

3 Materialien

3.1 Verwendete Geräte

Gerät	Hersteller
Babygelkammer	Bio-Rad
Begasungsbrutschrank	Heraeus
Biolistic PDS1000/He	Bio Rad
Cell Quest (Software)	Becton-Dickinson
Coulter Counter Z1	Coulter
Coulter Multisizer II	Coulter
Durchflußzytometer FACS-Calibur	Becton-Dickinson
Elektrische Präzisionswaage	Satorius
Fluoreszenzmikroskop Axiophot	Zeiss
Gene pulser (Bakterien)	Bio-Rad
Hydra	Mologen
Laborzentrifuge Christ	Heraeus
Magnet Vario MACS	Miltenyi Biotec
Photo-CCD-Kamera	Polaroid
Präzisions-Mikroplatten-Lesegerät E max	MWG Biotech
Reinraumbank	Heraeus
Sorvall-Zentrifuge R C-5B	Du Pont
Spektralphotometer	Cary
Tischzentrifuge Biofuge A	Heraeus
Vakuumpumpe	Acubrand
Vortex Genie 2	Bender & Hobein
Wasserbad	Heraeus

3.2 Verwendete Materialien und Chemikalien

Die benutzten Chemikalien hatten den Reinheitsgrad p.A. und wurden von den Firmen Fluka, Merck, Serva, Riedel de Haen und Sigma bezogen. DNA-Restriktionsenzyme wurden von den Firmen Gibco BRL, Boehringer Mannheim, AGS oder NEB geliefert. Die verwendeten Puffer entsprachen den Herstellerangaben. Hiervon abweichende Produkte werden in der folgenden Tabelle aufgeführt:

Produkt	Hersteller
2-Methyl-1-Propanol	Roth
Agarose	Sigma
Ampicillin	Boehringer Mannheim
Bacto Peptone	Gibco BRL,
Basic Microbeads	Miltenyi Biotech
Berstscheiben	Bio-Rad
Corexröhrchen	Corex
Corexröhrchen, 30 ml	Sorvall
Diafilm Ektachrom, Kunstlicht 320ASA, 36 Bilder	Kodak
DMSO (Dimethylsulfoxid), steril filtriert	Sigma
Einfrierröhrchen	Nalagene
Elektroporationsküvetten	Eurogentech
Ethanol p.A.	Roth
Ethidiumbromid	Sigma
FACRinse	Becton-Dickinson
FACSafe	Becton-Dickinson
FCS	Costar
Fötale Kälber Serum	Biowhitacker
Gelladepuffer	Gibco BRL
Gentamicin	Gibco BRL
Gewebekulturflaschen verschiedene Größen	Costar
Gewebekulturschalen verschiedene Größen	Costar
Goldpartikel Durchmesser 1,6µm	Bio Rad
Isopropanol 100%	Roth
Isopropanol 70%	Roth
Isopropanol p.A.	Roth
Isotonmedium	Coulter
L-Broth-Medium	Gibco BRL
L-Glutamin	Biowhitacker
Magnetische Trennsäulen Typ AS	Miltenyi Biotech
Nichtessentielle Aminosäuren	Biowhitacker
Parafilm	American National Can, USA
Pipetten	Costar
PBS ohne Ca ⁺⁺ und Mg ⁺⁺	Biowhitacker
Petrischalen	Costar
Phenol	Roth
Qiagen Plasmid Kit (Maxi und Mini)	Qiagen

Immunoassy GM-CSF	BioSource
Immunoassy hIL-12	BioSource
RPMI 1640	Biowhitacker
SDS	Gibco BRL
Selekt Agar	Gibco BRL
SOC-Medium	Gibco BRL
Sterilfilter, 0,22µm	Millipore
Stoppgitter	Bio Rad
Macrocarrier	Bio Rad
Trypsin/ EDTA-Lösung (0,05% Trypsin/ 0,02% EDTA)	Biowhitacker
Yeast Extract	Gibco BRL
Zellkulturflaschen div. Größen	Costar
Zentrifugierröhrchen 15 ml und 50 ml	Costar

3.3 Bakterienstämme und Zelllinien

Name	Bezugsquelle
E. coli K12, XL1-Blue	Stratagene
K562-Zellen	ATCC
BM185	ATCC
Jurkat	ATCC
U937	ATCC
NKZ1	Centrum Somatische Gentherapie
MMZ1	Centrum Somatische Gentherapie

3.4 Zellkulturmedien

Zelllinie	Zellkulturmedium und Zusätze
K562	RPMI 1640 mit Ultra Glutamin, 10% FCS, 50µg/ml Gentamycin
Jurkat	RPMI 1640 mit Ultra Glutamin, 10% FCS, 50µg/ml Gentamycin
U937	RPMI 1640 mit Ultra Glutamin, 10% FCS, 50µg/ml Gentamycin
BM185	RPMI 1640 mit Ultra Glutamin, 5% FCS, 50µg/ml Gentamycin
NKZ1 und Nierenkarzinomzellen	L-15 Medium, 10% FCS, Ultra Glutamin, 5% FCS, 50 µg/ml Gentamycin, Transferrin 2,5 mg/l, Insulin 80 IE/l, Glucose 1 g/l MEM-Vitamine 1x, NaHCO ₃ 7,5%
MMZ1 und Melanomzellen	RPMI 1640 mit Ultraglutamin, 10%FCS, 50µg/ml Gentamycin

3.5 Plasmidkonstrukte und Oligodesoxyribonukleotide

Die Expression der verwendeten Gene wurde durch den CMV Promotor gesteuert und befanden sich im Plasmid pMTV. Die verwendeten FITC markierten Oligodesoxyribonukleotide (ODN) hatten die fünfmal wiederholte Sequenz GATC. Die 20 Basen langen ODN trugen die Bezeichnung (GATC)₅-FITC.

Name	Strukturgen	Bezugsquelle
pMTV-eGFP-C1	eGFP	Matthias Schroff, AG Wittig, FU-Berlin
pMTV-hGM-CSF	hGM-CSF	Matthias Schroff, AG Wittig, FU-Berlin
pMTV-hIL-7	hIL-7	Matthias Schroff, AG Wittig, FU-Berlin
pMTV-hCD40L	hCD40L	Matthias Schroff, AG Wittig, FU-Berlin

3.6 Puffer, Lösungen und Medien

Produkt	Chemikalien	Konzentration/ Menge
Gelladepuffer	Glycerol (50%) EDTA (1 mM) Bromphenolblau (2,5%) H ₂ O	5 ml 20 µl 1 ml ad 10 ml
L-Broth	Peptone NaCl Yeast Extract	10 g/l 5 g/l 5 g/l
Lösung QTB von Qiagen	NaCl MOPS 96% Ethanol 10% Triton X-100	43,83 g/l 10,46 g/l 150 ml/l 15 ml/l
Lösung QC von Qiagen	NaCl MOPS 96% Ethanol	58,44 g/l 10,46 g/l 150 ml
Lösung QF von Qiagen	NaCl TRIS 96% Ethanol	73,05 g/l 6,06 g/l 150 ml/l
Puffer 1 von Qiagen	TRIS EDTA RNase A 1m HCl	6,24 g/l 3,72 g/l 0,1 g/l bis pH 8

Puffer 2 von Qiagen	NaOH 1% SDS	8 g/l 100 ml/l
Puffer 3 von Qiagen	K-Acetat konzentrierte Essigsäure	294,45 g/l in 0,5 l H ₂ O bis pH 5,5
SOC-Medium	Trypton Yeast Extract NaCl KCl MgCl ₂ MgSO ₄ Glucose	2% 0,5% 10 mM 2,5 mM 10 mM 10 mM 20 mM
PBS	NaCl KCl KH ₂ PO ₄	8 g/l 0,2 g/l 0,2 g/l
TAE-Puffer	TRIS Natriumacetat EDTA	4,85 g/l 0,41 g/l 0,74 g/l
Trypanblau filtrieren mit einem 0,45 µm Filter	NaCl Trypanblau H ₂ O	0,9 g 0,5 g ad 100 ml