

2. Material

2.1. Abkürzungen

Abb.	Abbildung	IRS-1/2	Insulin Rezeptor Substrat-1/2
APS	Ammoniumperoxosulfat	Jak	Janus Kinase
AP	Antennapediapeptid	k	kilo (10^3)
BPB	Bromphenolblau	K_D	Dissoziationskonstante
BSA	Rinderserumalbumin	K_i	Hemmkonstante
Ci	Curie	l	Liter
cpm	counts per minute	log	dekadischer Logarithmus
Da	Dalton	LMS	niedermolekularer Grössen- standard
DMSO	Dimethylsulfoxid	M	molar
DNA	Desoxyribonukleinsäure	m	milli (10^{-3})
DTT	Dithiothreitol	mAb	monoklonaler Antikörper
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	MALDI	matrix-assisted laser- desorbtion ionization
EC ₅₀	Konzentration bei halbmaximaler Reaktion	max.	maximal
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure	min	Minuten
ESI	electron spray ionization	m	murin
EtOH	Ethanol	MS	mass spectrometry
FCS	foetales Kälberserum	μ	mikro (10^{-6})
FITC	Fluoresceinisothiocyanat	n	nano (10^{-9})
g	Gramm	NC	Nitrocellulose
γ c	"common" γ -chain	NK-Zellen	natürliche Killerzellen
h	human, menschlich	nPys	3-Nitro-2-Pyridinsulphenyl- Schutzgruppe
HMS	hochmolekularer Grössen- standard	ODx	optische Dichte bei x nm
IC ₅₀	Konzentration, die zu 50 % inhibiert	p	pico (10^{-12})
Ig	Immunglobulin	PAA	Polyacrylamid
Ig E	Immunglobulin E	pAb	polyklonaler Antikörper
Ig G	Immunglobulin G	PAGE	Polyacrylamid-Gelelektro- phorese
IL	Interleukin	PBL	periphere Blutlymphocyten
IL-4R	Interleukin-4 Rezeptor	PBMC	periphere mononukleäre Blutzellen
IP	Immunpräzipitation		

PBS	Phosphat-gepufferte Salzlösung	Stat6-BP	Stat6-bindendes Peptid
		Stat6-CP	Stat6-Kontrollpeptid
PHA	Phytohämagglutinin	Stat6-BP _(mod.)	modifiziertes Stat6-bindendes Peptid
PI3K	Phosphatidylinositol-3-Kinase		
PMSF	Phenylmethansulfonylfluorid	TBS	Tris-gepufferte Salzlösung
pTyr	Phosphotyrosin	TBST	Tris-gepufferte Salzlösung mit Tween-20
QY	murine IL-4 Variante; Q116D/Y119D	TEMED	N,N,N',N'-Tetramethylen-diamin
R	Rezeptor		
RC20	anti-Phosphotyrosin Antikörper	Tris	Tris-(hydroxymethyl)amino-methan
RFP	Kulturmedium (RPMI 1640, FCS, Penicillin, Streptomycin)	U	Units/Einheit der Enzymaktivität
rpm	Umdrehungen pro Minute	UV	Ultraviolett
RT	Raumtemperatur	ü.N.	über Nacht
SDS	Natriumdodecylsulfat	V	Volt
SH2	src-Homologie 2 Domäne	Vol.	Volumen
SH3	src-Homologie 3 Domäne		
Stat	Signalvermittler und Aktivator von Transkription		

2.2. Chemikalien und Enzyme

Chemikalien und Enzyme wurden von den Firmen Alexis, Amersham-Buchler, Biolabs, Biorad, Boehringer, Calbiochem, Difco, Fermentas, Gibco-BRL, Gerbu, Merck, Pharmacia, Roche, Roth, Serva und Sigma in den höchsten Reinheitsstufen bezogen. Alle Lösungen wurden mit deionisiertem Wasser, z.T. in Millipore-Qualität, angesetzt.

2.3. Zelllinien

BA/F3	mIL-3 abhängige murine prä-B-Zelllinie
Caki-1	humane Nierenkarzinomzellen (ATCC#HTB-46)
RAMOS	humane non-Hodgkin B-Zelllinie
HeLa	humanes Cervix-Karzinom
MOLT-4	humane CD4 ⁺ T-Zell Leukämie

2.4. Wachstumsfaktoren

Humanes IL-3 und IL-4 wurde in *E.coli* exprimiert und wie beschrieben gereinigt [35,63,130,131].

Murines IL-4 und die mIL-4 Variante Q116D/Y119D wurden mit Hilfe des Baculo-Systems exprimiert und wie beschrieben gereinigt [132].

Murines IL-3 wurde in Form eines Zellüberstandes von X63Ag 8-653 BPV Zellen gewonnen und eingesetzt [47].

2.5. Antikörper

anti-pTyr 4G10	mAb gegen Phosphotyrosin Klon 4G10 (UBI, Biomol, Echingen)
anti-pTyr RC20	anti-Phosphotyrosin Antikörper Klon RC20 gekoppelt mit Meerrettich-Peroxidase (Affinity, Nottingham, UK)
anti-pTyr-Stat6	polyklonales Serum gegen Phospho-Stat6 (Tyr641) (New England Biolabs, Schwalbach)
anti-Stat6	pAb S-20 (Santa Cruz, Heidelberg)
anti-Stat5	pAb C-17 (Santa Cruz, Heidelberg)

anti-p56 ^{lck}	mAB (Santa Cruz, Heidelberg)
anti-p59 ^{fyn}	mAb (Santa Cruz, Heidelberg)

2.6. Peptide

Peptide wurden HPLC gereinigt von der Firma Interaktiva im Synthesemasstab von 10 mg und einer Reinheit > 80 % bezogen, die korrekte Aminosäurezusammensetzung wurde mit MALDI-MS überprüft.

Vektor-Peptid:

AP H₂N-C(nPys)-R-Q-I-K-I-W-F-Q-N-R-R-M-K-W-K-K-COOH

Cargo-peptide:

Stat6BP H₂N-G-A-S-S-G-E-E-G-Y(PO₃H₂)-K-P-F-Q-D-L-C-COOH

Biotin-Stat6BP Biotin-NH- G-A-S-S-G-E-E-G-Y(PO₃H₂)-K-P-F-Q-D-L-C-COOH

Stat6CP H₂N-G-A-S-S-G-E-E-G-Y-K-P-F-Q-D-L-C-COOH

Stat6BP_(mod.) H₂N-G-A-S-S-G-E-E-G-X-K-P-F-Q-D-L-C-COOH

X = 4-Phosphonomethyl-L-Phenylalanin

2.7. Tiermaterial

Balb/c-Mäuse werden von von der Firma Charles River bezogen.

IL-4R α knockout (IL-4R^{-/-}) Mäuse waren ein freundliches Geschenk von Dr. Frank Brombacher.