

3. Material und Methoden

3.1 Material

3.1.1 Zell-Linien

- **P3X 63Ag8.653** - Myelomazellen, die keine Antikörper produzieren

(ATCC: American Type Culture Collection)

- **ED** - equine Dermalzellen

(Derivat einer permanenten equinen dermalen Zell-Linie, die in der Institutszellbank geführt wird)

3.1.2 Bakterienstämme, Hefen und Pflanzen

***Escherichia coli* Stämme:**

- **Top 10; Top 10 F⁻; JM 109; XL-10 und LMG 194**

***Agrobacterium tumefaciens* Stamm GV3101**

***Nicotiana tabacum* Stamm L.cv.Petite Havana SR1**

***Pichia pastoris* Stamm GS 115 (Derivat des Wildtyp-Stammes Y-11430)**

3.1.3 Viren

- **VSV** Stamm Indiana Herkunft: Virusbank, Insel Riems

3.1.4 Vektorsysteme

	BCMGsneo Karasuyama, Japan	pcDNA6/V5-His Invitrogen	pGEM-T Easy Promega
Promotor	CMV-Promotor	CMV-Promotor	
Resistenz	Ampicillin Kanamycin/g418	Ampicillin Blasticidin S HCl	Ampicillin
Induktor	–	–	
Modifikation		C-terminal: V5/His	
System	Säugetier	Säugetier	Bakterien
Literatur	Karasuyama, H. et al., 1990		

	pPAMks/pPAMs RWTH Aachen	pPIC9K/H RWTH Aachen	pBAD gIII Invitrogen
Promotor	35 SS-Promotor	AOX1-Promotor	araBAD-Promotor
Resistenz	Ampicillin Kanamycin/g418	Ampicillin Kanamycin/g418	Ampicillin
Induktor	–	Methanol	L-Arabinose
Modifikation		C-terminal: His N-terminal: Signalpeptid	C-terminal: Myc/His N-terminal: Signalpeptid
System	Pflanzen	Hefen	Bakterien
Literatur		Raven, N., 1999	Beier, I., 1999

3.1.5 Synthetische Oligonukleotide

Bestimmung der Primerkonzentration

6 µl Primer + 594 µl H₂O mischen; die OD bei =260 nm bestimmen und in die folgende Formel einsetzen:

$$\frac{\text{OD} \times 100 \times \text{Verdünnungsstufe}}{\text{Nukleotide}} = X [\mu\text{M}]$$