

2 Material

2.1 Chemikalien

Chemikalien wurden, soweit nicht anders angegeben, von den Firmen Roth (Karlsruhe), Sigma (Deisenhofen), Merck (Darmstadt), Gibco Life Technologies (Karlsruhe) und Fluka (Neu-Ulm) in *reinst* oder *p.A.* Qualität verwendet.

2.2 Enzyme und Reaktionspuffer, Antibiotika, Nukleinsäuremarker

Restriktionsenzyme und T4 DNA-Ligase stammten von New England Biolabs (Frankfurt/M.), Superscript II, 5 x Secondstrand Reaktionspuffer, Herings- und Lachssperma DNA, 1Kb-Leiter, 100-Bp Leiter und 20 Bp-Leiter von Gibco Life Technologies (Karlsruhe), MMLV H⁻ Reverse Transkriptase, RNase H, Taq DNA Polymerase, RNasin und dNTPs von Promega (Mannheim) und AmpliTaq DNA Polymerase von Applied Biosystems (Weiterstadt). Collagenase CLSII wurde von Biochrome (Berlin) bezogen, Advantage II Polymerasemix und 10 x Reaktionspuffer von BD-Biosciences (Heidelberg), und lineares Acrylamid von Ambion (Austin, Texas).

2.3 Tiere

SHRSP, SHR und WKY wurden vom Tierhaus des Max-Delbrück Zentrums für Molekulare Medizin bezogen.

2.4 Bakterienstämme

E.coli Top10: F- *mcrA* (*mrr-hsdRMS-mcrBC*) F80*lacZ*.M15 *lac74 recA1 deoR araD139 .(araleu)* 7697 *galU galK rpsL* (Str^R) *endA1 nupG*

E.coli SURE: *endA1,(mcrA)Δ(mcrCB-hsdSMR-mrr)*171, *supE44, thi-1, λ-*, *gyrA96, relA1, lac, recB, recJ, sbcC, umuC::Tn5(Kan^R), uvrC, [F', proAB, lac^fZ M15, Tn10(Tet^R)]*

2. Material

2.5 Plasmide

pBluescript SK/KS II:	Amp ^r , <i>lacPOZ'</i> , ColE1 ori R, F1 ori (Stratagene, La Jolla, USA)
pCRII:	Amp ^r , Kan ^r , <i>lacZα</i> , pUC ori, F1 ori (Invitrogen, De Schelp, NL)
pEGFP N1:	Kan ^r , Neo ^r , pUC ori, SV40 ori, CMV IE, EGFP (BD-Biosciences, Heidelberg)

2.6 Primer und Oligonukleotide

(alle Sequenzen sind in 5'-3'-Richtung angegeben)

3'-GAPDH:	TCCACCACCCTGTTGCTGTA
5'-GAPDH:	ACCACAGTCCATGCCATCAC
Adaptor 1:	CTAATACGACTCACTATAGGGCTCGAGCGGCCGCCCGGGCAGGT
Adaptor 2R:	CTAATACGACTCACTATAGGGCAGCGTGGTCGCGGCCGAGGT
cDNA-Synthese Primer (CDS Primer):	TTTTGTACAAGCTT ₃₀ N ₁ N
EGFP Sequenzierprimer:	CGTCGCCGTCCAGCTCGACCAG
hRGS5 fw:	TTAAAGCGGAGGAGCTAAGCC
hRGS5 rv:	GTAGATTAATGGGAAATGCAGGGT
M13 fw Primer:	TGT AAA ACG ACG GCC AGT
M13 rv Primer:	CAG GAA ACA GCT ATG AC
Nested Primer 1:	TCGAGCGGCCGCCCGGGCAGGT
Nested Primer 2R:	AGCGTGGTCGCGGCCGAGGT
PCR Primer:	AAGCAGTGGTAACAACGCAGAGT
PCR Primer 1:	CTAATACGACTCACTATAGGGC
rRGS5 fw:	AAGTTGAGGACCTGAGCCGC
rRGS5 Race:	AAGGGCCTTAGACAACAGATCC
rRGS5 rv:	CCTATGTTTGGGTGTCTTGGAGC
RGS5-GFP fw:	CCCAAGCTTATGTGCAAAGGACTTGC
RGS5-GFP rv:	CGCGGATCCCCCTTGATTAACCTCCTGAT
SMART II:	AAGCAGTGGTAACAACGCAGAGTACGCGGG

2.7 TaqMan-Sets

(alle Sequenzen sind in 5'-3'-Richtung angegeben)

18S

fw: ACATCCAAGGAAGGCAGCAG
rv: TTTTCGTCACTACCTCCCCG
Sonde: FAM-CGCGCAAATTACCCACTCCCGAC-TAMRA

BM247

fw: CTGCCAGTTTCTGAAGCCCT
rv: ATCACATCCGTTCTTCAGCAAA
Sonde: FAM-TGGCATAGCTGATCTCCAGGTTGGC-TAMRA

BM254

fw: CCACACAACCAAACCAACATG
rv: AAGACACCCAAACATAGGCCGA
Sonde: FAM-TGAAAGAGTTAGCAACACGGCCTGTGG-TAMRA

BM259

fw: CTGAAGTGGCAGCGAACAGA
rv: GCTTCCATGCTTTCTCCGTT
Sonde: FAM-AACGGTGGATGGATGGAGGGTTTCTG-TAMRA

Cyclophilin

fw: TTT GGG AAG GTG AAA GAAGGC
rv: GCC ATT CCT GGACCCAAA A
Sonde: FAM-TGA GCA TTG TGG AAG CCA TGG AGC-TAMRA

Cystatin

fw: AACCAGTGCTTGCCAAAGATG
rv: GTCTCGGTCGTGGCCG
Sonde: FAM-CGCGCCATCCGCCACAATG-TAMRA

Galectin-9

fw: TCA CAC CGC GTG CCC TA
rv: AAG GAC AGG TGC AAG CAT CC
Sonde: FAM-CAC CTC GTG GAC ACC ATT TCG GTC TC-TAMRA

G α_1

fw: TCAAAAAGAGTCCCCTCACGA
rv: CGCAGCCGCCTCTTCAT
Sonde: FAM-TGCTATCCAGAATATGCAGGCTCAAACACA-TAMRA

G α_2

fw: TGAGGGTGTACGGCCAT
rv: TCCTCAGCCAGCACCAAGTC
Sonde: FAM-ATCTTCTGTGTGCGCCTTGAGCGCGTA-TAMRA

G α_3

fw: CAGCAATACCATTTCAGTCCATCA
rv: GCTTCCCCAAAATCAATCTTCA
Sonde: FAM-TGCAATCATAAGAGCCATGGGACGG-TAMRA

2. Material

hGAPDH	
fw:	GAA GGT GAA GGT CGG AGT C
rv:	GAA GAT GGT GAT GGG ATT C
Sonde:	FAM-CAA GCT TCC CGT TCT CAG CC-TAMRA
hRGS5	
fw:	AGC CAG AGA AAC CAG CCA AG
rv:	AGG GAA TCA CGC CAC TGC
Sonde:	FAM-CCA GAA AAC CTC GCT GGA CGA GGC-TAMRA
rGAPDH	
fw:	AAGCTGGTCATCAATGGGAAAC
rv:	ACCCCATTTGATGTTAGCGG
Sonde:	FAM-CAT CAC CAT CTT CCA GGA GCG CGA T-TAMRA
rRGS5	
fw:	ACCTTGAGTTCTGGGTTGCCT
rv:	GCTTTGCCTTCTCTGCCATT
Sonde:	FAM-TGAGAATTACAAGAAGATCAAGTCCCCCATCA-TAMRA
SUR2B	
fw :	TCTGAGAACTATGAAGGCACCATG
rv :	CGTGAATCTTGATCTCACCTTCC
Sonde :	FAM-ATCCTTCTCAAGTCCCAGAGCATTGGC-TAMRA
Ubiquitin B	
fw:	TGTGAGGGTGTTTCGACGC
rv:	TTTGCATTTTGACCTGTTAACGA
Sonde:	FAM-CTGGGCGGTTTGTTCCTTCATCGC-TAMRA

2.8 Allgemein verwendete Lösungen und Puffer

10 x PBS :	137 mM NaCl; 2,7 mM KCl; 7,4 mM Na ₂ HPO ₄
10 x TBE Puffer:	0,9 M Tris-HCl; 0,9 M Borsäure; 20 mM EDTA; pH 7,8
20 x SSC:	3 M NaCl; 0,3 M Na ₃ Citrat; pH 7,0
50 x TAE Puffer:	0,8 M Tris Base ; 0,2 M NaAcetat ; 20 mM EDTA ; pH 7,8
DNA Probenpuffer:	Bromphenolblau 0,25% (w/V); Glyzerin 30% (w/V)
TE Puffer:	10 mM Tris-HCl; 1 mM EDTA; pH 7,6

2.9 Medien für Bakterienanzucht

LB Medium:	10 g/L Bacto-Trypton; 5 g/L Hefeextrakt; 10 g/L NaCl; pH 7,2
LB Agar:	LB-Medium; 15 g/L Agar

2. Material

SOC Medium:	20 g/L Bacto Pepton; 5 g/L Bacto Hefeextrakt; 0,5 g/L NaCl; 2,5 mM KCl; 10 mM MgCl ₂ ; 20 mM Glukose; pH 7,0
2 x YT Medium:	16 g/L Bacto Trypton; 10 g/L Bacto Hefeextrakt; 5 g/L NaCl; pH 7,0
10 x HMF _M :	360 mM K ₂ HPO ₄ ; 132 mM KH ₂ PO ₄ ; 40 mM MgSO ₄ ; 17 mM Na ₃ -Citrat; 38 mM (NH ₄) ₂ SO ₄ ; 44% (v/v) Glyzerin

2.10 Zellkulturmedium

Wachstumsmedium:	EGM-Medium (Clonetics, Heidelberg)
Wachstumsmedium ohne	EBM-Medium (Clonetics, Heidelberg)
Zusätze:	
Trypsin:	0,25% Trypsin (w/V) in PBS ohne Ca ²⁺ und Mg ²⁺ (Seromed, Berlin)

2.11 Kits

PCR Select cDNA	
Subtraktionskit:	BD Biosciences, Heidelberg
Plasmid Mini- und	
Maxipräparation:	Qiagen, Hilden
Qiaex II Gelaufreinigung:	Qiagen, Hilden
Qiaquick DNA-	
Aufreinigung:	Qiagen, Hilden
Qia shredder	Qiagen, Hilden
Rediprime II	
Markierungskit:	Amersham Pharmacia, Freiburg
RNeasy Kit:	Qiagen, Hilden
SMART PCR	
cDNA Synthesekit:	BD Biosciences, Heidelberg
Topo TA Klonierungskit:	Invitrogen, De Schelp, NL

2.12 Geräte

377 DNA Sequenzer:	Applied Biosystems, Weiterstadt
Bioanalyzer:	Agilent Technologies, Böblingen
Elektrophoresekammern:	Biometra, Göttingen
Kühlzentrifuge:	Beckmann, München
MCR 1024 (konfokale Mikroskopie):	Biorad, München
Mikroskop für die Konfokale Mikroskopie:	Nikon, Düsseldorf
PCR Maschinen:	Applied Biosystems, Weiterstadt
Phosphoimager:	Molecular Dynamics, Sunnyvale, USA
Qfill2:	Genetix, New Milton, UK
SDS 7700 bzw. 5700 („TaqMan“):	Applied Biosystems, Weiterstadt
Tischzentrifugen:	Eppendorf, Hamburg
Vakuumzentrifuge:	Eppendorf, Hamburg
Zellkulturzentrifuge:	Beckmann, München

2.13 Software

7700 und 5700 Sequence Detection Software:	Applied Biosystems, Weiterstadt
Geneworks:	Oxford Molecular Group, Oxford, UK
Image Quant :	Molecular Dynamics, Sunnyvale, USA
MCR 1024 Laser Scanning confocal Imaging Software:	Biorad, München
Primer Express:	Applied Biosystems, Weiterstadt
Sequencing Analysis:	Applied Biosystems, Weiterstadt
x-Digitise/hfa-Loop und make-list:	Max-Planck Institut für molekulare Genetik, Berlin