

3. MATERIALIEN

3.1. Chemikalien

3.1.1. Chemikalien für die Oligoribonukleotidsynthese und Entschützung

Acetonitril < 10 ppm Wasser	Carl Roth, Karlsruhe
Acetonitril < 30 ppm Wasser	J. T. Baker, Phillipsburg NJ, USA
33 % Ammoniak	Riedel de Haën, Seele
Ethanol, absolut	Merck, Darmstadt
1,N ⁶ -Ethenoriboadenosin Phosphoramidit	ChemGenes, Waltham MA, USA
Expedite [®] RNA Phosphoramidite	PerSeptive Biosystems, Hamburg
Iod/Wasser/Pyridin/Tetrahydrofuran	Applied Biosystems, Weiterstadt
1-Methylimidazol	Applied Biosystems, Weiterstadt
„PAC“-Phosphoramidite	Eurogentech, Heidelberg
	ChemGenes, Waltham MA, USA
ribo-CPG (rC- <i>t</i> BPA, 500 Å)	PerSeptive Biosystems, Hamburg
„Standard“-Phosphoramidite	Dr. Rolf Bald / Kerstin Beyer, FU-Berlin
<i>tert</i> -Butylphenoxyacetanhydrid in THF	PerSeptive Biosystems, Hamburg
1,1 M Tetrabutylammoniumfluorid/THF	Aldrich, Steinheim
Tetrazol/Acetonitril	Applied Biosystems, Weiterstadt
Trichloressigsäure in Dichlormethan	Applied Biosystems, Weiterstadt

3.1.2. Weitere verwendete Chemikalien

Acetonitril p. A. zur Pufferherstellung	J. T. Baker, Phillipsburg NJ, USA
Acrylamid	Gerbu, Gaiberg
L-Adenosin	Dr. Rolf Bald / Kerstin Beyer, FU Berlin
Ammoniumperoxodisulfat	Merck, Darmstadt
Borsäure	Riedel de Haën, Seelze
Bromphenolblau	Serva, Heidelberg
EDTA ultrapure bioreagent	J. T. Baker, Phillipsburg NJ, USA
1,N ⁶ -Ethenoriboadenosin	Dr. Rolf Bald, FU-Berlin
1,N ⁶ -Ethenoriboadenosin-Monophosphat	Sigma, Deisenhofen
Ethidiumbromid	Fluka, Neu-Ulm
Essigsäure	J. T. Baker, Phillipsburg NJ, USA
Formamid	Merck, Darmstadt
Glykogen	Boehringer, Mannheim

Harnstoff	Gerbu, Gaiberg
Magnesiumchlorid Hexahydrat p. A.	Merck, Darmstadt
N,N'-Methylenbisacrylamid	Serva, Heidelberg
Natriumacetat p. A.	Riedel de Haën, Seelze
Natriumchlorid p. A.	Merck, Darmstadt
Natriumhydroxid p. A.	Merck, Darmstadt
Natriumdihydrogenphosphat p. A.	Merck, Darmstadt
Natriumphosphat p. A.	Merck, Darmstadt
Salzsäure p. A.	Riedel de Haën, Seelze
„Stains-All“	Serva, Heidelberg
Szintillationsflüssigkeit Ready Protein ⁺ ™	Beckman, Fullerton CA, USA
N,N,N',N'-Tetramethylethyldiamin (TEMED)	Serva, Heidelberg
Triethylamin	BASF, Ludwigshafen
Tris(hydroxymethyl)aminomethan (Tris)	Merck, Darmstadt
	Gerbu, Gaiberg
Wasser, steril	Reinstwasseranlage Milli-Q, Millipore
Xylencyanol	Serva, Heidelberg

3.2. Radioisotope

[2,8(n)- ³ H]-L-Adenosin	Amersham Buchler, Braunschweig
-------------------------------------	--------------------------------

3.3. Enzyme

Alkalische Phosphatase (Kälberdarm)	Boehringer Mannheim
Ribonuklease T2 (<i>Aspergillus oryzae</i>)	Life Technologies, Eggenstein
Phosphodiesterase (<i>Crotalus durissus</i>)	Boehringer Mannheim

3.4. Puffer und Lösungen

3.4.1. Puffer für die Gelelektrophorese

Stammlösung für den Laufpuffer

5x TBE-Puffer	455,0 mM Tris
	455,0 mM Borsäure
	10,0 mM EDTA

Probenpuffer

Für Harnstoffgele	0,1 % Bromphenolblau 0,1 % Xylencyanol Formamid (50 v/v)
-------------------	--

3.4.2. Puffer für Enzymatische Reaktionen***Ribonuklease T2 Verdau***

10x RNase T2 Puffer	500 mM Tris-HCl, pH 7,0 250 mM Magnesiumchlorid
---------------------	--

Phosphodiesterase Verdau

10x SVP Puffer	200 mM Tris-HCl, pH 7,0 50 mM Magnesiumchlorid
----------------	---

3.4.3. HPLC Puffer

Puffer A	100 mM Triethylammoniumacetat, pH 7,0
Puffer B	100 mM Triethylammoniumacetat, pH 7,0 80 % Acetonitril

3.4.4. weitere Puffer

L-Adenosin-Bindungspuffer	40,0 mM Tris-HCl, pH 7,5 250,0 mM Natriumchlorid 5,0 mM Magnesiumchlorid 0,5 mM EDTA
Elutionspuffer für Qiagensäulen	2,0 M Triethylammoniumacetat, pH 7,0

Alle hier aufgeführten Puffer wurden nach Herstellung sterilfiltriert.

3.5. Trennsäulen

NAPTM5, 10, 25
 NICK
 QIAGEN-tip 500
 Ultrasphere[®] ODS C18, 5 µm

Pharmacia, Freiburg
 Pharmacia, Freiburg
 Qiagen, Hilden
 Beckman, Fullerton CA, USA

3.6. Geräte

Autoklav
 DNA/RNA-Syntheseautomat

Drehschiebervakuumpumpe
 Elektrophoresekammer
 Fluoreszenzspektrometer
 Gefriertrockner
 Heizblock

Heizschränke
 HPLC-Anlage

HPLC Fluoreszenzdetektor

Kühlfalle
 Magnetrührer
 Ölpumpe
 pH-Meter

Pipetten
 Netzgerät für die Gelelektrophorese
 Quarzküvette

Reinstwasseranlage
 Schüttler
 Spektralphotometer
 Sterilfiltrationsanlage für HPLC Puffer
 Szintillationszähler
 UV-Transilluminator

Vapoklav 500-D, 150 l, Sterico
 391 PCR-MATETM, Applied Biosystems
 394 PCR-MATETM, Applied Biosystems
 RC 5, Vakuubrand GmbH & Co
 Hochgelkammer (19 cm * 21,5 cm), ITC
 LS-50B, Perkin Elmer
 Beta A, Christ
 Thermomixer comfort, Eppendorf
 Bioblock Scientific, Thermolyne Corp.
 Horo, Dr. Hofmann GmbH
 System Gold, Beckman
 Diode Array Detector 168
 Programmable Solvent Module 126
 Säulenofen EFO-Ce 1s
 Analog Interface Module 406
 RF-535 Fluorescence HPLC Monitor,
 Shimadzu
 Unicryo MC 2L-60°C, Uniequip
 Combimag RCT, IKA
 Alcatel 100004 A C
 Digital pH-Meter 646 mit Ingold
 Elektrode, Knick
 Pipetman P2, P20, P100, P1000, Gilson
 Power Supply 2197, LKB Bromma
 104F Suprasil, 1 ml Halbmikroküvette für
 Fluoreszenzspektroskopie, Hellma
 104-QS Suprasil, 1 ml Quarzküvette für
 UV-Spektroskopie, Hellma
 Milli-Q, Millipore
 Vortex Genie 2, Scientific Industries
 UV-160A, Shimadzu
 ME 24, Schleicher & Schüll
 LS 6000 SC, Beckman
 Reprostar II, CAMAG

Vakuumzentrifuge	Speed Vac Concentrator, Savant SVP 150, Univapo
Videosystem	Cybertech CS I mit Videoprozessor, Mitsubishi
Waagen	PC 4400, Mettler 1401 MP8, Satorius
Wasserbäder	U3, 6A, Julabo F3, Haake 2K, Colora Meßtechnik GmbH
Zentrifugen	Kühlzentrifuge 3 K 12, Sigma Biofuge 13 R, Heraeus-SEPATECH Tischzentrifuge 112, Sigma Tischzentrifuge 5413, Eppendorf Biofuge A, Heraeus-SEPATECH

3.7. Verbrauchsmaterialien

Filter	ME 24, 0,2 µm, Schleicher & Schüll Spritzenfilter 25mm, PP steril, 0,2 µM, Nylon, Carl Roth 595½ S&S Faltenfilter Ø 185 mm, Schleicher & Schüll
Kieselgelplatten	DC-Alufolie Kieselgel 60F ₂₅₄ , Merck
Pipettenspitzen	P-20, P-200 und P-1000 Spitzen, Greiner Labortechnik Gilson C-10 Spitzen, Gilson
Reaktionsgefäße	Safe Seal [®] Tubes, 1,7 ml, ambra Safe Seal [®] Tubes, 1,7ml, pre-lubricated, Carl Roth
Probenröhrchen	PPN-Röhrchen, 12 ml, steril, Greiner
Silikonfett	Baysilone-Paste, mittellviskos, bayer-silicone, Bayer
Szintillationsröhrchen	MINIS 2000, 6 ml, Zinsser Analytic