

3 Materialien

3.1 Chemikalien

β- Mercaptoethanol	Merck
Bromphenolblau	Merck
CsCl	Gibco-BRL (Invitrogen)
Diethylpyrocarbonat (DEPC)	Sigma
Dimethylsulfoxid (DMSO)	Sigma
2`-Desoxy-Nukleosid-5`-Triphosphat(dNTP) 100mM	Gibco-BRL (Invitrogen)
Essigsäure	Merck
Ethanol	Merck
Ethylendiamintetraessigsäure	Merck
Glucose	Merck
Glycerin	Gibco-BRL (Invitrogen)
Guanidinthiocyanat (GTC)	Gibco-BRL (Invitrogen)
Isopropyl-β-D-thio-Galctopyranosid 100 mM	Sigma
LB-Agar	Gibco-BRL (Invitrogen)
LB-Medium	Gibco-BRL (Invitrogen)
MgCl ₂	Merck
Natrium-Azetat	Sigma
Natrium-Dodecylsulfat	Serva
Natrium-EDTA	Merck
3-N-Morholino-propansulfonsäure (MOPS)	Roth
PCR-Primer	Gibco-BRL (Invitrogen)
Phenol	Amresco
Random Primer 3 µg/µl	Gibco-BRL (Invitrogen)
Salzsäure	Merck
Sarcosyl (N-Laurylsarcosin)	Sigma
Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan	Roth
Triton-X-100	Sigma
X-Gal (5-Brom-4-Chlor-3-Indol-β-D-Galactopyranosid) 50 mg/ml	Promega

3.2 Enzyme

Taq-Polymerase (4 U/ μ l)	(AGS, Heidelberg)
Superscript TM II Reverse Transkriptase (200 U/ μ l)	(Invitrogen)
Eco R1 und Puffer	(Invitrogen)
RNase Inhibitor (40U/ μ l) RNaseOUT TM	(Invitrogen)

3.3 Lösungen

Agarosegel (DNA):	100 ml 1 x TBE 1,0 g Agarose erhitzen, bis Lösung klar ist abkühlen auf ca. 50° C, 1 % Ethidiumbromid zugeben
Bromphenolblau	5 ml Glycerol 4 ml EDTA pH 8,0 (250 mM) 1 ml Tris HCl pH 8,0 (1M) Orangephenolblau
CsCl-Kissen	5,7 M CsCl 100 mM Na-EDTA, pH 6,5 in DEPC-H ₂ O ansetzen und steril filtrieren vor Gebrauch 6 mM β -Mercaptoethanol hinzufügen
GTC-Lösung	4M Guanidinthiocyanat 1% Sarcosyl 25 mM Natrium Acetat, pH 6,0 1 mM Natrium EDTA, pH 6,5 1 M β -Mercaptoethanol steril ansetzen Mercaptoethanol erst vor Gebrauch zusetzen

LB-Agar	37g/l autoklavieren
LB-Medium	25g/l autoklavieren
Loading Buffer für DNA-Gele	50% Glycerin 0,25% Bromphenolblau in 1x TBE-Puffer
SDS-Lösung	100g SDS in 900 ml H ₂ O lösen (68°C) pH 7,2 mit HCl einstellen ad 1l H ₂ O
SOC Medium	2% Tryptone 0,5% Hefe Extrakt 10 mM NaCl 2,5 mM KCl 10 mM MgCl ₂ 10 mM MgSO ₄ 20 mM Glukose
TBE-Puffer (10x):	0,89 M Tris-Base 0,025 M EDTA ad 1l H ₂ O
TE-Puffer:	10 mM Tris pH 7,5 bzw. 8,0 1 mM EDTA
TSPE-Puffer	10 mM Tris-HCl, pH 7,0 1% Sarcosyl 5% Phenol 1 mM Na-EDTA, pH 6,5 in DEPC behandeltem H ₂ O lösen steril filtrieren

3.4 Kits

JETquick Plasmid Mini Prep	(Genomed, Bad Oyenhausen)
Midi Plasmid Kit	(Qiagen, Hilden)
pCR®II – Topo Cloning Kit	(Invitrogen, Groningen, NL)
Thermo Sequenase TM dye terminator cycle sequencing Kit	(Amersham LIFE SCIENCE)

3.5 Grossgeräte

Bakterienschüttler Certomat U/H	Braun, Melsungen
Brutschrank	Memmert GmbH&CoKG, Schwabach
Kühlzentrifuge	Eppendorf, Hamburg
Photometer Beckmann DU 600	Beckmann Coulter, Unterschleißheim
Refrigerated Superspeed Zentrifuge RC-5B	Sorvall, Newtown USA
Ultra-Turrax	IKA-Werke, Staufen
UV-Transilluminator	Schütt, Göttingen
Zentrifuge	Eppendorf, Hamburg