

3 Material

3.1 Chemikalien

Tabelle 3.1 listet die für diese Arbeit verwendeten Chemikalien auf. Anschließend folgt eine Aufstellung der verwendeten Nährmedien und Puffer.

Acetonitril (HPLC-Grade)	J. T. BAKER, Deventer, Niederlande
Agar	MERCK, Darmstadt
Ammoniumbicarbonat	SIGMA, Taufkirchen
DEAE-Fractogel EMD-650 (Anionenaustauscher)	MERCK, Darmstadt
deuterierte Salzsäure, DCl	ALDRICH, Millwaukee, USA
deuteriertes Wasser, D ₂ O	SIGMA, Taufkirchen
EDTA	MERCK, Darmstadt
Galaktose	MERCK, Darmstadt
Glukose	MERCK, Darmstadt
Hefe-RNA	SIGMA, Taufkirchen
Hefe-Stickstoffbase ohne Aminosäuren (YNB)	DIFCO, Detroit, USA
Lithiumacetat	SIGMA, Taufkirchen
L-Prolin	SIGMA, Taufkirchen
L-Prolin 1- ¹³ C	PROMOCHEM, Wesel
Lysozym	SIGMA, Taufkirchen
Natriumcacodylat	MERCK, Darmstadt
Natriumchlorid	SIGMA, Taufkirchen
Natriumdeuteroxid, NaOD	ALDRICH, Millwaukee, USA
Natriumhydroxid	MERCK, Darmstadt
Polyethylenglycol, PEG 4000	SIGMA, Taufkirchen
RNaseA	SIGMA, Taufkirchen
RNase T1-Standard aus <i>Aspergillus oryzae</i>	SIGMA, Taufkirchen
RNase T1-Standard aus <i>E. coli</i>	Prof. Uli Hahn, Universität Leipzig [78]
Salzsäure	MERCK, Darmstadt
Sephadex G25, fine	AMERSHAM PHARMACIA BIOT., Freiburg
Toluidinblau-o	SIGMA, Taufkirchen
Trifluoressigsäure	SIGMA, Taufkirchen

3 Material

TRIS	MERCK, Darmstadt
Uracil	MERCK, Darmstadt
Wasser (HPLC-Grade)	J. T. BAKER, Deventer, Niederlande

3.1.1 Nährmedien

Die Nährmedien wurden mit deionisiertem Wasser angesetzt und mindestens 20 Minuten bei 121°C und einem Druck von 1,4 bar autoklaviert. Lösungen der Aminosäuren und YNB wurden nicht autoklaviert, sondern steriltfiltriert (0,2 µm) und dem Nährmedium nach Abkühlung auf ca. 50°C zugegeben. Glukose und Galaktose wurde getrennt autoklaviert, um eine Karamelisierung zu verhindern.

- Medium 1:
2 % Glukose; 0,1 % Prolin; 0,1 % Uracil; 0,67 % YNB; 1,6 % Agar.
- Medium 2:
2 % Glukose; 0,1 % Prolin; 0,67 % YNB; 1,6 % Agar.
- Medium 3:
2 % Galaktose; 0,1 % Prolin; 0,67 % YNB; 0,2 % Hefe-RNA; 0,05 ‰ Toluidinblau-O; 1,6 % Agar.
- Medium 4:
2 % Galaktose; 0,1 % Prolin; 0,1 % Uracil; 0,67 % YNB; 0,2 % Hefe-RNA; 0,05 ‰ Toluidinblau-O; 1,6 % Agar.
- Medium 5:
2 % Galaktose; 0,67 % YNB; 0,2 % Hefe-RNA; 0,05 ‰ Toluidinblau-O; 1,6 % Agar.
- Medium 6:
0,2 % Hefe-RNA; 0,05 ‰ Toluidinblau-O; 1,6 % Agar
- Vorkultur:
2 % Glukose; 0,1 % Prolin; 0,67 % YNB
- Hauptkultur:
0,5 % Glukose; 1,25 % Galaktose; 0,67 % YNB; 0,05 ‰ Prolin

3.1.2 Puffer

Alle Puffer wurden mit deionisiertem Wasser als 50fach Konzentrate angesetzt und bei Gebrauch entsprechend verdünnt.

- Dialyse- und Äquilibrationspuffer (TE 25):
25 mM TRIS/HCl, 5 mM EDTA; pH 7,5.
- Waschpuffer:
25 mM TRIS/HCl, 5 mM EDTA, 175 mM NaCl; pH 7,5.

- Elutionspuffer:
25 mM TRIS/HCl, 5 mM EDTA, 350 mM NaCl; pH 7,5.

3.2 Materialien und Geräte

Tabelle 3.2 listet die in dieser Arbeit verwendeten Materialien in alphabetischer Reihenfolge auf. Tabelle 3.3 auf der nächsten Seite gibt einen Überblick über die verwendeten Geräte.

Tabelle 3.2: Liste der verwendeten Materialien in alphabetischer Reihenfolge

Dialysemembran Spectrapor 1, MWCO 6-8000	SPECTRUM LABORATORIES, Rancho Dominguez, USA
Durchflußzelle für T-Sprung Apparatur (50 µm)	MICRO BIOLYTICS, Freiburg
Gel für Gelektrophorese Pre-Cast Gel NuPage 12 % Bis-Tris Gel	NUPAGE, San Diego, USA
HPLC-Ventil 6 Port C2-10006 EH	VALCO INTERNATIONAL, Schenkon, Schweiz
Langpassfilter für FTIR-Spektrometer	OPTICAL COATING LABORATORY, INC., Santa Rosa, USA
MCT-Detektor für FTIR-Spektrometer, MCT10-010-LN4	ELECTRO-OPTICAL SYSTEMS, INC., Phoenixville, USA
Pneumatisch getriebene Ramme	HI-TECH SCIENTIFIC. LTD, Salisbury, England
RP-HPLC Trennsäule Nucleogel RP 100-8 C18	MACHEREY-NAGEL, Düren
RP-HPLC Trennsäule Nucleosil RP 300-7 C8	MACHEREY- NAGEL, Düren
Spritze 1705N für T-Sprung Apparatur (50 µL)	HAMILTON, Banaduz, Schweiz
Spritze 1710N für T-Sprung Apparatur (100 µL)	HAMILTON, Banaduz, Schweiz
Spritze 1725N für T-Sprung Apparatur (250 µl)	HAMILTON, Banaduz, Schweiz
Spritze 10001RNR für T-Sprung Apparatur (1000 µl)	HAMILTON, Banaduz, Schweiz
Spritzenfilter Minisart RC15 (0,45 µm)	SARTORIUS AG, Göttingen
Ventil MEH-3/2-1/8	FESTO PNEUMATIC, Esslingen

3 Material

Entgaser für die HPLC	KNAUER, Berlin
FTIR-Spektrometer IFS66	BRUKER, Karlsruhe
Gefriertrocknungsanlage Supermodulyo	BOC EDWARDS, Sussex, England
Gelelektrophoreseapparatur Power Ease 500	NOVEX, San Diego, USA
HPLC-Anlage Series 1050	HEWLETT PACKARD, Waldbronn
Peristaltische Pumpe Miniplus 2 für LC	GILSON, Villiers le Bel, Frankreich
pH-Elektrode 9802 BN	ORION RESEARCH INC., Beverly, USA
pH-Meter Model 230 A	ORION RESEARCH INC., Beverly, USA
Thermostaten F8/C25 bzw. F3/C	HAAKE, Karlsruhe
UV-Detektor 2238 UVcord SII für LC	LKB, Bromma, Schweden
UV-/VIS-Spektrometer UV-260	SHIMADZU, Kyoto, Japan
2 Channel Recorder 2210 für LC	LKB, Bromma, Schweden
Zentrifuge Sorvall RC5C-Plus	KENDRO, Newtown, USA
Zentrifugenrotor Sorvall SLA-3000	KENDRO, Newtown, USA