

2. Material und Lösungen

2.1 Enzyme und Kits

2.1.1 Restriktionsendonukleasen

Eco RI	Puffer O	MBI Fermentas, St. Leon Roth
Nco I	Puffer Y	MBI Fermentas, St. Leon Roth
Not I	Puffer O	MBI Fermentas, St. Leon Roth
Sal I	Puffer O	MBI Fermentas, St. Leon Roth,
Sma I	Puffer Y	MBI Fermentas, St. Leon Roth

Tab2.1: Während der Arbeit verwendete Restriktionsenzyme

Puffer O: 50mM Tris-Cl (pH 7,5)
10mM MgCl₂
100mM NaCl
+0,02% Triton 100
bei 37°C inkubieren

Puffer Y: 33mM Tris-Acetat (pH 7,9)
10mM Mg-Acetat
66mM K-Acetat
+0,1mg/ml BSA
bei 30°C inkubieren

2.1.2 DNA- und RNA-modifizierende Enzyme und Kits

M-MLV Reverse Transkriptase	Gibco/BRL, Eggenstein; MBI Fermentas, St. Leon Roth
Taq-Polymerase	AGS, Heidelberg
Alkalische Phosphatase (CIP)	Boehringer, Mannheim
T4-DNA Polynukleotidkinase	New England Biolabs, Schwalbach
T4-DNA Ligase	New England Biolabs, Schwalbach
Terminale Transferase	Boehringer, Mannheim
Oligolabeling Kit	Pharmacia

Tab2.2: Enzyme und Kits, zur Modifizierung von Nucleinsäuren

2.1.3 Weitere Enzyme

Benzo-Nuclease	Merck, Darmstadt
RNAasin TM	Promega über Boehringer Ingelheim
RNase A	Macherey & Nagel, Düren
RNase H	MBI Fermentas, St. Leon Roth

Tab2.3: Weitere eingesetzte Enzyme.

2.1.4 TOPO-Klonierungs Kits

Hierbei handelt es sich um Kits der Firma Invitrogen, die es ermöglichen PCR-Produkte schnell und effizient in einen mitgelieferten Vektor zu ligieren, um diesen dann in beigelegten kompetenten Zellen zu klonieren.

- TOPO TA Cloning Kit enthält den pCR 2.1 TOPO-Vektor
- eukaryontische TOPO TA Cloning Kit enthält den pCDNA3.1./V5/HisTOPO-Vektor zur Expression in eukaryontischen Zellen.

2.1.5 Nuclease Protektions-Assay „Riboquant“

Dieser Assay der Firma Pharmingen, Hamburg, ermöglicht die Detektion unterschiedlicher spezifischer mRNA durch mitgelieferte Sondenmischungen und Reagentien für einen Nuklease-Protektions Assay.

- „multi-probe template set“ mAPO1, die Sondenmischungen zur Detektion von Caspasen.
- „In vitro Transkriptions Kit“ zur radioaktiven Markierung der Sonden.
- „RPA-Kit“ zur Hybridisierung und Nuclease-Reaktion.

2.2 Plasmide

pUC19:

Das Plasmid pUC19 besitzt N-terminale Anteile des *E. coli* lacZ Gens zur Blau-Weiß-Selektion, außerdem eine multiple Klonierungsstelle (mcs) und eine Ampizillin-Resistenzgen-Kassette zur Selektionierung. Es hat eine Größe von 2686bp.

pBluescript II SK (+-) Phagemid:

Das Plasmid pBluescript ist für die Transformation in *E.coli*-Bakterien geeignet. Es hat eine Größe von 2961bp und stammt vom Plasmid pUC19 ab (Firma Stratagene).

Das Plasmid trägt das Ampizillin-Resistenzgen (Ampr), den Replikationsursprung, das lacZ-Gen und einen Promotor für das lacZ-Gen. Durch das lacZ-Gen ist eine Blau-Weiß-Selektion der transformierten Bakterien möglich. Weiter hat das Plasmid eine multiple Klonierungsstelle (mcs).

Accession Nr.: X52328 (SK+), X52330 (SK-)

pEGFP N1:

Das 4.7kb große Plasmid kodiert für eine Variante des Wildtyp GFP mit einem Extinktionsmaximum von 488nm und einem Emmissionsmaximum von 507nm. 5' davon besitzt es eine multiple Klonierungsstelle. Alle zur Expression in Eukaryonten nötigen Sequenzen liegen neben einer Kassette des Kanamycin-Resistenzgens vor.

Accession Nr.: U55762

2.2.1 Plasmid-Konstrukte

Hierbei handelt es sich um Plasmid-Konstrukte, die von anderen Arbeitsgruppen bezogen wurden. Diese Plasmide enthalten vollständige oder Teilsequenzen von apoptoserelevanten Genen.

crmA in pUC19

Das Plasmid ist ein pUC19 Derivat, das ein 1.4kb *NcoI-HaeIII* Fragment einschließlich des vollständigen CrmA Gens enthält, flankiert von zwei Linkersequenzen mit je einer *EcoRI*-Schnittstelle. Es wurde von Prof. David J. Pickup an der Duke University, North Carolina, USA zur Verfügung gestellt [114].

Accession Nr.: M14217

casp-2 in pBluescript II SK

Dieses Plasmid enthält die vollständige kodierende Mausequenz einer Caspase-2 cDNA. Das 2,1kb Fragment liegt in der *EcoRI* Schnittstelle der mcs mit der Orientierung 5' zur *XhoI*-Schnittstelle. [115]

Es wurde von Dr. S. Kumar vom Hanson Centre in Adelaide in Australien zur Verfügung gestellt.

Accession Nr.: D28492

casp-2_h in pBSK

In die *EcoRI*-Schnittstelle der mcs von pBSK wurde die vollständige cDNA des humanen Caspase-2 Gens inseriert, wobei der T3-Promotor 5' des Inserts liegt.

Dr. J. Y. Yuan von der Harvard Medical School in Boston, USA stellte uns das Plasmid zur Verfügung. [116]

Accession Nr.: D28492

casp-4 in pBluescript II SK

Die vollständige Sequenz der humanen Caspase-4-cDNA wurde in die *EcoRI*-Schnittstelle von pBlueskript inseriert, so daß der T3-Promotor 5' des Inserts liegt. Es wurde von Dr. D.W. Nicholson vom Merck Frosst Centre for Therapeutic Research in Quebec, Kanada bereitgestellt. Accession Nr.: U28014

casp-5 in pBluescript II SK

s. casp-4

Accession Nr.: U28015

2.3 Oligonukleotide

Im Rahmen dieser Arbeit wurden folgende Oligonukleotide verwendet. Die Synthese wurde in Auftrag gegeben bei der Firma ARK (Dieburg) und bei Herrn W. Hädel im AK von Prof. Dr. Sebald im diesem Institut.

NAME	SEQUENZ 5' -> 3'	T _D	Ziel-DNA	↔	Acc.
Casp2a	TGG AAA TGA GGG AGC TCA TCC	59°C	mCaspase-2	→	Y13085
Casp2b	TTC TCT TGC ATT TCC TGT GCG	57°C	mCaspase-2	←	Y13085
Casp6a	GAG ACC TTT CTG TTC ACC AG	57°C	mCaspase-2	←	Y13087
Casp6b	ACA TAG ATG CCG ATT GCT TCA	55°C	mCaspase-2	→	Y13087
Casp9c	TGGTGGAGGTGAAGAACGAC	62°C	mCaspase-9	→	ABO19600
Casp9d	GAATTC-AAGTGCAGGCCACCTCAAAG	78°C	mCaspase-9	←	ABO19600
m8	GGC ACG ATT CTC AGC ATA GGT	57°C	mCaspase-1	←	L03799
m8ps	ATT CAG GCC TCC AGA GGA GAA AC	59°C	mCaspase-1	→	L03799
RS1	GAC TGT GCA TCA ACA GTT AC	58°C	crmA	→	M14217
RS2	CTA GCT AAG CTT CCA TGG GAT TAG TTG TTG GAG AGC AA	65°C	crmA + Hind III - Restr.	←	M14217
MCH2A	ACG CAG ATG CCG ATT GCT TTG	57°C	hCaspase-6	→	U20537
MCH2B	ACT CGG CGC TGA GAA ACT TTC	57°C	hCaspase-6	←	U20537
MCH3A	TGT GGG ATG GCA GAT GAT CAG	57°C	hCaspase-7	→	U39613
MCH3B	CAG GCG GCA TTT GTA TGG TC	57°C	hCaspase-7	←	U39613
MCH4A	TCA GGC AAA GCT TGA ATC AGG	55°C	hCaspase-10	→	U60519
MCH4B	TGA AGG CGT TAA CCA CAG GAC	57°C	hCaspase-10	←	U60519
MCH5A	AGC ATC TGC TGT CTG AGC AG	57°C	hCaspase-8	→	U60520
MCH5B	AGA AGT GGA ACC TGT AGG CAG	57°C	hCaspase-8	←	U60520
MCH6A	AAT GGT GCT GGGC TTT GCT GG	57°C	hCaspase-9	→	U60521
MCH6B	TTC ACC GAA ACA GCA TTA GCG	55°C	hCaspase-9	←	U60521

Fortsetzung folgende Seite

Bcl-1`	AAG CCG GGA GAA CAG GGT ATG	59°C	mBcl-2	→	M16506
bcl4	TGC CAC CTG TGG TCC ACC TGA CCC TC	71°C	mBcl-2	→	M16506
Bcl5	CAG AGA CAG CCA GGA GAA ATC	59°C	mBcl-2	←	M16506
KARB1	ACC AGC AGC CCA GAG TAT GTT	57°C	mBad	→	L37296
KARB2	CTT TGT CGC ATC TGT GTT GCA	55°C	mBad	←	L37296
TOPO-1	CTA ACT AGA GAA CCC ACT GCT T	64	TOPO-Vektor	→	
TOPO-2	ACT GTG CTG GAT ATC TGC AGA	62	pCDNA3.1./V5/ HisTOPO	←	
JH17	ACG ACG TTG TAA AAC GAC GGC CAG T	60	pBluescript SK	→	X52328
JH18	CAC ACA GGA AAC AGC TAT GAC CAT G	63	pBluescript SK	←	X52328
VEGF A1	CCT CCA CCA TgC CAA gTg gt	64	h/mVEGF	→	X62568
VEGF3	GCC TCG GCT TGT CAC ATC TGC	68	h/mVEGF	←	X62568
dT ₁₈	TTT TTT TTT TTT TTT TTT	66,7		←	

Tab2. 4: Verwendete Oligonukleotide: die mittlere Schmelztemperatur (T_D) errechnet sich nach folgender Gleichung: $T_D = [(C_n + G_n) \times 4 + (A_n + T_n) \times 2]^\circ\text{C}$, (n = Anzahl der jeweiligen Basen)
→: Primer in 5'-Richtung, ← Primer in 3'-Richtung; h=human, m=murin; Acc.= Accession Nr.

2.4 Antikörper

1. Antikörper	Produkt Nr.	Verdünnung	Anbieter
α- LaminA/C, Maus IgM	KlonR27	1:1000	Prof. Krohne/Biozentrum
α- LaminB, Maus IgG	Klon223-3	1:1000	Prof. Krohne/Biozentrum
α- Caspase1, Ziege IgG	sc-1218	1µg/ml	Santa Cruz
α- Caspase2, Kaninchen IgG	06-537-MN	1µg/ml	Upstate/ Biomol, Hamburg
α- Caspase2, Maus IgG	I29120	1:5000	Dianova, Hamburg
α- Caspase3, Kaninchen IgG	06-735-MN	1µg/ml	Upstate/ Biomol, Hamburg
α- Caspase6, Kaninchen IgG	218774	1:750	Calbiochem,
α- Caspase9, Kaninchen IgG	AAP-109	1:250	StressGen/ Biomol, Hamburg
α- Bad, Maus IgG	B36420	1:250	Dianova, Hamburg
α-Cytochrom C, Maus IgG	65981A	1µg/ml	Pharmingen
2. Antikörper			
Peroxidase-konjugierter Schaf-Anti-Maus IgG	-	1:10000	Dianova, Hamburg
Peroxidase-konjugierter Ziege-Anti-Kaninchen Ig	-	1:5000	Dianova, Hamburg
Affinitätsmarkierung			
Peroxidase-konjugiertes-ExtrAvidin	E-2886	1:2000	Sigma Immuno Chemicals

Tab2.5: Antikörper für Western Blots

2.5 Inhibitoren und Substrate für Caspasen

Inhibitoren	
Ac-YVAD.cmk	Bachem, Heidelberg
Z-DEVD.cmk	Bachem, Heidelberg
Z-VEID.fmk	Enzyme Systems, Livermore (CA)
Ac-YVAD.cho	Bachem, Heidelberg
Ac-DEVD.cho	Bachem, Heidelberg
Ac-VEID.cho	Bachem, Heidelberg
bio-DEVD.aomk	Biosyn, Belfast (Irl.)
Ac-YVK(bio)D.aomk	Bachem, Heidelberg
Substrate	
Z-YVAD.amc	Bachem, Heidelberg
Z-VEID.amc	Bachem, Heidelberg
Z-DEVD.amc	Bachem, Heidelberg
Z-DEVD.pNa	Bachem, Heidelberg
Z-VEID.pNa	Bachem, Heidelberg
Z-IETD.pNa	Bachem, Heidelberg

Tab2.6: Inhibitoren und Substrate für Caspasen

2.6 Größenmarker

2.6.1 Größenmarker für Proteine

Diese Marker werden für die SDS-PAGE eingesetzt Die einzelnen Proteine sind vorgefärbt und sind im Gel oder nach dem Blotten auf der Membran sichtbar.

SDS 7B Molecular Weight Marker von Sigma: (in kD)

180 - 116 - 84 - 58 - 48,5 - 36,5 - 26,6

SDS 17S Molecular Weight Marker von Sigma: (in Da)

16950 – 14440 – 10600 – 8160 – 6210 – 3480 - 2510

prestained Benchmark BRL von GIBCO: (in kD)

194 – 120 – 87 - 64* - 52 – 39 – 26 – 21 – 15 – 9

2.6.2 Größenmarker für DNA

100bp-DNA Leiter: Dieser Marker wurde von der Firma MBI-Fermentas bezogen. Größe der Fragmente in Basenpaaren (bp):

1000 - 900 - 800 - 700 - 600 - 500 - 400 - 300 - 200 - 100 - 80

MMS: Dieser Marker wurde von der Firma MBI-Fermentas bezogen. Der Marker wird durch Restriktionsverdau von λ -DNA mit dem Enzym *Eco130I* (*StyI*) hergestellt. Größe der Fragmente in Basenpaaren (bp):

19329 - 7743 - 6223 - 4254 - 3472 - 2690 - 1882 - 1489 - 925 - 421 - 74

2.7 Sequenzinformationen

Stand bei Abgabe der Arbeit

	NCBI-Accession-Nummer	
	human	murin
Casp-1	U13697-U13700	L03799
Casp-2	D28492	Y13085
Casp-3	U13737-U13738	Y13086
Casp-4	U28015	--
Casp-5	U28014	--
Casp-6	U20537	Y13087
Casp-7	U39613	Y13088
Casp-8	U60520	AF067834
Casp-9	U60521	ABO19600
Casp-10	U60519	--
Casp-11	--	Y13089
Casp-12	--	Y13090
Casp-13	NM_003723	--
Casp-14	NM_012114	AJ007750
crmA	M14217 (viral)	

Tab2.7: Accesions-Nummern für Sequenzinformationen aus NCBI-Datenbanken

2.8 Chemikalien

3-Mercaptopropionsäure	Serva, Heidelberg
5-Brom-4-chlor-3-indolyl- β -D-galaktopyransid (X-Gal)	Alligene, Illkirch (F)
8Br-cAMP	Sigma, Deisenhofen
Acrylamid	Serva, Heidelberg
Adenosin	Sigma, Deisenhofen
Agarose für DNA-Elektrophorese	Serva, Heidelberg
Agarose Nu Sieve GTG (<i>Low Melting Grade</i>)	Biozym, Hameln
Aminomethylcoumarin (amc)	Sigma, Deisenhofen
Ammoniumperoxodisulfat (APS)	Sigma, Deisenhofen
Ampholyte, pH 3-10	Serva, Heidelberg
Ampicillin	Serva, Heidelberg
Ampuwa-H ₂ O	Fresenius, Bad Homburg
Anisomycin	
ATP	Sigma, Deisenhofen
ATP	Sigma, Deisenhofen
Bacto-Agar	Gibco/BRL, Eggenstein
Bicinchoninsäure (BCA)	Sigma, Deisenhofen
Borat	Roth, Karlsruhe
Bromcyan	Sigma, Deisenhofen
Bromphenolblau	Serva, Heidelberg
BSA	Serva, Heidelberg
CAPS-Puffer	Roth, Karlsruhe
CHAPS	Calbiochem,
Chloroform	Ferak, Berlin
Colchicin	Sigma, Deisenhofen
Coomassie G	Serva, Heidelberg
Cover Fluid	Pharmacia, Freiburg
DEPC	Sigma, Deisenhofen
Desoxyribonukleosid-5'-triphosphat-Set (dATP, dCTP, dGTP, dTTP)	Boehringer, Mannheim
Dimethyldichlorsilan	Merck, Darmstadt
Dimethylformamid	Fisons, Loughborough (UK)
Dinatriumcarbonat	Sigma, Deisenhofen
Dinatriumhydrogenphosphatdihydrat	Merck, Darmstadt
DMSO	Sigma, Deisenhofen
DTT	Sigma, Deisenhofen
Dynabeads, polydT	Dynal
EDTA (Titriplex III)	Merck, Darmstadt
EGTA (Titriplex VI)	Merck, Darmstadt
Essigsäure 99%	Merck, Darmstadt
Ethanol p.a.	Ferak, Berlin
Ethidiumbromid	Roth, Karlsruhe
Ficoll	Sigma, Deisenhofen
Formaldehyd für Silberfärbung 37%	Fluka, Buchs
Formaldehyd min. 37%	Merck, Darmstadt
Formamid, deionisiert	Gibco/BRL, Eggenstein
Forskolin	Sigma, Deisenhofen

Glycerin	Roth, Karlsruhe
Glycin	Merck, Darmstadt
Guanidiniumthiocyanat	Sigma, Deisenhofen
Harnstoff	Sigma, Deisenhofen
Hefe-Extrakt	Gibco/BRL, Eggenstein
HEPES	Roth, Karlsruhe
Heringssperma-DNA	Boehringer, Mannheim
Hoe33342	Sigma, Deisenhofen
Hyclone Kälberserum	Hyclone, Logan (USA)
Hydroxylapatit	Merck, Darmstadt
Immobiline Strip	Pharmacia, Freiburg
Inhibitormix, EDTAfree	Boehringer, Mannheim
Iodacetamid	Sigma, Deisenhofen
IPTG	Sigma, Deisenhofen
Isoamylalkohol	Merck, Darmstadt
Isopropanol	Ferak, Berlin
Kaliumacetat	Roth, Karlsruhe
Kaliumchlorid	Roth, Karlsruhe
Kaliumdihydrogenphosphat	Ferak, Berlin
Kalium-Natrium-Tartrat x4 H ₂ O	Merck, Darmstadt
Kanamycin	Sigma, Deisenhofen
Kupfersulfat x 5 H ₂ O	Sigma, Deisenhofen
Leupeptin	Sigma, Deisenhofen
Lithiumchlorid	Sigma, Deisenhofen
Luminol (3-Aminophtalhydrazide)	Fluka, Neu-Ulm
Magnesiumchlorid	Sigma, Deisenhofen
Mc Coy 5A, Trockenmedium	Gibco/BRL, Eggenstein
MCDB 402, Trockenmedium	Gibco/BRL, Eggenstein
Mercaptoethanol	Serva, Heidelberg
Methanol	Roth, Karlsruhe
MOPS-Puffer	Roth, Karlsruhe
N,N`-Methylenbisacrylamid	Serva, Heidelberg
Natriumacetat-trihydrat	Merck, Darmstadt
Natriumazid	Serva, Heidelberg
Natriumchlorid	Roth, Karlsruhe
Natriumdihydrogenphosphat-monohydrat	Merck, Darmstadt
Natriumhydrogencarbonat	Roth, Karlsruhe
Natriumhydroxid	Merck, Darmstadt
Natriumlaurylsarcosin	Sigma, Deisenhofen
Natriumthiosulfat	Sigma, Deisenhofen
Nonidet P40LKB	Sigma, Deisenhofen
Okadasäure	Calbiochem
Oligolabelling Kit (mit Reagent Mix und Klenow-Polymerase)	Pharmacia, Heidelberg
OptiMem	Gibco/BRL, Eggenstein
Paraffinöl für PCR	Roth, Karlsruhe
p-Cumarsäure	Sigma, Deisenhofen
PDGF -BB	Arbeitskreis Prof. Hoppe
Perchlorsäure	Merck, Darmstadt
Phenol, pH 7,5-8,0	Roth, Karlsruhe

Phenolrot	Sigma, Deisenhofen
PMSF	Sigma, Deisenhofen
p-Nitroanilin	Sigma, Deisenhofen
Polyvinylpyrrolidon	Sigma, Deisenhofen
Protein-A-Sepharose	Pharmacia, Heidelberg
Protein-Marker SDS 7B	Sigma, Deisenhofen
Rotiphorese	Roth, Karlsruhe
RPMI	Sigma, Deisenhofen
Saccharose	Serva, Heidelberg
Salzsäure, 37%	Ferak, Berlin
SDS	Serva, Heidelberg
Sephadex G50	Pharmacia, Heidelberg
Silbernitrat	Sigma, Deisenhofen
Source Q	Pharmacia, Heidelberg
TEMED	Serva, Heidelberg
Thioharnstoff	Sigma, Deisenhofen
Trichloressigsäure	Roth, Karlsruhe
Tricin	Roth, Karlsruhe
Trinatriumcitrat-dihydrat	Merck, Darmstadt
Tris-Puffer	Roth, Karlsruhe
Triton-X100	Serva, Heidelberg
Trypsin-EDTA-Lösung	Gibco/BRL, Eggenstein
Trypton/Pepton	Gibco/BRL, Eggenstein
Wasserstoffperoxid 35% (v/v)	Roth, Karlsruhe
Xylencyanol	Sigma, Deisenhofen

2.9 Geräte

Analog-Digitalwandler	Perkin-Elmer, Langen
Brutschrank für die Zellkultur	Heraeus/Sepatech, Hanau
Crocodil II für PCR	Appligene, Illkirch (F)
Elektrophoreseapparaturen für 2D Gelelektrophorese	Institutswerkstatt
Elektrophoresekammer für Sequenziergele	Institutswerkstatt
Elektrophoresekammern für horizontale Agarosegele	Institutswerkstatt
Elektrophoresekammern für Minigele	Bio-Rad, München
ELISA-Reader	
FACS, Epics Elite ESP	Coulter
Fluoreszenz-Mikroskop Leica <i>DM IRB</i>	Leica
Fluorspektrophotometer Flouromax SPEX	SPEX
Fraktionssammler 203	Gilson/ABIMED, Langenfeld
Gel-Imager Easy 1	Herolab, Wiesloch
Gene-Pulser zur Elektroporation mit Pulse- Controller	Bio-Rad, München
HPLC-Anlage: L6210-Intelligent Pump	Merck/Hitachi, Darmstadt
Hybridisierungsofen Mini 10	Hybaid, Middlesex (UK)
Kühlaggregat HAAKE D1 und G	Fisons, Loughborough (UK)
L4000 UV-Detektor	Merck/Hitachi, Darmstadt
LKB Ultrascan XL	Pharmacia, Heidelberg

Pegasus Semi-Dry Blot	Phase, Lübeck
Phosphor Imager	Molecular Dynamics, Krefeld
Polytron PT100 Ultrathorax	Kinematica, Littau
Rockomat (Schüttler)	Tecnomara, Zürich (CH)
Röntgenfilmentwickler	Konica, Tokio (J)
Schleifeninjektor	LATEK, Heidelberg
Schreiber	LATEK, Heidelberg
Spannungsgerät E752	Consort, Turnhout (B)
Spannungsgerät Phero-stab 500	Biotec-Fischer, Reiskirchen
Speed Vac	Savant (über Bachhofer, Reutlingen)
Sterilbank "Gelaïres"	Flow Laboratories, Meckenheim
Superformance-Säulen (10, 75-5)	Merck, Darmstadt
Superloop	Pharmacia, Heidelberg
Thermal-Cycler Gene-Amp 2400 für PCR	Perkin-Elmer, Langen
Tischzentrifugen	Heraeus/Sepatech, Hanau; Hettich, Tuttlingen
Ultrazentrifuge L8-70M	Beckman, München
UV-Handlampe	Vilbert Lourmat, Marne La Vallee (F)
UV-Spektralphotometer Uvikon 930	Kontron, Eching
UV-Stratalink 1800	Stratagene, Heidelberg
Zentrifuge Megafuge	Heraeus/Sepatech, Hanau

2.10 Sonstiges Verbrauchsmaterial und Membranen

Konika X-Ray Film, "medical"	Konika, Tokio (J)
Nitrozellulose BAS 85	Schleicher & Schuell, Dassel
Nylonmembran Hybond-N	Amersham, Braunschweig
P81-Chromatographiepapier	Whatman, Maidstone (UK)
PCR Purification Kit	Quiagen, Hilden; Macherey & Nagel, Düren
PCR-Reaktionsgefäße (0,2ml)	Perkin-Elmer, Langen; Roth, Karlsruhe
Pipettenspitzen	Greiner, Frickenhausen
Plasmid Purification Kit	Quiagen, Hilden; Macherey & Nagel, Düren
PVDF-Membran	Applied Biosyst. Darmstadt
Reaktionsgefäße (0,5ml)	Hartenstein, Würzburg
Reaktionsgefäße (1,5ml und 2ml)	Eppendorf, Hamburg;
Sterilfilter	Roth, Karlsruhe
Whatman-Papier	Schleicher & Schuell, Dassel
Zellkulturflaschen, -schalen und -platten	Greiner, Frickenhausen
Zentrifugenröhrchen (15ml und 50ml)	Greiner, Frickenhausen

2.11 Radioaktiv markierte Nukleotide

[α - ³² P]-CTP	Hartmann Analytic, Braunschweig
[α - ³² P]-UTP	Hartmann Analytic, Braunschweig

