

3 Materialien

In diesem Kapitel sind nach Versuchen geordnet die verwendeten Materialien und Geräte sowie deren Hersteller tabellarisch aufgeführt. Sonstige eingesetzte und nicht näher bezeichnete Chemikalien wurden in der Qualität pro analysi von der Firma Merck AG, Darmstadt, Deutschland bezogen.

3.1 Transaktivierungsversuche

3.1.1 Steroide

Tabelle 3.1: Eingesetzte Steroidhormone

| Steroid | Hersteller |
|--|---|
| Cortisol | Fa. Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA) |
| Aldosteron | |
| Progesteron (4-Pregnen-3,20-dion) | |
| Desoxycorticosteron (DOC) | |
| 20 α -DH-Progesteron (4-Pregnen-20 α -ol-3-on) | |
| 5 α -DH-Progesteron (5 α -Pregnan-3,20-dion) | |
| 3 β ,5 α -TH-Progesteron (5 α -Pregnan-3 β -ol-20-on) | |
| 20 α -DH,5 α -DH-Progesteron (5 α -Pregnan-20 α -ol-3-on) | |
| 16 α -OH-Progesteron (4-Pregnen-16 α -ol-3,20-dion) | |
| 5 β -DH-Progesteron (5 β -Pregnan-3,20-dion) | |
| 20 α -DH,3 β ,5 α -TH-Progesteron (5 α -Pregnan-3 β ,20 α -diol) | |
| 20 α -DH,3 α ,5 α -TH-Progesteron (5 α -Pregnan-3 α ,20 α -diol) | |
| 3 α ,5 α -TH-Progesteron (5 α -Pregnan-3 α -ol-20-on) | |
| 11 α -OH-Progesteron (4-Pregnen-11 α -ol-3,20-dion) | |
| 11 β -OH-Progesteron (4-Pregnen-11 β -ol-3,20-dion) | |
| 20 α -DH,3 α ,5 β -TH-Progesteron (5 β -Pregnan-3 α ,20 α -diol) | Fa. Makor Chemicals Ltd. (Jerusalem, Israel) |
| 17 α -OH-Progesteron (4-Pregnen-17 α -ol-3,20-dion) | |
| 17 α -OH, 20 α -DH-Progesteron (4-Pregnen-17,20 α -diol-3-on) | |
| 3 α ,5 β -TH-Progesteron (5 β -Pregnan-3 α -ol-20-on) | Fa. Paesel & Lorei GmbH & Co (Hanau, D) |

Table 3.1: *Eingesetzte Steroidhormone(Fortsetzung)*

| Steroid | Hersteller |
|---|---------------------------------------|
| 6 β -OH-Progesteron (4-Pregnen-6 β -ol-3,20-dion) | Fa. Steroloids Inc. (Wilton, NH, USA) |
| Ethanol LiChrosolv [®] Lösungsmittel für Steroide | Merck KG (Darmstadt, D) |

3.1.2 Plasmide

Table 3.2: *Plasmide*

| Material | Beschreibung | Hersteller |
|---------------------|-----------------------------------|--|
| Plasmid pRShMR | humaner Mineralocorticoidrezeptor | R. M. Evans (Salk Institute, San Diego, CA, USA) |
| Plasmid pMSG-Luc | Firefly-Luciferase-Reportergen | B. Gellersen (Hamburg, D) |
| Plasmid pRL-SV40 | Renilla-Luciferase-Reportergen | Promega Corp. (Madison, WI, USA) |

3.1.3 Transformation, Bakterienkultur und Plasmidpräparation

Table 3.3: *Transformation, Bakterienkultur und Plasmidpräparation*

| Material | Beschreibung | Hersteller |
|---|--|--------------------------------|
| Ultracomp [®] Transformation Kit MC1061/P3 | kompetente E. coli/ Transfomationskit | Invitrogen (Groningen, NL) |
| LB Broth Base | LB-Medium | GibcoBRL (Karlsruhe, D) |
| LB Agar (Lennox Agar) | LB-Agar | GibcoBRL (Karlsruhe, D) |
| Aqua bidest | LB-Medium u. a. | Apotheke UKBF (Berlin, D) |
| Ampicillin DAB 10 | LB-Medium | Ratiopharm GmbH (Ulm, D) |
| Petrischalen 15mm x 100mm | LB-Agarplatten | Nunc GmbH&Co KG (Wiesbaden, D) |
| Quiagen [®] Mini Plasmid Kit | Plasmidpräparation | Quiagen GmbH (Hilden, D) |
| Quiagen [®] Maxi Plasmid Kit | Plasmidpräparation | Quiagen GmbH (Hilden, D) |
| Aqua ad inject. | Lösungsmittel | B. Braun GmbH (Melsungen, D) |

3.1.4 Restriktionsanalyse und Gelelektrophorese

Tabelle 3.4: Restriktionsanalyse und Gelelektrophorese

| Material | Beschreibung | Hersteller |
|---|-------------------------------------|---------------------------------|
| Acy I (Puffer B) | Restriktionsenzym | Roche Diagn. GmbH (Mannheim, D) |
| Ava I (Puffer B) | Restriktionsenzym | Roche Diagn. GmbH (Mannheim, D) |
| Pst I (Puffer H) | Restriktionsenzym | Roche Diagn. GmbH (Mannheim, D) |
| Sca I (Puffer H) | Restriktionsenzym | Roche Diagn. GmbH (Mannheim, D) |
| Hind III (Puffer B) | Restriktionsenzym | Roche Diagn. GmbH (Mannheim, D) |
| suRE/Cut Puffer B | Restriktionspuffer | Roche Diagn. GmbH (Mannheim, D) |
| suRE/Cut Puffer H | Restriktionspuffer | Roche Diagn. GmbH (Mannheim, D) |
| Tris(hydroxymethyl)-aminomethan p. a. | TAE-Puffer | Merck AG (Darmstadt, D) |
| Titriplex [®] III (EDTA) p. a. | TAE-Puffer / | Merck AG (Darmstadt, D) |
| Ethylendinitrilotetraessigsäure = Na ₂ EDTA·2H ₂ O | Gelladepuffer | |
| Natriumacetat trihydrat p. a. | TAE-Puffer | Merck AG (Darmstadt, D) |
| Essigsäure / Eisessig p. a. | TAE-Puffer | Merck AG (Darmstadt, D) |
| Agarose p. a. | Gelelektrophorese | GibcoBRL (Karlsruhe, D) |
| Ethidiumbromid p. a. | Gelelektrophorese | GibcoBRL (Karlsruhe, D) |
| Glycerol p. a. | Gelladepuffer | Sigma (Deisenhofen, D) |
| Natriumdodecylsulfat p. a. | Gelladepuffer | Merck AG (Darmstadt, D) |
| Bromphenolblau p. a. | Gelladepuffer | Sigma (Deisenhofen, D) |
| Gibco [®] 1 Kb Plus DNA Ladder [®] | Größenstandard Gelelektrophorese | Invitrogen (Karsruhe, D) |

3.1.5 Zellkultur, Transfektion und Lumineszenzmessung

Tabelle 3.5: Zellkultur, Transfektion und Lumineszenzmessung

| Material | Beschreibung | Hersteller |
|--|------------------------------------|--|
| CV-1-Zellen | Zellen zur Transfektion | American Type Culture Collection ATCC (Manassas, VA, USA) |
| 1 x Dulbecco's minimal essential medium (DMEM) #FG0435 | Zellkulturmedium | Biochrom AG (Berlin, D) |
| 1 x Dulbeccos (PBS) Phosphate Buffered Saline ohne Ca ²⁺ /Mg ²⁺ , #L1825 | Zellkultur | Biochrom AG (Berlin, D) |
| Fetales Kälberserum (FKS) #S0115 | Mediumzusatz | Biochrom AG (Berlin, D) |
| Norit A, Kohle aus Torf | Aktivkohle | Serva (Heidelberg, D) |
| Penicillin/Streptomycin 10 ⁶ U/l (=10g/l), #A2212 | Antibiotikamix Zellkultur | Biochrom AG (Berlin, D) |
| Amphotericin B | Antimykotikum Zellkultur | Squibb Pharma GmbH (München, D) |
| Trypsin/EDTA-Lösung in PBS (0,05%/0,02%) #L2143 | Zellkultur | Biochrom AG (Berlin, D) |
| LipofectAMINE Plus [®] -Kit | Transfektionskit | Life Technologies (Karlsruhe, D) |
| Dual-Luciferase Reporter Assay System [®] | Lumineszenz- messung (Substrat) | Promega Corp. (Madison, WI, USA) |

3.2 Rezeptorbindungsstudien

Folgende Materialien wurden zusätzlich zu den unter 3.1.1 genannten Steroiden für die Durchführung der Wettbewerbsversuche verwendet:

Table 3.6: *Rezeptorbindungsstudien*

| Material | Beschreibung | Hersteller |
|---|--|--|
| [1,2,6,7- ³ H]Aldosteron (18,5·10 ¹⁴ Bq/mol) | Tracer | Amersham Inc. (Buckinghamshire, UK) |
| Plasmid pchMR | <i>in vitro</i> -Translation des hMR | M.-E. Rafestin-Oblin (Paris, Fr) |
| TNT [®] Coupled Reticulocyte Lysate System | <i>in vitro</i> -Transkription/ Translation | Promega Corp. (Madison, WI, USA) |
| Dextran coated charcoal- Tabletten | DCC-Suspension | Steranti (London, UK) |
| Tris(hydroxymethyl)- aminomethanhydrochlorid | TEGDW-Puffer | Merck KG (Darmstadt, D) |
| EDTA | TEGDW-Puffer | Merck KG (Darmstadt, D) |
| Dithiothreitol | TEGDW-Puffer | GibcoBRL (Karlsruhe, D) |
| Natriumwolframat | TEGDW-Puffer | Sigma (Deisenhofen, D) |
| Glycerol | TEGDW-Puffer | Sigma (Deisenhofen, D) |
| Ultima Gold [®] | Szintillationslösung | PerkinElmer (Boston, USA) |

3.3 Progesteroninfusionsstudie

Tabelle 3.7: Progesteroninfusionsstudie

| Material | Beschreibung | Hersteller |
|---------------------------------|---------------------|--|
| Aldosteron reinst DAB 10 | Infusionslösung | Clinalfa AG (Läufelfingen, D) |
| Aqua ad inject. 10ml | Progesteronlösung | B. Braun GmbH (Melsungen, D) |
| Progesteron reinst DAB 10 | Progesteronlösung | Merck AG (Darmstadt, D) |
| Alkoholkonzentrat 95% | Progesteronlösung | B. Braun GmbH (Melsungen, D) |
| Sterofundin Ecoflac | Infusionslösung | B. Braun GmbH (Melsungen, D) |
| Glucose 5% Ecoflac | Infusionslösung | Fresenius GmbH (Bad Homburg, D) |
| Humanalbuminlösung 20% | Infusionslösung | DRK Blutspendedienst Niedersachsen gGmbH (Springe, D) |
| Optiva*2 grün, rosa | Venenverweilkanülen | Johnson&Johnson (New Brunswick, NJ, USA) |
| Primapore i.v. | Kanülenpflaster | Sith&Nephew (Vibrayne, USA) |
| Porofix [®] 2,5x12,5cm | Kanülenpflaster | Lohmann GmbH&Co KG (Neuwied, D) |
| Infusomat-Leitung Standard | Infusionssystem | B. Braun GmbH (Melsungen, D) |
| Heidelberger Verlängerung | Infusionssystem | B. Braun GmbH (Melsungen, D) |
| Discofix [®] Plus | Drei-Wege-Hahn | B. Braun GmbH (Melsungen, D) |
| Vacutainer [®] Serum | Serumröhrchen | BectonDickinson (Meylan, Fr) |
| Vacutainer [®] EDTA | EDTA-Röhrchen | BectonDickinson (Meylan, Fr) |
| Adapter f. Vacutainer-Syst. | | BectonDickinson (Meylan, Fr) |
| Propanol | Steroidextraktion | Merck KG (Darmstadt, D) |
| Heptan | aus dem Urin | Merck KG (Darmstadt, D) |

Die Bestimmung von Chlorid im Urin wurde im Deutschen Institut für Ernährungsforschung (Bergholz-Rehbrücke, Deutschland) mit folgendem Gerät durchgeführt:

Table 3.8: Chloridbestimmung

| Parameter (Material) | Gerät/Kit | Hersteller |
|-----------------------------|-------------------|--|
| Methode | | |
| Chlorid (Urin) | CRT-10 | Nova Biomedical Corp. (Waltham, MA, USA) |
| Direkte Potentiometrie | Urin-Dillutor-Kit | |

Zur Bestimmung der Hormone sowie von Renin im gewonnenen Blut bzw. Urin wurden folgende Kits eingesetzt:

Table 3.9: Hormon- und Reninbestimmung

| Material | | Hersteller |
|-----------------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|
| Coat-A-Count [®] RIA-Kit | Aldosteron | DPC Inc. (Los Angeles, CA, USA) |
| Coated Tube RIA DSL-5000 | 17 α -OH-Progesteron | DSL Inc. (Webster, TX, USA) |
| Coated Tube RIA DSL-3900 | Progesteron | DSL Inc. (Webster, TX, USA) |
| RIA DSL-8700 | Estron | DSL Inc. (Webster, TX, USA) |
| Coated Tube RIA DSL-4000 | Testosteron | DSL Inc. (Webster, TX, USA) |
| Coated Tube RIA DSL-3500 | DHEA | DSL Inc. (Webster, TX, USA) |
| Coated Tube RIA DSL-3800 | Androstendion | DSL Inc. (Webster, TX, USA) |
| IRMA-Kit Renin | Renin | Nichols Institute Diag. (CA, USA) |

Die Bestimmungen im Zentrallaboratorium des UKBF wurden mit folgenden Geräten durchgeführt:

Table 3.10: Bestimmungsmethoden im Zentrallaboratorium des UKBF

| Parameter (Material) | Gerät/Kit | Hersteller |
|------------------------------|-------------------------|------------------------------|
| Methode | | |
| SHBG (Serum) | Immulite [®] / | DPC Biermann GmbH |
| Chemolumineszens-Immunoassay | SHBG-Kit | (Bad Nauheim, D) |
| Albumin (Serum) | Hitachi 917 | Hitachi Medical Systems GmbH |
| Colorimetrischer Test | | (Wiesbaden, D) |

Table 3.10: Bestimmungsmethoden im Zentrallaboratorium des UKBF (Fortsetzung)

| Parameter (Material) | Gerät/Kit | Hersteller |
|--------------------------------|------------------|---|
| Methode | | |
| Albumin-Bromcresolgrün-Methode | ALB BCG Plus | Roche Deutschland Holding GmbH (Grenzach-Wyhlen, D) |
| Kreatinin (Serum/Urin) | Hitachi 917 | Hitachi Medical Systems GmbH (Wiesbaden, D) |
| Bestimmung nach Jaffe | HiCo Krea-Kit | Roche Deutschland Holding GmbH |
| Natrium/Kalium (Serum) | Hitachi 917 | Hitachi Medical Systems GmbH (Wiesbaden, D) |
| indirekte Potentiometrie | | |
| Natrium/Kalium (Urin) | IL 943 | Instrumentation Laboratory GmbH (Kirchheim bei München, D) |
| Flammenphotometrie | | |

3.4 Geräte

Tabelle 3.11: Geräte

| Material | Beschreibung | Hersteller |
|------------------------------|---------------------------------------|---|
| Helma Küvette 10mm/15mm | DNA-Messküvette | Hellma GmbH&Co KG (Müllheim, D) |
| GeneQuantII | DNA-Photometer | Amersham Biosciences (Piscataway, NJ, USA) |
| Leitz Dialux 20 | Mikroskop | Fa. Leitz (Wetzlar, D) |
| Neubauer Zählkammer | Zellzählkammer | Brand GmbH & Co KG (Wertheim, D) |
| Heraeus BS 6000 | Brutschrank | Heraeus Med GmbH (Hanau, D) |
| Heraeus LaminAir® HB 2448 | Laminarflow-Arbeitsplatz | Heraeus Med GmbH (Hanau, D) |
| Lumat | Luminometer | Berthold (Bad Wildbad, D) |
| Thermomixer 5436 | Heizblock für Restriktionsanalyse | Eppendorf GmbH (Wesseling-Berzdorf, D) |
| Haake FS2 | Wasserbad | ThermoHaake (Karsruhe, D) |
| Heraeus Typ 4500 | Zentrifuge | Heraeus Med GmbH (Hanau, D) |
| Heraeus Christ Cryofuge 5000 | Zentrifuge | Eppendorf GmbH (Wesseling-Berzdorf, D) |
| Eppendorf Zentrifuge 5402 | Zentrifuge | Eppendorf GmbH (Wesseling-Berzdorf, D) |
| Autoklav | Dampfsterilisation | UKBF (Berlin, D) |
| Horizon® 58 | Elektrophoresekammer | GibcoBRL (Karlsruhe, D) |
| GibcoBRL ST606 | Netzteil f. Elektrophoresekammer | GibcoBRL (Karlsruhe, D) |
| UV-Kamera | Gelelektrophorese | Polaroid GmbH (Offenbach, D) |
| Bandelin Sonorex RK52H | Ultraschallbad | Bandelin GmbH (Berlin, D) |
| Bosch elektronik luxus | Kühlschrank/ Tiefkühlschrank –30°C | Bosch (München, D) |
| GFL TK | Tiefkühlschrank –80°C | GFL mbH (Burgwedel, D) |

Table 3.11: Geräte(Fortsetzung)

| Material | Beschreibung | Hersteller |
|---|------------------------------|---|
| Sartorius MC 210 S | Feinwaage | Sartorius AG (Göttingen, D) |
| Wallac WinSpectral [®] 1414 LSC | Liquid Scintillation Counter | PerkinElmer (Boston, USA) |
| MEDAP Absaugarmatur | Absaugeinheit f. Zellkultur | Heraeus Med GmbH (Hanau, D) |
| Scotsman AF-10 | Eismaschine | Scotsman Ice Systems (Vernon Hills, IL, USA) |
| Pipettus Accu [®] | Pipettierhilfe | Hirschmann Laborgeräte (Eberstadt, D) |
| Eppendorf Reference [®] Pipetten 10µl, 100µl, 1ml | Pipetten | Eppendorf GmbH (Wesseling-Berzdorf, D) |
| Pipettenspitzenkasten | | Eppendorf GmbH (Wesseling-Berzdorf, D) |
| Eppendorf Multipette [®] Plus | Pipette | Eppendorf GmbH (Wesseling-Berzdorf, D) |
| Infusomat [®] P | Infusionspumpe | B. Braun GmbH (Melsungen, D) |
| Boso Carat [®] | Blutdruckmessgerät | Bosch und Sohn GmbH u. Co. (Jungingen, D) |

3.5 Gefäße und Verbrauchsmaterial

Folgende Gefäße und Verbrauchsmaterialien wurden für die Versuche verwendet:

Tabelle 3.12: Gefäße und Verbrauchsmaterial

| Material | Beschreibung | Hersteller |
|---|--------------------------------------|--|
| Erlenmeyerkolben u. a. Standard-Glasgefäße | | Fa. Schott (Mainz, D) |
| Pasteur-Pipetten 150mm | Zellkultur | Fa. Faust (Köln, D) |
| Eppendorf-Savelock 1,5ml | Reaktionsgefäß | Eppendorf GmbH (Wesseling-Berzdorf, D) |
| Combitips [®] Plus 5ml, 12,5ml, 50ml | Multipettenaufsätze | Eppendorf GmbH (Wesseling-Berzdorf, D) |
| Standartips [®] 100µl, 1ml | Pipettenspitzen | Eppendorf GmbH (Wesseling-Berzdorf, D) |
| Falcon Pipette steril 1ml, 5ml, 25ml | Pipetten f. Zellkultur | Nunc GmbH&Co KG (Wiesbaden, D) |
| Sterifix [®] 0,2µm | Sterilfilter | B. Braun GmbH (Melsungen, D) |
| Kunststoffspritze 50ml, 10ml, 5ml, 1ml | Herstellung der Infusionslösungen | B. Braun GmbH (Melsungen, D) |
| Sterican [®] 20G x 1 ^{1/2} '' | Kanülen | B. Braun GmbH (Melsungen, D) |
| Sterican [®] 22G x 1 ^{1/4} '' | | |
| Greiner Impfschlinge 1µl | Bakterienkultur | Greiner Bio-One GmbH (Frickenhausen, D) |
| PS-Röhrchen, 14ml, steril #187261 | Zellkultur | Greiner Bio-One GmbH (Frickenhausen, D) |
| PP-Röhrchen 50ml, steril | Zellkultur | Sarstedt (Nümbrecht, D) |
| PP-Röhrchen 14ml, steril | Zellkultur | Nunc GmbH&Co KG (Wiesbaden, D) |
| Zellkulturflaschen Nuclon [®] 75cm ² , #156499 | Zellkultur | Nunc GmbH&Co KG (Wiesbaden, D) |
| Zellkulturwell-Platten 24wells à 1,9cm ² , #143982 | Zellkultur / Transfektion | Nunc GmbH&Co KG (Wiesbaden, D) |

Table 3.12: *Gefäße und Verbrauchsmaterial(Fortsetzung)*

| Material | Beschreibung | Hersteller |
|---|---------------------|--------------------------------|
| Polypropylenröhrchen 75x12mm, 5ml, #343923 | Küvetten für Lumat | Nunc GmbH&Co KG (Wiesbaden, D) |
| EconoGlas Vial® 20ml | Glas f. Steroidlsg. | PerkinElmer (Boston, USA) |
| Polypropylengefäß 20ml | LS-Counter | PerkinElmer (Boston, USA) |
| Sofortbildfilm | Gelelektrophorese | Polaroid GmbH (Offenbach, D) |
| Save Skin* PFE | Handschuhe | Kimberly-Clark (Koblenz, D) |