

### 3. Material

#### 3.1 Geräte

Brutschrank	Hera Cell (Heraeus, Osterode, D)
Cryostat	Frigocut 2800 N (Jung, Nussloch, D)
HPLC-Anlage	RF-530 Fluorescence HPLC Monitor LC-9A Pumpen (2 Stück) SIL-6B Auto Injector SCL-6B System Controller (Shimadzu, Kyoto, Japan)
Magnetrührer und Heizplatte	RH basic (IKA Labortechnik, Staufen, D)
Mikroskop	IX 50 (Olympus, Hamburg, D)
pH-Meter	CG 840 (Schott Geräte, Hofheim a. Ts., D)
Pipetten	Serie „Pipetmen“ (Gilson, Villiers-le-Bel, F)
PhosphoImager	FLA-2000 (Fuji Photo Film, Kanagawa, Japan)
Reinstwasser-Anlage	Clear (Wasseraufbereitung und Regenerierstation GmbH (Hamburg, D)
Sekretsauger	P7010 (Heraeus Med GmbH, Hanau, D)
Sequenziergerät	ABI Prism™ 377 (Perkin-Elmer, Weiterstadt, D)
Spektralphotometer	Sunrise (Tecan, Crailsheim, D)
Sterilbank	Hera Safe (Heraeus, Osterode, D)
Thermocycler	PTC-100, PTC-200 (Biometra, Göttingen, D)
UV-Photometer	Ultrospec 1000 (Pharmacia, Freiburg, D)
Ultraschallbad	Sonorex Super RK 102 H (Bandelin, Mörf.-Walldorf, D)
Vakuumpzentrifuge	SpeedVac® Plus RC 110 B (ThermoSavant, Holbrook, USA)
Vortexer	MS 1 (IKA Labortechnik, Staufen, D)
Waagen	770 und 440-51 (Kern & Sohn, Albstadt, D)
Wasserbad	Julabo U3 (Julabo Labortechnik, Seelbach, D)
Western Blotting	Mini Trans Blot (BioRad, München, D)
Zentrifugen	Biofuge Pico (Heraeus, Osterode, D) Biofuge Fresco (Heraeus, Osterode, D) Multifuge 3 S-R (Heraeus, Osterode, D)
Zytozentrifuge	Zytospin 2 (Shandon Scientific, Astmoor, GB)

### 3.2 Verbrauchsmaterialien

Einmalmaterialien aus Kunststoff wurden von den folgenden Firmen bezogen:

Eppendorf (Hamburg, D)

Reaktionsgefäße, Pipettenspitzen

Greiner (Nürtingen, D)

Zellkulturflaschen, Petrischalen, Plastikröhrchen, Plastikschalen (multi-well)

Nunc (Wiesbaden, D)

Zellkulturflaschen, Kryoröhrchen

Schleicher & Schuell (Dassel, D)

Western-Blot-Papier

### 3.3 Chemikalien

Amersham Pharmacia Biotech ( Uppsala, S)

ECL-Farbreagenz, Hyperfilm ECL, Ready-To-Go T-Primed First Strand Kit

Biochrom AG (Berlin, D)

DMEM, DMEM/HAM F12 (1:1), FCS, L-Glutamin, RPMI-1640, Penicillin, Streptomycin

Biomol Feinchemikalien GmbH (Hamburg, D)

C<sub>2</sub>-Ceramid, C<sub>8</sub>-Ceramid, DL-*threo*-Dihydrosphingosin, Sphingosin-1-phosphat, D-*erythro*-N,N -Dimethylsphingosin

BioRad (München, D)

Acrylamid-Lösung, BCA Protein Assay, SDS-PAGE Standards, 20 x SSC, 50 x TAE, 10 x TBE

Boehringer (Mannheim, D)

DNase I

Calbiochem-Novabiochem GmbH (La Jolla, USA)

Choleratoxin

Clontech Laboratories Inc. (Heidelberg, D)

cDNA Expression Array, RT-PCR Amplimer Sets

Dako (Hamburg, D)

Alle APAAP-Komponenten (bis auf Primärantikörper)

Gibco Life Technologies GmbH (Karlsruhe, D)

Agarose, DH5 $\alpha$ <sup>TM</sup> kompetente Zellen (*E. coli*), Harnstoff (enzyme grade), 123 bp-Marker

Invitrogen (Karlsruhe, D)

IPTG/X-gal

Mallinckrodt Baker B.V. (Deventer, NL)

Ethanol, Methanol

Merck (Darmstadt, D)

Aceton, Borsäure, Butanol, Chloroform, di-Kaliumhydrogenphosphat, DMF, DMSO, Essigsäure, Glycerin, Kaliumchlorid, Kaliumhydroxid, Magnesiumchlorid, MOPS, Natriumchlorid, Natriumhydroxid, Natriumdihydrogenphosphat, Salzsäure (konz.)

PAA Laboratories GmbH (Linz, A)

PBS (w/o Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>), RPMI-1640

Phenomenex (Aschaffenburg, D)

Chromatographiesäule Luna C18 (2) mit 5  $\mu$ m Porengröße und (150 x 4,6) mm

Quiagen (Hilden, D)

Oligotex-mRNA-Kit, RNeasy-Kit, Plasmid-Mini-Kit, Plasmid-Midi-Kit, QIAquick-Gel-Extraktion-Kit

R & D Systems (Wiesbaden, D)

IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , TGF $\beta$ 1, IL-4, IFN $\gamma$

Roche Diagnostics GmbH (Mannheim, D)

EDTA-free Protease Inhibitor Cocktail, Cytotoxicity-Detection-Kit (LDH)

Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, USA)

anti-PDGFR $\alpha$ , anti-PDGFR $\beta$ , anti-Phospho-Tyrosin

Serva Electrophoresis GmbH (Heidelberg, D)

Glycin, Ponceau-S-Lösung, Silikon-Lösung, TEMED

Sigma Aldrich Chemie GmbH (Deisenhofen, D)

Aprotinin,  $\beta$ -Mercaptoethanol, Cycloheximid, DEPC, EDTA, Ethidiumbromid, Igepal CA-630, Kanamycin für *E.-coli*-Kultur, LB-Medium, Leupeptin, Natriumfluorid, Natriumpyrophosphat, o-Phthaldialdehyd, PMSF, RNA-Ladepuffer, Staurosporin, Tris (Base), Tris-HCl, Tween-20

Schleicher & Schuell (Dassel, D)

Nitrocellulose-Membranen

Primer-Bestellung

Die in dieser Arbeit verwendeten Primer stammten entweder von der Fa. Eurogentec (Seraing, B) oder von der Fa. Tib Molbiol (Berlin, D)

**Tabelle 4: Sequenzen der verwendeten Primer**

Gen	Sequenz	Amplifikat
β-Aktin	5'- ATC TGG CAC CAC ACC TTC TAC AAT GAG CTG CG -3' 5'- CGT CAT ACT CCT GCT TGC TGA TCC ACA TCT GC -3'	838 bp
PDGF-A	RT-PCR Amplimer Set	303 bp
PDGF-B	RT-PCR Amplimer Set	252 bp
PDGFR $\alpha$	5'- GAA TCA TAG CTC TCT CCT CGC AC -3' 5'- GAT TCC TCC AAA GCC TCA TAG CAG -3'	491 bp
PDGFR $\beta$ (großes Fragment)	5'- CAG TCC TGC CTG TCC TTC TAC TC -3' 5'- GGA TCT GGC ACA AAG ATG TAG AGC -3'	524 bp
PDGFR $\beta$ (kleines Fragment)	5'- TCT TTC TGA TAA CTG GGA GAG GGC -3' 5'- AAA GTA TTC TCC CGT GTC TAG C -3'	403 bp
hSphK	5'- ATC CAG AAG CCC CTG TGT AGC CTC C -3' 5'- GCA GCA AAC ATC TCA CTG CCC AGG T -3'	524 bp