriumtetraborat	Merck Eurolab (Darmstadt)
DMP-30 (2,4,6-Tri(dimethylaminomethyl) Phenol)	Serva Electrophoresis (Heidelberg)
DMSO (Dimethylsulfoxid)	ICN Biomedicals (Eschwege)
Epon-Glycidether	Serva Electrophoresis (Heidelberg)
Ethanol	Carl Roth (Karlsruhe)
Giemsa-Lösung	Fluka Chemie (Buchs/Schweiz)
Glutaraldehyd	Serva Electrophoresis (Heidelberg)
HBSS (HEPES Buffered Saline Solution)	Cambrex Bio Science Verviers (Verviers/Belgien), ehemals Bio Whittaker Europe
Kaliumferrocyanid	Merck Eurolab (Darmstadt)
May-Grünwald-Lösung	Fluka Chemie (Buchs/Schweiz)
Methylenblau	Merck Eurolab (Darmstadt)
MNA (Methyl Nadic Anhydride)	Serva Electrophoresis (Heidelberg)
Osmiumtetroxid	Merck Eurolab (Darmstadt)
Paraformaldehyd	Merck Eurolab (Darmstadt)
PBS (Phosphate Buffered Saline, ohne Ca ²⁺ - und Mg ²⁺ -Ionen)	Biochrom (Berlin)
Propylenoxid	Serva Electrophoresis (Heidelberg)
TNS (Trypsin-Neutralizing Solution)	Cambrex Bio Science Verviers (Verviers/Belgien), ehemals Bio Whittaker Europe
Trypsin/EDTA-Lösung	Sigma-Aldrich Chemie (Deisenhofen)
Trypsin/EDTA-Lösung (0,025%/0,01%)	Cambrex Bio Science Verviers (Verviers/Belgien), ehemals Bio Whittaker Europe
Ultrostain I, Ultrostain II	Leica Microsystems (Wetzlar)

3.5 Reagenzsysteme/Kits

<i>Reagenzsysteme/Kits</i>	<i>Firma</i>
Luciferase-Assay System	Promega (Mannheim)
Pierce BCA Protein Assay Reagent Kit	Perbio Science Deutschland (Bonn)
SuperFect Transfection Reagent	Qiagen (Hilden)

3.6 Immunreagenzien

<i>Immunreagenzien</i>	<i>Firma</i>
Antikörper Kaninchen anti-Ziege IgG, FITC-konjugiert	DAKO Diagnostika (Hamburg)
Fluorostab	Progen Biotechnik (Heidelberg)
Protein Block Serum-Free	DAKO Diagnostika (Hamburg)
Polyklonaler Antikörper Ziege anti-Kollagen IV	Chemicon (Hofheim)
Ziegenserum (normal)	DAKO Diagnostika (Hamburg)

3.7 Plasmidkonstrukte

<i>Vektoren</i>	<i>Herkunft</i>
pCK5	Munich Biotech AG (Neuried)
pJWM115	Munich Biotech AG (Neuried)
pPO12	Munich Biotech AG (Neuried)
pPO14	Munich Biotech AG (Neuried)
pPO18	Munich Biotech AG (Neuried)
pPS12	Munich Biotech AG (Neuried)
pPS6	Munich Biotech AG (Neuried)

Zur Übersicht über die genaue Zusammensetzung der verwendeten Plasmidkonstrukte siehe Kapitel 4.5.1.

3.8 Zellen

Zellen	Herkunft
HDMEC	Endothelzellen aus der Vorhaut von Neugeborenen; Cambrex Bio Science Verviers (Verviers/Belgien), ehemals Bio Whittaker Europe
MHEC5	Endothelzellen aus dem Herzmuskel von Mäusen; Prof. Dr. J. Plendl, Institut für Veterinär-Anatomie, FU Berlin (Berlin)
S180	Murine Fibrosarkomzellen; Prof. R. Auerbach, University of Wisconsin (Madison/USA)

3.9 Software

Software	Firma
Axiovision (Bildverarbeitungssoftware in Verbindung mit Videokamera Inteq 000610)	Zeiss (Jena)
FB-12 Sirius (Luminometersoftware)	Berthold Detection Systems (Pforzheim)
KCjunior (Photometersoftware)	Bio-Tek Instruments (Winooski/USA)
Lucia M (Bildanalysestystem in Verbindung mit Videokamera C3 CCD DXC)	Nikon (Düsseldorf)
WinFreeze (Anwendungssoftware zur effizienten Verwaltung von kryokonserviertem Untersuchungsmaterial)	Marco Manago, Jasmin Lienau (Rechteinhaber)

3.10 Lösungen, Medien

Gebrauchslösung Epon für die Transmissionselektronenmikroskopie:

DMP-30	1,48%
MNA	24,78%
DDSA	28,13%
Epon-Glycidether	45,61%

Färbelösung nach Richardson für die Transmissionselektronenmikroskopie:

Lösung A:	1% Azur II in Aqua dest.
Lösung B:	1% Methylenblau in 1% Di-Natriumtetraborat (in Aqua dest.)
Gebrauchslösung:	1 Teil Lösung A und 1 Teil Lösung B

Erhaltungsmedium DMEM⁺ zur Kultivierung muriner Endothel- und Fibrosarkomzellen:

L-Glutamin (200 mM)	1%
Penicillin/Streptomycin (10.000 U/ml, 10 mg/ml)	1%
FBS	10%
DMEM (mit 4500 mg Glukose/l, HCl, NaHCO ₃ , ohne L-Glutamin)	88%

Selektivmedium P0 zur Kultivierung muriner Endothelzellen:

BME-Vitamine (100x)	1%
Heparin (0,25%)	1%
ECGS (2,5 mg/ml DMEM)	2%
FBS	10%
S180-konditioniertes Medium	20%
DMEM ⁺	66%

Wachstumsmedium EGM-2 MV zur Kultivierung humaner Endothelzellen (nach Herstellerprotokoll):

Hydrocortison	0,04%
Vitamin C	0,10%
Gentamicin/Amphotericin	0,10%
VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor)	0,10%
hEGF (Human recombinant Epidermal Growth Factor)	0,10%
Long R3-IGF-1 (Human recombinant Insulin-like Growth Factor)	0,10%
hFGF-B (Human Fibroblast Growth Factor – Basic with Heparin)	0,40%
FBS	5,00%
EBM-2 (Endothelial Cell Basal Medium-2)	94,06%

Medium zur Kryokonservierung der Endothelzellen:

DMSO	10%
Kulturmedium	90%