

Anhang I: Verwendete Puffer, Stammlösungen und Chemikalien:

(Gewichtsangaben beziehen sich auf 1l Lösung)

Allgemeines:

Pipetten:	Eppendorf <i>Reference variabel</i>	0,1-2,5µl	4910 000.085
		0,5-10µl	4910 000.018
		10-100µl	4910 000.042
		100-1000µl	4910 000.065
	Eppendorf <i>Titerman</i> , 12-Kanal	30-300µl	4908 000.558
Pipettenspitzen:	Eppendorf <i>Standartips</i>	2,5µl	0030 000.617
		10µl	0030 001.168
		100µl	0030 003.004
		300µl	0030 001.486
		1000µl	0030 015.002
Pipettiergefäße:	Eppendorf <i>Safe Lock</i>	0,2ml	0030 124.200
		1,5ml	0030 120.086
		2,0ml	0030 120.094

Tierversuch:

Thy1-Antikörper: ER4-Hybridom; zur Verfügung gestellt von Dr. Emile de Heer, Leiden, Holland

PBS (Phosphate-Buffered Saline): 8g NaCl (Merck 1.06404.)
1,44g Na₂HPO₄ (Merck 1.06574.);
Die Lösung wurde autoklaviert.

Futter: für die genaue Zusammensetzung der Diäten s. Anhang II

L-Arginin-Hydrochlorid: Sigma A-6969

Metabolische Käfige: Tecniplast 3701 M 0-000

Penicillin-Streptomycin-Lösung: Sigma P-0781

4M GITC (Guanidiumthiocyanat): 500g GITC (Sigma G-9277)
100ml 1M Tris-HCl (pH 7,5), autoklaviert;
Die Lösung wurde steril gefiltert;
direkt vor dem Gebrauch wurde
1% 14,3M β-Mercaptoethanol
(Sigma M-6250) zugefügt.

1M Tris-HCl (pH 7,5): 121g Tris-Base (Serva 37190)
65ml konzentrierte HCl (Merck 1.09057.)

Kunststoffsiebe: *Polypropylen Monofil* 150µm (Neolab 40001442)
105µm (Neolab 40001444)
70µm (Neolab 40001445)

Butterfly-Kanülen: Braun *Venofix* grün (4048083)
Heparin-Röhrchen: Becton Dickinson *Vacutainer* (367704)
EDTA-Röhrchen: Becton Dickinson *Vacutainer* (367615)
10ml-Spritzen: Braun *Injekt* 10ml (4606108)
2ml-Spritzen: Braun *Injekt* 2ml (4606027)
Skalpelle: *Disposable Scalpels* (Feather No. 21)

Albumin-ELISA:

Coating-Lösung: 0,2mg Ratten-Serum-Albumin (RSA) (Sigma A-2018)
0,1M NaHCO₃ (Merck 1.06329.)

AlbELISA-Puffer: 20mM Diethylmalonsäure (Aldrich 24.654-9)
150mM NaCl (Merck 1.06404.)
0,1mM EDTA (Serva 11278)
1ml Tween 20 (Sigma P-1379)
5g Gelatine 75bloom (Sigma G-6650);
Der pH wurde auf 7,4 titriert.

Mikrotiterplatten: *Maxisorp* F96 (Nunc 442404)

Conjugate-Lösung: Peroxydase-konjugierter Anti-RSA-Antikörper
(Amersham Life Science NA 934)
Verdünnung: 1:10000

Frischhaltefolie: *Toppits* Frischhaltefolie (Melitta 1-5000-15)

Substratlösung: 5ml Aqua bidest.
5ml AlbELISA-Puffer
1 Tablette 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin-Dihydrochlorid
(Sigma T-8768)
direkt vor der Messung wurden
2µl 30% Wasserstoffperoxid (Sigma H-1009)
hinzugefügt.

PAS-Histologie:

Formalin: 10% Formalin in 10ml-Flaschen (Sigma HT-50-1)

Xylol: Sigma X-1075

Objektträger: Marienfeld 1000200

Perjodsäure: Sigma P-7875

Schiff'sches Reagenz: Sigma B-395

Deckgläser: 40x24mm (Assistent 990)

Histokitt: Sigma O-3989

RNA-Isolation:

Sarcosin: 10% Lauryl sulfate (Sigma L-4509);
die Lösung wurde steril filtriert.

5,7M CsCl: Boehringer Mannheim 757306; die Lösung wurde autoklaviert.

Ultrazentrifugenröhrchen: *Ultra Clear* Centrifuge Tubes (Beckmann 347356)
Phenol-Chloroform: Phenol:Chloroform:Isoamylalkohol 25:24:1 (Sigma P-3803)

DEPC-Wasser: 0,1% Diethylpyrocarbonat (Sigma D-5758);
die Lösung wurde autoklaviert.

Natriumacetattrihydrat: Sigma S-7899
Ethanol: J.T. Baker 8006

RT-PCR:

DNase-Kit: Desoxyribonuklease I, Amplification Grade, 100U, 1U/ μ l
(Gibco BRL 18068-015)
DNase-Puffer: 200mM Tris-HCl (pH 8,4)
20mM MgCl₂
500mM KCl

RT-Kit: M-MLV Reverse Transkriptase, 40000U, 200U/ μ l
(Gibco BRL 28025-013)
5fach RT-Puffer: 250mM Tris-HCl (pH 8,3)
375mM KCl
15mM MgCl₂

RNAsin: RNAsin Ribonuclease Inhibitor, 2500U, 40U/ μ l
(Promega N2111)

Random Hexamers: Random primer p(dN)₆ (Boehringer Mannheim 1034731)

dNTPs (Desoxynukleotidtriphosphate): Ultrapure dNTP-Set;
2'-Desoxynukleoside-5'-Triphosphate
(Pharmacia Biotech 27-2035-02)

Taq-Polymerase-Kit: Taq-DNA-Polymerase, 500U, 5U/ μ l
(Gibco BRL 18038-026)
10fach-PCR-Puffer: 200mM Tris-HCl (pH 8,4)
500mM KCl

β -Aktin-Primer: Rat β -Aktin Control Amplimer Set (Clontech 5506-1)

RNA-/DNA-Gelelektrophorese:

Agarose: *for routine use* (Sigma A-9539)
Ethidiumbromid: Sigma E-1510

BPB-Loading Buffer: 0,25% Bromphenolblau (Sigma B-8026)
30% Glycerol (Sigma G-8773)

TAE-Elektrophorese-Puffer:

Vorratslösung (50x): 242g Tris-Base (Serva 37190)
57,1ml Eisessig (Merck 1.00056.)
100ml 0,5M EDTA (pH 8,0) (Serva 11278)

Arbeitslösung (1x): Die Stammlösung wurde 1:50 verdünnt, es entstanden folgende Konzentrationen:
0,04M Tris-HCl
0,001M EDTA

Zellkultur:

DMEM (Dulbecco's modified Eagle medium): (Sigma 6429, modifiziert)
-L-Glutamin
-Penicillin
-Streptomycin
-0,5% fetales bovines Serum

LPS: Lipopolysaccharide from *Escherichia coli* (Sigma L-3129)
[¹⁴C]-Arginin: L-(Guanido-¹⁴C)-Arginin (Amersham LifeScience CFB 63)

Griess-Assay:

Mikrotiterplatten: 96-Well-Plates, flat bottom (Corning 25880-96)
Natriumnitrat: Sigma S-5506
Nitratreduktase: Boehringer Mannheim 981249
NADPH: Sigma N-2358

Griess-Reagenz I: 1g Naphthylethylendiamin-Dihydrochlorid (Sigma N-5889)

Griess-Reagenz II: 10g Sulfanilamid (Sigma S-9251)
60ml konzentrierte H₃PO₄ (Sigma P-6560)

Arginase-Assay:

Arginase-Puffer (pH 4,5): 250mM Essigsäure (Merck 1.00056.)
100mM Harnstoff (Aldrich U270-9)
10mM L-Arginin (Sigma A-5006)

Dowex: Sigma I-8880

Szintillationsgefäße: 50ml-Einmalgefäße (Roth 0794.1)

Szintillationsflüssigkeit: Beckmann *Ready Safe* 158735

ODC-Assay:

ODC-Puffer: 7,06g Na₂HPO₄ (Merck A904174)
0,38g EDTA (Serva 11278)
2,1g NaF (Sigma S-7920)
0,5g Pyridoxalphosphat (Sigma P-9255)
3,86g Dithiothreitol (DTT) (Sigma D-9779);
Der pH wurde auf 5,2 titriert.

PMSF: Propylmethylsulfonylfluorid (Sigma P-7626)

ODC: Ornithin-Decarboxylase (Sigma O-3001)

[¹⁴C]-Ornithin: L-[1-¹⁴C]-Ornithine hydrochloride (Amersham LifeScience CFA 491)

Meßröhrchen: 15ml-Einmalgefäße (Falcon 2096)

Filterpapier: Sigma Z-177571

Insulinspritzen: *Omnifix* 40 plus (Braun 2240926)

Albumin-Standard: bovines Serum-Albumin (Sigma A-8551)

Bradford-Reagenz: 100mg Coomassie Brilliant Blue (Serva 17524)

50ml Ethanol absolut (J.T. Baker 8006)

100ml 85% H₃PO₄ (Sigma P-6560)

Anhang II: Zusammensetzung der Diäten:

Hersteller: Altromin
Gesellschaft für Tierernährung mbH
Lange Straße 42
32791 Lage

Inhaltsstoffe I	Einheit	C ₁₀₀₀	+P+A / +P++A*	+P-A	-P+A	-P-A
Rohprotein	mg/kg	172650,00	230137,00	230521,00	61368,40	60838,10
Rohfett	mg/kg	50830,00	50580,30	50579,90	60655,52	60680,50
Rohfaser	mg/kg	40450,00	40267,90	40266,70	40569,26	40568,60
Rohasche	mg/kg	54930,00	51912,00	51912,40	60339,02	60733,00
Feuchtigkeit	mg/kg	87800,00	72142,00	72567,00	74923,50	76881,50
Disaccharide	mg/kg	111400,00	111400,00	111400,00	98000,00	98000,00
Polysaccharide	mg/kg	471700,00	429692,00	429336,00	520136,90	518339,10
umsetzbare Energie	kcal/kg	3500,50	3541,57	3602,11	3205,50	3258,43
Lysin	mg/kg	17322,00	24439,65	27904,65	4070,67	5629,65
Methionin	mg/kg	10635,00	13715,25	13715,25	3664,95	4310,25
Cystin	mg/kg	3140,00	4485,50	4485,50	737,90	1020,50
Threonin	mg/kg	7054,00	5757,55	5757,55	1657,69	2292,55
Tryptophan	mg/kg	1960,00	2122,00	2122,00	460,60	637,00
Arginin	mg/kg	9700,00	18794,50	3845,50	18792,70	3845,50
Histidin	mg/kg	5200,00	5740,00	5740,00	1222,00	1690,00
Isoleucin	mg/kg	7120,00	10432,00	10432,00	1673,20	2314,00
Leucin	mg/kg	14440,00	15583,00	15583,00	3393,40	4693,00
Phenylalanin	mg/kg	7040,00	13673,00	13673,00	1654,40	2288,00
Valin	mg/kg	3170,00	9148,25	9148,25	744,95	1030,25
Alanin	mg/kg	2316,00	4217,70	4217,70	544,26	752,70
Asparaginsäure	mg/kg	3404,00	10511,30	10511,30	799,94	1106,30
Glutaminsäure	mg/kg	23172,00	47130,90	57030,90	5445,42	7530,90
Glycin	mg/kg	3030,00	24624,75	26594,75	712,05	984,75
Prolin	mg/kg	12516,00	7532,70	7532,70	2941,26	4067,70
Serin	mg/kg	5130,00	5132,25	5132,25	1205,55	1667,25
Tyrosin	mg/kg	9170,00	6442,25	6445,25	2154,95	2980,25
Vitamin A	IE/kg	15000,00	15000,00	15000,00	15000,00	15000,00
Vitamin D₃	IE/kg	500,00	500,00	500,00	500,00	500,00
Vitamin E	mg/kg	163,90	163,63	163,63	166,29	166,33
Vitamin K₃	mg/kg	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Vitamin B₁	mg/kg	20,04	20,01	20,01	20,01	20,01
Vitamin B₂	mg/kg	20,32	20,11	20,11	20,08	20,11
Vitamin B₆	mg/kg	15,03	15,01	15,01	15,01	15,01

Inhaltsstoffe II	Einheit	C ₁₀₀₀	+P+A / +P++A*	+P-A	-P+A	-P-A
Vitamin B ₁₂	mg/kg	0,04	0,03	0,03	0,03	0,03
Nikotinsäure	mg/kg	50,17	50,06	50,06	50,04	50,06
Pantothensäure	mg/kg	50,11	50,03	50,03	50,03	50,03
Folsäure	mg/kg	10,01	10,00	10,00	10,00	10,00
Biotin	mg/kg	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Cholinchlorid	mg/kg	1011,50	1003,74	1003,74	1002,70	1003,74
P-Aminobenzoës.	mg/kg	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Inosit	mg/kg	111,00	103,58	103,58	102,59	103,58
Vitamin C	mg/kg	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00
Calcium	mg/kg	9530,00	9251,13	9250,82	9760,40	9791,27
Ges. Phosphor	mg/kg	7530,12	6480,05	6479,96	6724,34	6862,48
Verd. Phosphor	mg/kg	7206,92	6161,57	6161,52	6395,64	6533,99
Magnesium	mg/kg	738,87	727,75	727,68	746,12	746,08
Natrium	mg/kg	2498,76	2478,17	2478,10	2494,51	2495,79
Kalium	mg/kg	7170,02	7102,19	7102,13	7107,54	7115,34
Schwefel	mg/kg	2049,54	1218,96	1218,90	1548,49	1657,99
Chlor	mg/kg	3630,00	3630,00	3630,00	3630,00	3630,00
Eisen	mg/kg	178,56	177,78	177,78	178,04	178,12
Mangan	mg/kg	100,89	100,84	100,83	100,89	100,88
Zink	mg/kg	29,29	25,85	25,84	25,54	25,99
Kupfer	mg/kg	5,64	5,51	5,51	5,54	5,55
Jod	mg/kg	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
Molybdän	mg/kg	0,20	0,20	0,20	0,21	0,21
Fluor	mg/kg	4,17	4,17	4,17	4,17	4,17
Selen	mg/kg	0,33	0,28	0,28	0,27	0,28
Kobalt	mg/kg	0,15	0,14	0,14	0,15	0,15
Palmitinsäure	mg/kg	2700,00	2700,00	2700,00	3240,00	3240,00
Palmitoleinsäure	mg/kg	2,50	2,50	2,50	3,00	3,00
Stearinsäure	mg/kg	1250,00	1250,00	1250,00	1500,00	1500,00
Ölsäure	mg/kg	10950,00	10950,00	10950,00	13140,00	13140,00
Linolsäure	mg/kg	35050,00	35050,00	35050,00	42060,00	42060,00
Linolensäure	mg/kg	150,00	150,00	150,00	180,00	180,00
Arachinsäure	mg/kg	250,00	250,00	250,00	300,00	300,00
Eicosaensäure	mg/kg	250,00	250,00	250,00	300,00	300,00
Eicosadiensäure	mg/kg	250,00	250,00	250,00	300,00	300,00
Behensäure	mg/kg	250,00	250,00	250,00	300,00	300,00
Aluminium	mg/kg	3,68	3,22	3,22	3,52	3,55

*diese Diät hatte die gleiche Zusammensetzung wie +P+A; das Trinkwasser wurde hier zusätzlich mit 1% Arginin-Hydrochlorid versetzt.