

9 Anhang

9.1 Lösungen für die 2-D PAGE

Rehydratisierungslösung für Immobiline DryStrips (IPG-Streifen) der Firma Amersham Pharmacia Biotech

Harnstoff	7,5 g	5 M
Thioharnstoff	3,8 g	2 M
CHAPS	0,5 g	2% (m/V)
DTE	0,04 g	10 mM
Resolyte 3,5 – 10	0,5 ml	2 % (m/m)
Bromphenolblaulösung (0,25%, m/V)	0,2 ml	
Aqua bidest.	ad 25,0 ml	

Lösungen zur Proteindesorption und Solubilisierung vor der 1. Dimension

Lösung D:

SDS	1,0 g
DTE	0,232 g
Aqua bidest.	ad 10,0 ml

Lösung F:

Harnstoff	5,4 g	8 M
CHAPS	2,0 g	4% (m/V)
DTE	0,5 g	40 mM
TRIS	0,25 g	65 mM
Bromphenolblaulösung (0,25%, m/V)	0,2 ml	
Aqua bidest.	ad 50,0 ml	

Äquibrierungslösungen vor der 2. Dimension

Lösung des 1. Äquibrierungsschrittes

DTE	2,0 g
SDS	3,0 g
TRIS-HCl pH 6,8	10,0 ml
Glycerol (85%)	34,5 g
Harnstoff	36,0 g
Bromphenolblaulösung (0,25%)	0,5 ml
Aqua bidest.	ad 100,0 ml

Lösung des 2. Äquibrierungsschrittes

Iodoacetamid	4,0 g
SDS	2,0 g
TRI-HCl pH 6,8	10,0 ml
Glycerol (85%)	34,5 g
Harnstoff	36,0 g
Bromphenolblaulösung (0,25%)	0,5 ml
Aqua bidest.	ad 100,0 ml

Lösungen zum Gießen der SDS-Gele mit Größenausschlussgradient

Lösung 9% Acrylamid

TRIS-HCl pH 8,8	66,5 ml
Acrylamid / BIS (30% / 2%) Fertiglösung	76 ml
Na-Thiosulfatlösung (5%)	1,3 ml
TEMED-Lösung	0,1 ml
Ammoniumpersulfatlösung (10%)	1,0 ml
Aqua bidest.	120,5 ml

Lösung 16% Acrylamid

TRIS-HCl pH 8,8	66,5 ml
Acrylamid / BIS (30% / 2%) Fertiglösung	149 ml
Na-Thiosulfatlösung (5%)	1,3 ml
TEMED-Lösung	0,1 ml
Ammoniumpersulfatlösung (10%)	1,0 ml
Aqua bidest.	47,5

Lösung zur Fixierung der IPG-Streifen auf dem Gel

Agarose	0,25 g
Bromphenolblaulösung (0,25%)	0,2 ml
Aqua bidest.	ad 50,0 ml

9.2 Verwendete Pufferlösungen

TRIS-HCl pH 6,8

TRIS	65,5 g
HCl conc.	q.s.
Aqua purificata	ad 1000,0 ml

TRIS-HCl pH 8,8

TRIS	182,0 g
HCl conc.	q.s.
Aqua purificata	ad 1000,0 ml

Lösung zur Vorbereitung der Gel Trocknung

Glycerol (85%)	30 ml
Ethanol (96 %) unvergällt	400 ml
Essigsäure (99%)	100 ml
Aqua bidest.	ad 1000,0 ml

SDS-PAGE

Oberer Elektrodenpuffer

SDS	1,0 g
TRIS	3,0 g
Glycin	14,9 g
Aqua bidest.	Ad 1000,0 ml

Unterer Elektrodenpuffer

SDS	14,0 g
TRIS	42,4 g
Glycin	208,0 g
Na-azid	3,0 g
Aqua bidest.	ad 14,0 l

9.3 Färbeprotokoll

1	Aqua bidest.	4,0 l	5 min waschen
2	Glutaraldehyd 50% Na-acetat Aqua bidest.	20 ml 68 g ad 1000 ml	30 min einlegen
3	Aqua bidest.		3 x 10 min waschen
4	2,7-Naphthalindisulfonsäure Aqua bidest.	1,0 g ad 2000 ml	2 x 30 min einlegen
5	Aqua bidest.		4 x 15 min waschen
6	AgNO ₃ Aqua dest. Lösen und überführen in: Aqua bidest. NaOH (10N) NH ₃ conc. Anschließend Aqua bidest.	6,0 g 30 ml 170 ml 1,5 ml 10 ml ad 750 ml	30 min einlegen
7	Aqua bidest		4 x 4 min waschen
8	Citronensäure x 1 H ₂ O Formaldehyd 35% Aqua bidest.	0,3 g 12 ml ad 2000 ml	5-10 min entwickeln
9	Essigsäure (99%) Aqua bidest.	100 ml ad 2000 ml	Stoppen des Färbevorgangs

9.4 Chemikalienliste

Substanz	Hersteller / Lieferant
1,4-Dithioerythritol	Merck
2,7-Naphthalindisulfonsäure Dinatriumsalz	Acros Organics
2-Butanol	Fluka
Acrylamid / BIS (30% / 2%) Fertiglösung	SERVA
Agarose (Electrophoresis purity reagent)	BioRad
Ammoniaklösung (25%)	Merck
Ammoniumpersulfat	BioRad
Bengalrosa Natriumsalz	Sigma
CHAPS	Sigma
Citronensäure Monohydrat	Merck
Essigsäure (99%)	Merck
Ethanol (96%) unvergällt	Branntwein-Monopolverwaltung
Glutaraldehydlösung	Fluka
Glycerol (85%)	Merck
Glycin	Merck
Harnstoff	Merck
Iodoacetamid	Sigma
Kerosin	Fluka
N,N,N,N-Tetra-methyl-ethylendiamin	BioRad
Natriumacetat-trihydrat	Merck

Natriumazid	Merck
Natriumhydroxid	Merck
Natriumlaurylsulfat	Merck
Natriumthiosulfat pentahydrat	Merck
Paraffin, dünnflüssig	Merck
Resolyte 3,5-10	BDH
Salzsäure 36%	Merck
Silbernitrat	Merck
Thioharnstoff	Merck
TRIS	Merck

9.5 Abkürzungen

2-D PAGE	Zweidimensionale Polyacrylamid-Gelelektrophorese
AmB	Amphotericin B
Apo	Apolipoprotein
APS	Ammoniumpersulfat
BBB	Blut-Hirn-Schranke (Blood-brain-barrier)
BIS	N,N'-methylen-bis-acrylamid
CHAPS	3-(3Cholamidopropyl)dimethylammonio-1-propansulfat
Dox	Doxorubicin
DTE	Dithioerythritol
Fib.	Fibrinogen
h	Stunde
IEF	Isoelektrische Fokussierung
Ig	Immunglobulin
i.v.	intravenös
(k)Da	(kilo)Dalton
LD	Laserdiffraktometrie
LDA	Laser-Doppler-Anemometrie
min	Minute(n)
MPS	Mononukleäres phagozytierendes System
N _A	Avogadrosche Zahl ($6,023 \times 10^{23}$)
NP	Nanopartikel
PCS	Photonenkorrelationsspektroskopie
PBCA	Polybutylcyanoacrylat
PEG	Polyethylenglykol
Pgp	P-Glykoprotein

pl	Isoelektrischer Punkt
PI	Polydispersitätsindex
PV	Plasmavolumen
SDS	Natriumlaurylsulfat, Natriumdodecylsulfat
SLN	Feste Lipidnanopartikel (Solid lipid nanoparticles)
TEMED	N,N,N,N-tetramethylethyldiamin
Vol	Volume
Urea	Harnstoff
ZNS	Zentrales Nervensystem