

6 Anhang

6.1 Verzeichnis häufig gebrauchter Lösungen und Puffer

Alkoholreihe (30%, 70%, 90%, 100% Ethanol)

Zur Vereinfachung wurde das käufliche 98,8%-Ethanol als 100%-ig gesetzt. Die entsprechenden Verdünnungen wurden mit DEPC vorbehandeltem H₂O hergestellt.

Ammoniumacetat (5 mmol/l)

57,81 g Ammoniumacetat
ad 100 ml mit DEPC vorbehandeltem H₂O
pH mit Eisessig auf 7,5 einstellen.

Auftragspuffer

50%-iges Glycerin
0,25% Bromphenolblau
0,25% Xycencyanol

Denhardt-Lösung (50-fach)

5 g Ficoll
5 g PVP (Polyvinylpyrrolidon)
5 g BSA (Bovines Serumalbumin)
in 500 ml

Dextransulfat (50%)

10 g Dextransulfat in 20 ml DEPC-H₂O lösen
im 80°C warmen Wasserbad unter Rühren lösen
zu 1 ml aliquotieren und bei -20°C lagern

DNA-100 basenpaar Leiter

50 ng/μl

DNase-Puffer	40 mM Tris-HCl pH 8.0 10 mM NaCl 6 mM MgCl ₂ 10 mM CaCl ₂
DTT (Dithioeritol, 1mol/l)	154,2 mg DTT ad 1 ml DEPC-H ₂ O durch einen sterilen Milliporenfilter (2 µm) filtrieren bei -20°C aufbewahren
EDTA (0,5 mol/l)	14,62 g EDTA in 50 ml DEPC-H ₂ O lösen pH mit NaOH auf 8,0 einstellen auf 100 ml mit DEPC-H ₂ O auffüllen
Formamidwaschlösung	1,5 l Formamid 0,3 l 10x SALZ-L 4,6 g DTT 3 l DEPC-H ₂ O
0,1 mol/l Glycin / 1x PBS	3,75 g Glycin 500 ml 1x PBS pH mit 1 mol/l NaOH auf 7,4 einstellen
HCl (0,2 mol/l)	100 ml 1 mol/l HCl 400 ml DEPC-H ₂ O
Hefe-tRNA (50 µg/µl)	27,5 mg Hefe-tRNA 550 µl DEPC-H ₂ O lösen zu je 50 µl in Eppendorfgefäße aliquotieren bei -20 °C lagern
LB-Medium	10 g Bacto-Trypton 5 g Bacto-Hefeextrakt 5 g NaCl in 1 l, pH 7,5

Lösung autoklavieren

Mini-Prep

Lösung I (4°C)

50 mM Glukose
25 mM Tris-HCl (pH 8,0)
10 mM EDTA (pH 8,0)

Lösung II (RT)

0,2 N NaOH
1% SDS

Lösung III (4°C)

3 M K⁺ (60 ml 5 M Kaliumacetat)
5 M Acetat (5 ml Essigsäure und 28,5 ml H₂O)

NaCl (5 mol/l)

146 g NaCl
500 ml DEPC-H₂O

Natriumacetatpuffer (1 mol/l)

7,03 g NaH₂PO₄ ad 100 ml DEPC-H₂O
8,72 g Na₂HPO₄ ad 100 ml DEPC H₂O
dabei den pH auf 6,8 einstellen

Maxi-Prep

P1 (Resuspensionspuffer, pH 8,0)

100 µg/ml RNase A
50 mmol/l Tris/HCl
10 mmol/l EDTA

P2 (Lysispuffer)

0,2 mol/l NaOH
1% SDS

P3 (Neutralisationspuffer, pH 5,5)

3,0 mol/l Kaliumacetat

QBT (Equilibrierungspuffer, pH 7,0)

0,75 mol/l NaCl
0,05 mol/l des Detergens MOPS
15%-iges Ethanol
0,15% Triton X-100

QC (Waschpuffer, pH 7,0)	1,0 mol/l NaCl 0,05 mol/l MOPS 15%-iges Ethanol
QE (Elutionspuffer, pH 8,0)	1,25 mol/l NaCl 0,05 mol/l Tris/HCl 15%-iges Ethanol
10x PBS (Phosphat-Salz-Puffer, pH 7,2)	2,60 g NaH ₂ PO ₄ x H ₂ O 6,22 g Na ₂ HPO ₄ x H ₂ O 38,00 g NaCl ad 500 ml DEPC-H ₂ O
3x PBS	75 ml 10x PBS 250 ml DEPC-H ₂ O
1x PBS	25 ml 10x PBS 500 ml DEPC-H ₂ O
4% Paraformaldehyd [PFA] in 1x PBS (pH 7,0), die Lösung ist nur 3-4 Tage haltbar und muss vor jedem Versuch frisch angesetzt werden)	20 g PFA 500 ml 1x PBS bei 70°C erhitzen, bis die Lösung klar ist
Pronase (0,125 mg/ml)	125 mg Pronase 2 ml DEPC-H ₂ O lösen bei 37°C im Wasserbad für 4 h inkubieren zu je 200 µl aliquotieren und bei -20°C lagern
RNAse A (10 mg/ml)	100 mg RNAse 10 ml DEPC-H ₂ O

	zu 1 ml in Eppendorfgefäße aliquotieren 2 min bei 100°C im Wasserbad kochen abkühlen lassen und bei -20°C lagern.
10x SALZ-L (Salzlösung)	300 ml 5 mol/l NaCl 50 ml 1 mol/l Tris HCl 50 ml 1 mol/l Natriumphosphatpuffer 50 ml 0,5 mol/l EDTA 50 ml DEPC-H ₂ O
20x SSC (Salz-Natrium-Citrat-Puffer)	87,5 g NaCl 44,0 g Trinatriumcitrat ad 500 ml DEPC-H ₂ O pH mit mit 1 mol/l HCl auf 7,0 einstellen
2x SSC	100 ml 20x SSC 1 l Aqua bidest.
1x SSC	50 ml 20x SSC 1 l Aqua bidest.
0,1x SSC	5 ml 20x SSC 1 l Aqua bidest.
TAE-Puffer (pH 7,8)	0,02 mol/l Tris 0,0025 mol/l NaAcetat 0,001 mol/l EDTA
TBE-Puffer	109 g Tris base 55 g Borsäure 40 ml 0,5 M EDTA (pH 8) ad 1000 ml DEPC-H ₂ O
TE-Puffer (pH 8,0)	0,01 mol/l Tris/HCl

	1 mmol/l EDTA
TES (N-tris[Hydroxymethyl]-2-aminoethansulfonsäure; 2-(2-Hydroxy-1, 1-bis (hydroxymethyl) ethylamino)ethansulfonsäure)-Waschlösung)	20 ml 1,0 mol/l Tris HCl 4 ml 0,5 mol/l EDTA 200 ml 5 mol/l NaCl 2 l Aqua bidest.
TES+RNase (20 µg/ml)	2 ml RNase A (10 mg/ml) 1 l TES
Triethanolamin (0,1 mol/l)	6,65 ml Triethanolamin 450 ml DEPC-H ₂ O pH mit 1 mol/l HCl auf 8,0 einstellen Volumen mit DEPC-H ₂ O auf 500 ml auffüllen unmittelbar vor dem Gebrauch Essigsäureanhydrid zugeben (500 µl Essigsäureanhydrid auf 200 ml Triethanolaminlösung = 1:400)
Tris HCl (1 mol/l, pH 7,5)	60,0 g Tris HCl 13,9 g Tris Base 400 ml DEPC-H ₂ O pH mit 1 mol/l HCl auf 7,5 einstellen und auf 500 ml auffüllen

6.2 Verzeichnis der benutzten Abkürzungen

cDNA	komplementäre DNA
DEPC-H ₂ O	mit Diethyl-pyrocbonat vorbehandeltes H ₂ O
DNA	Desoxy-Ribonukleinsäure
EDTA	Ethylen-diamin-tetraacetat
HOE	Hoechst
NMR	Nukleare Magnetresonanz
PCR	Polymerase chain reaction
pH _i	intrazellulärer pH
pH _e	extrazellulärer pH
PTCA	perkutane transluminale coronare Angioplastie
r-NHE	Ratten-Natrium-Protonen-Austauscher
RIVA	Ramus Interventricularis Anterior
RNA	Ribonukleinsäure
RT	Raumtemperatur
rt-PCR	reverse Transkription-PCR
SD	standard deviation (Standard-Abweichung)
t-PA	Tissue-Type Plasminogen Activator
VES	ventrikuläre Extrasystole

Danksagung

Diese Arbeit wurde in der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. Martin Paul im Institut für Klinische Pharmakologie und Toxikologie der Freien Universität Berlin in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. Thomas Unger aus dem Institut für Pharmakologie der Christian-Albrecht-Universität zu Kiel angefertigt.

Meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Martin Paul, danke ich für die Überlassung des Themas sowie für die zahlreichen Hilfestellungen und anregenden Diskussionen, für die er immer zur Verfügung stand. Allen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe danke ich für die gute Zusammenarbeit und die stetige Hilfe beim Erlernen neuer Methoden, insbesondere gilt das für Tonio Wiederholt, Petra Korth und Dr. Jean-Marie Gasc aus dem College de France. Außerdem bedanke ich mich für die vorzügliche technische Unterstützung durch Holger Bohnemeier, Heike Marquard und Christian Schirmer.

Besonderer Dank gilt auch meinen Eltern, die mir durch ihre – nicht nur finanzielle – Unterstützung mein Studium und diese Arbeit ermöglicht haben sowie meinen Schwestern für Ihr stetiges Interesse an meiner Arbeit.

Lebenslauf

Geburtsdatum	17. April 1971 in Jajce (Kroatien)
Adresse	Danziger Straße 64 48249 Dülmen
Ausbildung	
1977-1985	Gesamtschule in Jajce (Kroatien)
1986-1991	Clemens-Brentano-Gymnasium in Dülmen, Abitur im Juni 1991
Oktober 1991-August 1992	Freiwilliges soziales Jahr in Dülmen und München
Oktober 1992-April 1998	Studium der Medizin an der Freien Universität Berlin
Examina	
September 1994	Physikum
März 1996	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
März 1998	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
April 1999	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Forschungsarbeit	
Februar 1997-November 1999	Institut für Klinische Pharmakologie und Toxikologie, Freie Universität Berlin, Prof. Dr.med. Martin Paul
Stipendium	
Oktober 1995-July 1996	Erasmusstipendium der Universität Bologna
klinische Tätigkeit	
Mai 2000-November 2001	Ärztin im Praktikum am Universitätsklinikum Münster in der Kardiologie bei Prof. Dr. med. Breithardt
seit November 2001	Assistenzärztin am Universitätsklinikum Münster in der Kardiologie bei Prof. Dr. med. Breithardt