

## 8 ANHANG

### 8.1 USSING-KAMMER-VERSUCHE

#### 8.1.1 Fütterungsregime

Energiereiche Diät: 2 mal täglich 400 g Kraftfutter, mit folgender Zusammensetzung:

**Tabelle 9** Zusammensetzung der Kraftfütterration

<b>Futtermittelbestandteil der Kraftfütterration</b>	<b>Menge</b>
Rohprotein	160g/kg
Rohfaser	130g/kg
Fett	30g/kg
Rohasche	95g/kg
ME	5,9MJ/kg

#### 8.1.2 Entnahme und Präparation der Schleimhäute

##### 8.1.2.1 Inhaltsstoffe des Transportpuffers

**Tabelle 10** Zusammensetzung des Transportpuffers

<b>Inhaltsstoffe des Transportpuffers</b>	<b>Konzentration</b>
Natrium	130mmol/l
Kalium	5mmol/l
Calcium	1mmol/l
Magnesium	2mmol/l
Bicarbonat	25mmol/l
Chlorid	99mmol/l
Dihydrogenphosphat	1mmol/l
Hydrogenphosphat	1mmol/l
Acetat	25mmol/l
Propionat	10mmol/l
Butyrat	5mmol/l
Glucose	10mmol/l
N-methyl-D-glucamin-hydrochlorid	30mmol/l

#### 8.1.3 Allgemeiner Versuchsaufbau und elektrische Messungen

##### 8.1.3.1 Verwendete Technik

Die verwendete Versuchstechnik umfasst die eigentliche Ussing-Kammer, Kalium-Chlorid-Brücken, Agar-Brücken, Ag-AgCl-Brücken, eine Einheit zur externen Stromeinspeisung, eine computergesteuerte „voltage-clamp-Anlage“ (Clamp Version 2.02, Dipl. Ing. K. Mußler, Aachen) sowie ein Gasliftsystem (Firma Landgraf) und ein Pumpthermostat (Haake D1).

### 8.1.3.2 Verwendete Pufferlösung

**Tabelle 11** Zusammensetzung der Standard-Elektrolytlösung

Inhaltsstoffe der Standard- Elektrolytlösung (Fa. Merck und Sigma)	Konzentration
Natrium	90mmol/l
Kalium	5mmol/l
Calcium	1mmol/l
Magnesium	2mmol/l
Bicarbonat	25mmol/l
Chlorid	59mmol/l
Dihydrogenphosphat	1mmol/l
Hydrogenphosphat	1mmol/l
Acetat	25mmol/l
Propionat	10mmol/l
Butyrat	5mmol/l
Glucose	10mmol/l
N-methyl-D-glucamin-hydrochlorid	30mmol/l
pH-Wert	7,4
Osmolarität	300mosmol/l

### 8.1.4 Ionenfluxmessungen für Natrium

#### 8.1.4.1 Verwendete Chemikalien

radioaktiv markiertes Natrium, Amersham, Braunschweig

#### 8.1.4.2 Verwendete Utensilien

Gammacounter, Wallac, Finnland

## 8.2 ZELLKULTURVERFAHREN

### 8.2.1 Kultivierung von REC

#### 8.2.1.1 Zellen

permanente Zelllinie: PES, Katalognummer: Rie 154; Zellbank für Zelllinien in der Veterinärmedizin, Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere, Insel Riems, Herkunft: Dr. Füll, Institut für Veterinärphysiologie, Leipzig

### 8.2.1.2 Zusammensetzung des zur Kultivierung von PEZ benötigten Mediums

**Tabelle 12** Inhaltsstoffe des Mediums zur Kultivierung von REC

Substanz	Menge
DMEM (Biochrom, F0405)	1l
FKS (Biochrom, S0115)	100 ml/l
HEPES, 1M (Biochrom, L1613)	20 ml/l
L-Glutamin, 200mM (Biochrom, K0282)	6,8 ml/l
Kanamycin (Biochrom, A2512)	100 mg/l
Gentamycin (Biochrom, A2712)	50 mg/l

### 8.2.1.3 Verwendete Chemikalien

DMSO (Dimethylsulfoxid), Fa. Sigma, D5879

### 8.2.1.4 Verwendete Utensilien

Brutschrank: Hera cell 150, Heraeus

Zellkulturschalen: 100x20 mm Zellkulturschale, Biochrom, P93100

## 8.3 STIMULATIONSVERSUCHE

### 8.3.1 Verwendete Chemikalien

Natrium-Butyrat: Sodium butyrate, Fa. Sigma, B5887

Laktat: Sodium DL-lactate, Fa. Sigma, L7900

IGF1: insulin-like growth factor 1, human, Fa. Sigma, I3769

EGF: Epidermal growth factor, from murine submaxillary gland, Fa. Sigma, E4127

cAMP / cyclisches Adenosinmonophosphat: N<sup>6</sup>, 2'-O-Dibutyryladenosine 3', 5'-cyclic monophosphate sodium salt, Fa. Sigma, D0627

PGE2: Prostaglandin E2, Fa. Sigma, P5640

### 8.3.2 Verwendete Utensilien

Zellschaber, 30 cm, TPP, Prod.no.: 99003

## 8.4 ISOLIERUNG DER GESAMT-RNA AUS TIERISCHEN ZELLEN

### 8.4.1 Stabilisierung der Proben-RNA

#### 8.4.1.1 Verwendete Chemikalien

RNA Stabilisationsmedium: RNA-Later aus dem „RNeasy Mini Protect Kit“, Fa. Qiagen

## **8.4.2 Aufarbeitung der stabilisierten Gewebeproben**

### **8.4.2.1 Verwendete Chemikalien**

„RNeasy Mini Protect Kit“, Fa. Qiagen: Lysispuffer RLT, „QIAshredder-Säule“, „RNeasy-mini-column“, RW1 Puffer, RPE-Puffer, RNase freies Wasser

RNase-Free DNase Set (50), Fa. Qiagen: DNase1 Stammlösung, RDD-Puffer  
demineralisiertes Wasser = aqua purificata, Fa. Roth, Art.No. 4227.1

Ethanol, Roth, Art.No. 5054.3

β-Mercaptoethanol: 2-Mercaptoethanol, Fa. Roth, Art.No. 4227.1

### **8.4.2.2 Verwendete Utensilien**

rotierendes Dispergierwerkzeug: Ultra turrax T8, Fa. Ika

1,5 ml-Röhrchen: Multi-Reaktionsgefäße, Fa. Roth, Art.No. 7080.1

## **8.4.3 Photometrische Bestimmung des RNA-Gehaltes**

### **8.4.3.1 Verwendete Utensilien**

Photometer: Biophotometer, Fa. Eppendorf

Uvetten, 220-1600 nm, Fa. Eppendorf, Order no. 0030106.300

## **8.5 KONVENTIONELLE PCR**

### **8.5.1 Recherche und Herstellung synthetischer Oligonucleotide**

#### **8.5.1.1 Verwendete Internetseiten**

NCBI: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

Ensembl: <http://www.ensembl.org/>

#### **8.5.1.2 Primerhersteller**

Fa. MWG Biotech; Ebersberg: <http://www.mwg-biotech.com/html/all/index/php>

## 8.5.2 Protokoll der RT-PCR

### 8.5.2.1 Zusammensetzung des reverse-Transkriptase-PCR-Reaktionsansatzes

**Tabelle 13** Reaktionsansatz: RT-PCR

Substanz	Menge (µl)
Primer sense (20 pmol/µl)	0,5
Primer antisense (20 pmol/µl)	0,5
RNase freies Wasser	7,5
Master Mix 2-fach (Fa. ABgene)	10
Template	1
reverse Transkriptase (50U/µl, Fa. ABgene)	0,5

### 8.5.2.2 Reaktionsprotokoll der reversen-Transkriptase-PCR

**Tabelle 14** Reaktionsprotokoll: RT-PCR

Zyklus	Zyklusphase	Wiederholungen	Zeit (Minuten)	Temperatur (°C)
1	Reverse Transkription	1	30	47
2	Denaturierung	1	2	94
3	Denaturierung	30-40	2	94
	Annealing	30-40	1	55
	Elongation	30-40	1	72
4	Finale Elongation	1	5	72
5	Kühlen	1		4

### 8.5.2.3 Verwendete Utensilien

Thermocycler: Techne cyclone 25, Fa. PeqLab Biotechnologie GmbH

## 8.5.3 DNA-Gelelektrophorese

### 8.5.3.1 Verwendete Chemikalien

2%-iges Agarosegel: Seakem LE-Agarose, Fa. Biozym

TAE-Puffer (40mM Tris-HCl (Fa. Roth), 2mM EDTA (Fa. Roth) in Wasser)

DNA-Ladder, Fa. Roth

Ethidiumbromid-Färbung: Ethidiumbromidlösung 1%, Fa. Roth, Art.No. 2218.1

### 8.5.3.2 Verwendete Utensilien

Elektrophoresekammer, Model No. HU6 / Serial No. 3277, Model No. HU10 / Serial No. 3516, Fa. Roth

Power Supply: BIO-RAD, POWER PAC 200

UV-Illuminator: Alpha Innotech, Chemilmager 5500

## 8.5.4 PCR zur Vermehrung eines PCR-Produktes (Massen-PCR)

### 8.5.4.1 Zusammensetzung des Reaktionsansatzes der Massen-PCR

**Tabelle 15** Reaktionsansatz: Massen-PCR

Substanz	Menge (µl)
Master Mix 1.1 (Fa. ABgene)	45
Primer sense (20 pmol/µl)	1
Primer antisense (20 pmol/µl)	1
Template	3

### 8.5.4.2 Reaktionsprotokoll der Massen-PCR

**Tabelle 16** Reaktionsprotokoll: Massen-PCR

Zyklus	Zyklusphase	Wiederholungen	Zeit (Minuten)	Temperatur (°C)
1	Initiale Denaturierung	1	2	94
2	Denaturierung	40	2	94
	Annealing	40	0,5-2	55
	Elongation	40	1	72
3	Finale Elongation	1	5	72
4	Kühlen	1		4

### 8.5.4.3 Verwendete Utensilien

Thermocycler: Techen Cyclone 25, Fa. PeqLab Biotechnologie GmbH

Mini-Tube: PCR Softtubes, 0,2 ml, Art.No. 711000, Art.No. 711080, Fa. Biozym

## 8.5.5 Aufreinigung eines PCR-Produktes

### 8.5.5.1 Verwendete Chemikalien

„QIAquick PCR Product Purification Kit“, Fa. Qiagen: PB1-Puffer, „QIAquick-spin-column“, PE-Puffer, 1,5 ml Mikrozentrifugenröhrchen, RNase freies Wasser

## 8.5.6 Gelextraktion von DNA

### 8.5.6.1 Verwendete Chemikalien

„QIAquick Gel Extraction Kit“, Fa. Qiagen: QG-Puffer, „QIAquick-spin-column“, 2 ml Sammelröhrchen, PE-Puffer

Aqua purificata, Fa. Roth, Art.No. T143.3

Isopropanol: 2-Propanol, Fa. Roth, Art.No. 6752.3

### **8.5.6.2      Verwendete Utensilien**

1,5 ml-Reaktionsgefäß: Multi-Reaktionsgefäße, Fa. Roth, Art.No. 7080.1

Thermomixer compact, Fa. Eppendorf

## **8.6            KOLONIERUNG VON PLASMIDEN**

### **8.6.1         Anfügen von Adenosin-Überhängen**

#### **8.6.1.1      Verwendete Chemikalien**

„A-Addition-Kit“, Fa. Qiagen: „5x QIAGEN A-Addition Master Mix“

#### **8.6.1.2      Verwendete Utensilien**

Brutschrank, Fa. Memmert

Mini-Tube: PCR Softtubes, 0,2 ml, Art.No. 711000, Art.No. 711080, Fa. Biozym

### **8.6.2         Ligation**

#### **8.6.2.1      Verwendete Chemikalien**

„Cloning Kit Plus“, Fa. Qiagen: „Ligation Master Mix 2x“

#### **8.6.2.2      Klonierungsvektor**

„pDrive Cloning Vector“, Fa. Qiagen

### **8.6.3         Transformationsprotokoll**

#### **8.6.3.1      Verwendete Chemikalien**

„Cloning Kit Plus“, Fa. Qiagen: „SOC-Medium“

#### **8.6.3.2      Kompetente Bakterien**

Compentent EZ-cells, Fa. Qiagen, Genotyp: (F<sup>+</sup>::Tn10(Tc<sup>r</sup> proA<sup>+</sup>B<sup>+</sup> lacI<sup>q</sup>ZM15)recA1 and A 1 hsdR17(r<sub>k12</sub><sup>-</sup>m<sub>k12</sub><sup>+</sup>)lac glnV44 thi- 1 gyrA96 relA1)

#### **8.6.3.3      Verwendete Utensilien**

Thermomixer compact, Fa. Eppendorf

Agarplatten

## 8.6.4 Vermehrung der monoklonalen, plasmidtragenden Bakterien in kleinem Maßstab (Mini-Prep-Verfahren)

### 8.6.4.1 Verwendete Chemikalien

LysozymbLösung: Lysozym aus Hühnereiweiß, Fa. Roth, Art.No. 8259.1

Isopropanol: 2-Propanol, Fa. Roth, Art.No. 6752.3

LB-Medium

STET-Puffer, Zusammensetzung des STET-Puffers:

**Tabelle 17** Inhaltsstoffe: STET-Puffer

Substanz	Menge
NaCl (Fa. Roth)	100 mM
Tris (Fa. Roth)	10 mM
EDTA (Fa. Roth)	1mM
Triton X-100 (Sigma)	5% (v/v)
Wasser	als Lösungsmittel

### 8.6.4.2 Verwendete Utensilien

15ml-ReaktionsgefäÙe: 15 ml Centrifuge tubes with screw caps, Fa. Roth

1,5 ml-ReaktionsgefäÙ: Multi-ReaktionsgefäÙe, Fa. Roth, Art.No. 7080.1

Schüttelinkubator: Environmental Shaker, ES 20, Fa. PeqLab

Thermomixer compact, Fa. Eppendorf

## 8.6.5 Prüfung auf das Vorhandensein des Inserts im Plasmid durch Restriktionsverdau

### 8.6.5.1 Verwendete Chemikalien

Restriktionsenzym: EcoR1, EcoR1-Puffer (10-fach), Fa. MBI Fermentas

Aqua purificata, Fa. Roth, Art.No. T143.3

Glycerin, Fa. Roth, Art.No. 7530.1

### 8.6.5.2 Verwendete Utensilien

Mini-Tube: PCR Softtubes, 0,2 ml, Art.No. 711000, Art.No. 711080, Fa. Biozym

Brutschrank, Fa. Memmert



## **8.6.6 Vermehrung von Plasmiden im mittleren Maßstab (Midi-Prep-Verfahren)**

### **8.6.6.1 Verwendete Chemikalien**

„Midiprep Kit“, Fa. Qiagen: Puffer P1, Puffer P2, Puffer P3, „Qiagen-Tip 100“, Puffer QBT, Puffer QC, Puffer QF,

LB-Medium

Ampicillin: Ampicillin Natriumsalz, Fa. Roth, Art.No. K029.1

Isopropanol: 2-Propanol, Fa. Roth, Art.No. 6752.3

70 % Ethanol, Roth, Art.No. 5054.3

Aqua purificata, Fa. Roth, Art.No. T143.3

### **8.6.6.2 Verwendete Utensilien**

Schüttelinkubator: Environmental Shaker, ES 20, Fa. PeqLab

50 ml-Reaktionsgefäße: 50 ml Centrifuge tubes with screw caps, Fa. Roth

15 ml-Reaktionsgefäß: 15 ml Centrifuge tubes with screw caps, Fa. Roth

Brutschrank: Fa. Memmert

BioPhotometer, Fa. Eppendorf

### **8.6.6.3 Sequenzierung**

Die Sequenzierung wurde durchgeführt von: Sequence Laboratories Göttingen GmbH

<http://www.SEQLAB.de>

## **8.6.7 Herstellung von LB-Agar und LB-Medium**

### **8.6.7.1 Verwendete Chemikalien**

LB-Agar, Fa. Roth, X969.1

LB-Broth: LB-Medium, Fa. Roth, X968.1

Ampicillin: Ampicillin Natriumsalz, Fa. Roth, Art.No. K029.1

X-gal, Fa. Roth, 2315.3

IPTG, dioxanfrei, Fa. Roth, 2316.3

### **8.6.7.2 Verwendete Utensilien**

Zellkulturschalen: 100x20 mm Zellkulturschale, Biochrom, P93100

**8.6.7.3 Konzentration der Zusatzstoffe zur Herstellung von LB-Agar-Platten****Tabelle 18** Zusatzstoffe: LB-Agar-Platten

Substanz	Menge
Ampicillin	100 mg/l
X-gal	20g/l
IPTG	240 mg/l

**8.7 QUANTITATIVE PCR****8.7.1 cDNA-Synthese****8.7.1.1 Verwendete Chemikalien**

„iScript-cDNA-Synthese-Kit“, Fa. Bio-Rad: “5x iScript Reaction Mix”, “iScript reverse Transkriptase”, Nuclease freies Wasser

**8.7.1.2 Zusammensetzung des cDNA-Reaktionsansatzes****Tabelle 19** Reaktionsansatz: cDNA-Synthese

Substanz	Menge (µl)
5x iScript Reaction Mix	4
iScript reverse Transkriptase	1
Nuclease freies Wasser	14
RNA Probe (100ng/µl)	1

**8.7.1.3 Reaktionsprotokoll der cDNA-Synthese****Tabelle 20** Reaktionsprotokoll: cDNA-Synthese

Zyklus	Zeit (Minuten)	Temperatur (°C)
1	5	25
2	30	42
3	5	85
4	∞	4

**8.7.1.4 Verwendete Utensilien**

Thermocycler: Techne Cyclone 25, Fa. PeQLab Biotechnologie GmbH

Mini-Tube: PCR Softtubes, 0,2 ml, Art.No. 711000, Art.No. 711080, Fa. Biozym

## 8.7.2 Protokoll der qPCR

### 8.7.2.1 Verwendete Chemikalien

qPCR KIT: „iQ SYBR Green Supermix, Fa: Biorad, Cat.No. 170-8884

Aqua purificata, Fa. Roth, Art.No. T143.3

### 8.7.2.2 Zusammensetzung des Reaktionsansatzes für eine qPCR

**Tabelle 21** Reaktionsansatz: qPCR

Substanz	Menge
Primer sense	0,5µl
Primer antisense	0,5µl
Aqua purificata	6,5µl
Master Mix	12,5µl
Template cDNA	5µl

### 8.7.2.3 Reaktionsprotokoll der qPCR

**Tabelle 22** Reaktionsprotokoll: qPCR

Zyklus	Zyklusphase	Wiederholungen	Schritt	Prozess	Zeit (Min)	Temperatur (°C)
1	Denaturierung	1	1		12	95
2	Amplifikation	35	1	Denaturierung	0,5	95
			2	Annealing/Elongation	2	*
3		1	1		0,5	95
4		1	1		0,5	55
5		80	1	Schmelzkurve	0,2	55-95

### 8.7.2.4 Verwendete Utensilien

qPCR-Platte 96-well, Fa. ABgene, AB-00600

MyiQ Cycler, Fa. Biorad, Cat.No. 170-9740

## 8.7.3 Recherche und Herstellung synthetischer Oligonucleotide für die qPCR

### 8.7.3.1 Verwendete Internetseiten

NCBI: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi>

Primer3: [http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3\\_www.cgi](http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3_www.cgi)

Ensembl: <http://ensembl.org>

### 8.7.3.2 Primerhersteller

Fa. MWG Biotech; Ebersberg: <http://www.mwg-biotech.com/html/all/index/php>

## 8.8 WEITERE VERWENDETE UTENSILIEN UND GERÄTE

Sterilwerkbank 1: captair<sup>R</sup>bio, Fa. Erlab, Sterilwerkbank 2: IGN Gelaire, ICN Biomedicals, HF A48

Vortex: REAX top, Fa. Heidolph

Zentrifugen: centrifuge 5415D, Fa. Eppendorf; e5804R, Fa. Eppendorf

## 8.9 NATRIUMFLUXDATEN, LEITFÄHIGKEITSWERTE UND KURZSCHLUßSTROMWERTE

**Tabelle 23** Tabellarische Darstellung der Natriumfluxdaten sowie der Werte für Leitfähigkeit und Kurzschlußstrom

Gruppe	$J_{ms} Na^+$	$J_{sm} Na^+$	$J_{net} Na^+$	$G_t$	$I_{sc}$
KF0W	3,47	2,28	1,19	2,44	1,44
KF0W	3,8	2,17	1,63	2,58	1,55
KF0W	2,88	2,06	0,81	2,21	1,16
KF0W	4,02	2,06	1,95	2,19	1,39
KF0W	2,72	1,16	1,56	2,46	1,49
KF0W	3,07	1,04	2,03	1,82	0,91
KF0W	3,44	0,6	2,83	2,05	0,96
KF0W	3,51	0,81	2,69	2,27	1,57
KF0W	3,23	1,34	1,89	2,9	1,71
KF0W	2,9	1,11	1,79	2,35	1,55
KF0W	3,67	1,34	2,33	1,62	0,77
KF0W	4,12	1,63	2,49	1,82	1,07
KF0W	4,15	1,01	3,14	1,51	1
KF0W	4,26	1,65	2,61	1,77	0,97
KF0W	3,72	1,19	2,53	1,8	1,01
KF0W	4,11	1,16	2,95	1,86	0,96
KF1W	5,04	2,27	2,77	2,27	1,19
KF1W	4,36	2,13	2,22	2,22	1,75
KF1W	4,36	2,55	1,8	2,62	1,73
KF1W	4,39	1,7	2,7	2,3	1,53
KF1W	6,13	1,17	4,96	2,92	1,78
KF1W	4,78	1,38	3,4	3	1,75
KF1W	5,91	1,2	4,71	2,67	1,8
KF1W	6,91	2,48	4,43	2,61	2,21
KF1W	4,86	1,47	3,4	2,3	1,53
KF1W	4,89	1,07	3,82	2,11	1,78
KF1W	6,08	1,68	4,4	1,87	1,38
KF1W	5,96	1,75	4,21	2,76	1,88
KF1W	6,7	1,53	5,18	2,22	1,33
KF1W	5,45	1,33	4,12	2,56	1,61
KF1W	4,79	0,98	3,81	3,08	1,94
KF2W	5,69	2,46	3,23	2,31	1,66
KF2W	5,84	1,87	3,97	2,36	1,71
KF2W	5,97	2,16	3,81	2,49	2,09
KF2W	4,11	1,81	2,3	4,38	1,46
KF2W	6,01	2,51	3,5	4,8	2,09
KF2W	6,01	1,87	4,14	2,31	1,66

## Anhang

Gruppe	$J_{ms} Na^+$	$J_{sm} Na^+$	$J_{net} Na^+$	$G_t$	$I_{sc}$
KF2W	6,31	1,59	4,71	2,36	1,71
KF2W	7,12	1,59	5,53	2,49	2,09
KF4W	8,39	2,64	5,75	2,33	0,93
KF4W	8,59	2,93	5,66	2,63	0,97
KF4W	8,66	2,93	5,73	3	1,49
KF4W	8,65	2,93	4,86	2,33	0,93
KF4W	5,97	1,46	4,51	2,63	0,97
KF4W	6,21	1,66	4,55	3	1,49
KF4W	5,93	1,86	4,06	2,33	0,93
KF4W	5,93	1,46	4,46	2,63	0,97
KF4W	6,11	1,71	4,41	3	1,49
KF4W	5,48	1,46	4,02	2,33	0,93
KF4W	4,91	0,96	3,95	2,63	0,97
KF4W	5,5	2,39	3,11	3,28	1,25
KF4W	7,12	2,9	4,22	2,56	1,72
KF4W	6,45	2,12	4,33	4,77	1,78
KF4W	6,03	1,15	4,87	2,97	1,81
KF4W	5,96	1,63	4,33	3,28	1,25
KF6W	7,37	2,43	4,93	1,84	0,68
KF6W	7,18	2,19	5	4,19	0
KF6W	5,57	1,84	3,73	2,56	0,64
KF6W	4,65	1,42	3,23	2,29	0,9
KF6W	7,18	1,64	5,54	3,55	0,63
KF6W	7,18	1,74	5,44	2,02	0,7
KF6W	6,46	1,5	4,96	1,65	0,51
KF6W	5,68	2,25	3,43	4,06	1,07
KF6W	5,9	1,25	4,65	3	1,01
KF6W	4,9	0,85	4,04	2,67	1,09
KF12W	6,87	2,13	4,74	2,68	1,33
KF12W	6,12	1,8	4,32	1,95	0,74
KF12W	5,09	0,71	4,37	2,15	0,99
KF12W	4,07	1,08	2,99	2,15	1,18
KF12W	5,79	1,39	4,4	2,2	1,04
KF12W	4,99	1,4	3,6	1,88	0,75
KF12W	4,83	1,57	3,26	1,97	0
KF12W	6,15	1,49	4,66	1,76	1,03
KF12W	5,69	1,71	3,99	1,9	1,79
KF12W	5,32	1,29	4,04	2,55	0,42
KF12W	6,27	2,19	4,08	2,68	0
KF12W	4,7	1,22	3,48	3,2	0,19
KF12W	4,76	1,22	2,99	2,77	0,2

## 8.10 SEQUENZEN VERWENDETER PRIMER

**Tabelle 24** Tabellarische Darstellung der verwendeten Primer (RT-PCR und qPCR)

<b>NHE1</b>	
RT PCR forward	NHE1align 645-662: 5'-YGG YGA GCA GAT CAA YAA-3' (sense)
RT PCR reverse	NHE1align 1151-1188: 5'-TGA CGC TGC TCC ACA TYT-3' (antisense)
qPCR forward	NHE1 ov 1004-1026F: 5'-TCCTCTACAGCTACATGGCCTAC- 3' (sense)
qPCR reverse	NHE1 ov1099-1117R: 5'-GGGAGATGTTGGCTTCCAC- 3' (antisense)
<b>NHE3</b>	
RT PCR forward	NHE3align 1441-1453: 5'-GGGC CGS GCT TTC G-3' (sense)
RT PCR reverse	NHE3align 1967-1980:5'-SCG CTT SCG CAT GG-3' (antisense)
qPCR forward	NHE3 1631-1649s: 5'-ACGGCACTCACGTTCTCC- 3' (sense)
qPCR reverse	NHE3 1731-1750as: 5'-CCTGGCTTTCATCCGTTCT- 3' (antisense)
<b>AE2</b>	
RT PCR forward	AE2 2400-2416: 5'-CCT GGT CCG CTT CGT CT-3 (sense)
RT PCR reverse	AE2 3142-3158: 5'-GCG TTG GCG TGA GTG AC-3' (antisense)
qPCR forward	AE2 ov 2968-2985s: 5'-CCCGTGTGGATGATGGTT- 3' (sense)
qPCR reverse	AE2 ov 3053-3071as: 5'-CGCTCCTTCTTGGAGATGA- 3' (antisense)
<b>vHATPase B</b>	
RT PCR forward	vHATPaseB 499-518s: 5'-GAG GAG ATG ATT CAG GAC TGG-3' (sense)
RT PCR reverse	vHATPaseB 1288-1307as: 5'-TTC ATG GCT TGT ACA TCC TT-3' (antisense)
qPCR forward	vHATPaseB ov 1017-1036F: 5'-TCGAGTGGAAAGGTCGAAATG- 3' (sense)
qPCR reverse	vHATPaseB ov 1085-1104R: 5'-CAAGTCAGGGATTGGGTGAG- 3' (antisense)
<b>vHATPase E</b>	
RT PCR forward	vHATPaseE 17-33F: 5'-CNG AYG TRC ARA AGC AG-3' (sense)
RT PCR reverse	vHATPaseE 608-: 5'-CAT CAT CTG CTG GGC TA-3' (antisense)
qPCR forward	vHATPase E ov 413-432F: 5'-AACAGGATTTCCCTCTGGTG- 3' (sense)
qPCR reverse	vHATPase E ov 474-493R: 5'-CATCAACGCCTCTTTTGGTT- 3' (antisense)
<b>β-Aktin</b>	
RT PCR forward	b-Aktin 377-393F, ov: 5'-CCT TCA ACA CCC CTG CC-3' (sense)
RT PCR reverse	b-Aktin 1033-1049R, ov: 5'-GAC AGC GAG GCC AGG AT-3' (antisense)
qPCR forward	b-Aktin 549-568F: 5'-CGACCTGACCGACTACCTCA- 3' (sense)
qPCR reverse	b-Aktin 620-639R: 5'-TTTGATGTACGCACGATTT- 3' (antisense)
<b>HSP</b>	
RT PCR forward	HSP70.1 1071-1091s: 5' -CGACCTCAACAAGAGCATCA- 3' (sense)
RT PCR reverse	HSP70.1 1715-1735as: 5'-AAATCACCTCCTGGCACTTG- 3' (antisense)
qPCR forward	HSP70.1 1257-1274s: 5'-CATCCCCACGAAGCAGAC- 3' (sense)
qPCR reverse	HSP70.1 1348-1367as: 5'-AGCAGGTTGTTGTCCCGAGT- 3' (antisense)

**8.11 C<sub>T</sub>-WERTE REC, CO<sub>2</sub>**

	CO2 6 h	CO2 12 h	CO2 24 h	CO2 24 h + 24 h
<b>β-Aktin</b>	22,88	23,26	23,78	24,73
<b>NHE1</b>	26	26,62	26,03	25,74
<b>AE2</b>	26,5	26,33	26,892	25,99
<b>vHATPase B</b>	25,8	25,54	26,02	25,26
<b>vHATPase E</b>	26,15	25,66	24,8	24,52
<b>HSP</b>	26,98	26,37	26,52	26,23

**8.12 C<sub>T</sub>-WERTE REC, IGF1**

2 ng / ml IGF1	IGF1 6 h	IGF1 12 h	IGF1 24 h	IGF1 24 h + 24 h
<b>β-Aktin</b>	22,89	23,92	24,89	22,19
<b>NHE1</b>	27,15	27,9	27,9	27,43
<b>AE2</b>	27,06	25,87	26,26	25,34
<b>vHATPase B</b>	25,49	27,01	27,18	25,88
<b>vHATPase E</b>	25,68	26,5	26,98	26,35
<b>HSP</b>	26,96	26,94	27,67	27,6

**8.13 C<sub>T</sub>-WERTE REC, EGF**

2ng / ml EGF	EGF 6 h	EGF 12 h	EGF 24 h	EGF 24 h + 24 h
<b>β-Aktin</b>	21,61	22,52	22,28	22,26
<b>NHE1</b>	26,57	26,25	26,27	26,33
<b>AE2</b>	25,43	26,1	26,11	26,64
<b>vHATPase B</b>	25,11	25,42	25,32	26,16
<b>vHATPase E</b>	24,41	25,88	24,88	25,84
<b>HSP</b>	25,17	24,74	25,96	25,46

**8.14 C<sub>T</sub>-WERTE REC, CYCLO-AMP**

	cAMP 25µM	cAMP 50µM	cAMP 75 µM	cAMP 100 µM	cAMP 100 µM + 24 h
<b>β-Aktin</b>	24,44	23,24	23,5	23,64	21,79
<b>NHE1</b>	27,29	25,99	26,14	25,71	25,26
<b>AE2</b>	26,72	26,43	26,23	25,66	25,68
<b>vHATPase B</b>	25,43	25,86	25,67	25,03	24,79
<b>vHATPase E</b>	25,58	24,79	25,12	25,54	24,15
<b>HSP</b>	26,31	26,19	26,16	25,5	26,61

**8.15 C<sub>T</sub>-WERTE REC, PGE2**

100 mM PGE2	PGE2 6 h	PGE2 12 h	PGE2 24 h	PGE2 24 h + 24 h
<b>β-Aktin</b>	23,57	23,58	24,77	23,27
<b>NHE1</b>	25,53	25,08	26,18	25,58
<b>AE2</b>	25,44	25,73	26,92	26,09
<b>vHATPase B</b>	24,98	25,01	26,04	25,08
<b>vHATPase E</b>	24,34	24,47	25,88	25,13
<b>HSP</b>	24,58	25,39	26,15	26,39

**8.16 C<sub>T</sub>-WERTE REC, BUTYRAT**

	B 0,1mM	B 0,3 mM	B 0,5 mM	B 1,0 mM	B 1,0 mM + 24 h
<b>β-Aktin</b>	23,06	24,37	23,29	23,87	21,44
<b>NHE1</b>	26,11	26,44	26,06	26,21	25,45
<b>AE2</b>	25,81	26,17	25,93	25,65	25,23
<b>vHATPase B</b>	25,59	25,57	25,33	25,64	24,26
<b>vHATPase E</b>	24,86	24,64	24,94	25,38	24,69
<b>HSP</b>	25,12	25,82	25,6	25,72	25,9

**8.17 C<sub>T</sub>-WERTE REC, LAKTAT**

	L 0,1 mM	L 0,3 mM	L 0,5 mM	L 1,0 mM	L 1,0 mM + 24 h
<b>β-Aktin</b>	22,77	23,55	22,89	22,88	20,56
<b>NHE1</b>	25,52	26,63	26,33	26,31	25,25
<b>AE2</b>	26,28	26,06	25,99	26,4	25,67
<b>vHATPase B</b>	25,31	25,21	25,07	25,54	24,96
<b>vHATPase E</b>	25,56	25,42	25,56	25,58	24,53
<b>HSP</b>	25,4	25,51	25,75	26,34	26,27

**8.18 C<sub>T</sub>-WERTE PANSENEPITHELGEWEBE**

	KF0W	KF1W	KF2W	KF4W	KF6W	KF12W
<b>NHE3</b>	25,36	24,06	25,55	24,28	24,71	25,31
<b>β-Aktin</b>	22,12	22,3	23,64	23,02	23,23	23,32
<b>NHE1</b>	30,22	30,07	30,32	30,25	30,43	31,31
<b>AE2</b>	29,09	28,22	26,01	27,77	28,33	31,14
<b>vHATPase B</b>	27,53	27,07	28,68	28,15	28,06	28,96
<b>vHATPase E</b>	26,06	25,08	26,71	26,22	26,08	27,45