

11. Anhang

Anhang 1 Puffer, Lösungen und Medien

1.1 Agardiffusionsassay zur Messung von Enzymaktivitäten

1.1.1 Bis-Tris-Puffer

Bis-Tris	20 mM
CaCl ₂	10 mM
NaNH ₃	0,02 %
pH 6,8	

1.1.2 Substratagar zur Messung der Xylanaseaktivitäten

1,4- β -Arabinoxylan (Megazyme, Irland)	225 mg
MgCl	30 mg
Gelrite (Roth, Karlsruhe)	4,5 g
BIS/TRIS	ad 450 ml

1.1.3 Substratagar zur Messung der β -Glucanaseaktivitäten

1,3-1,4- β -Glucan (Megazyme, Irland)	225 mg
MgCl	30 mg
Gelrite (Roth, Karlsruhe)	4,5 g
BIS/TRIS	ad 450 ml

1.1.4 Substratagar zur Messung der Lipaseaktivitäten

Tween80 (Roth, Karlsruhe)	4,5 ml
Tween20 (Roth, Karlsruhe)	1,25 ml
CaCl ₂	500 mg
MgCl	30 mg
Gelrite (Roth, Karlsruhe)	4,5 g
BIS/TRIS	ad 450 ml

1.1.5 Substratagar zur Messung der Gallensäurehydrolaseaktivitäten

Hühnergalle (Sigma, Deisenhofen)	5,5 g
MgCl	225 mg
Gelrite (Roth, Karlsruhe)	4,5 g
BIS/TRIS	ad 450 ml

1.2 Medien zur Kultivierung von Mikroorganismen

1.2.1 Flüssigmedium zur Kultivierung von *Enterococcus spp.*

Na ₂ HPO ₄ x 12 H ₂ O	15,2 g	Cellubiose	1 g
KH ₂ PO ₄	3,75 g	NH ₄ Cl	1 g
Tryptose	20 g	NaCl	5 g
Fleischextrakt	5 g	1 mg/ml Häminlösung	10 ml
Pepton aus Fleisch	5 g	2 mg/ml Vit. K1-Lösung	2 ml
Hefeextrakt	5 g	Spurenelementlösung ¹	1 ml
Glucose	2,5 g	Antifoam A	1 ml
Stärke	1 g		

¹Spurenelementlösung:

1 mg/ml FeSO₄ x 7 H₂O

1 mg/ml ZnSO₄ x 7 H₂O

1 mg/ml MnCl₂ x 4 H₂O

pH 7,0, ad 1000 ml mit Aqua bidest., autoklavieren

steril zugeben:

2 mg/ml Thiaminhydrochlorid-Lösung 1 ml

5 mg/ml NAD-Lösung 1 ml

1 M CaCl₂-Lösung 100 µl

4 mg/ml Ca-D-Panhotenat-Lösung 1 ml

0,1 mg/ml D-Biotin-Lösung 12,25 µl

1.2.2 Flüssigmedium zur Kultivierung von *Bifidobacterium spp.*

Caseinpepton, tryptisch verdaut	10 g	Glucose	10 g
Fleischextrakt	5 g	K ₂ HPO ₄	3 g
Hefeextrakt	5 g	Tween 20 (Roth, Karlsruhe)	1 ml

pH 6,8, ad 1000 ml mit Aqua bidest., autoklavieren

steril zugeben:

Cystein-HCl 0,05 %

Na-Ascorbat 1 %

(entspricht Medium 58 der DSMZ, Braunschweig)

1.2.3 MRS-Bouillon zur Kultivierung von *Lactobacillus spp.*

Die Anzucht der Vertreter der *Lactobacillus spp.* erfolgte mittels MRS-Bouillon (Merck-Eurolab, Darmstadt)

1.2.4 Luria-Bertoni (LB)-Bouillon zur Kultivierung von *E.coli*

Trypton	10 g
Hefeextrakt	5 g
NaCl	10 g
pH 7,0, ad 1000 ml mit Aqua bidest., autoklavieren	

Anhang 1.3 Puffer und Lösungen zur Nukleinsäureextraktion**1.3.1 RNase-freies Wasser (0,1 % DMPC)**

Aqua bidest., steril	25 ml
Ethanol, abs.	25 ml
Dimethylpyrocarbonat	5 ml
ad 500 ml mit Aqua bidest., autoklavieren	

1.3.2 Lysepuffer

0,5 M Na ₂ -EDTA	1 ml
PVP	1 g
Lysozym	1 g
Antifoam A	100 µl
ad 50 ml mit 0,1 M TRIS/Cl, pH 7,5	

1.3.3 4 M GITC-Lösung

Guanidinthiocyanat	25 g
CSB-Puffer (60 °C)	33 ml

1.3.4 CSB-Puffer

Na-tri-Citrat	2,46 g
N-Laurylsarcosin	1,66 g
Mercapto-Ethanol	40 µl
0,1 M DTT	200 µl
ad 200 ml mit Aqua bidest. steril filtrieren	

1.3.5 TE-Puffer

TRIS/Cl, pH 8,0	10 mM
Na ₂ -EDTA	1 mM

Anhang 1.4 Puffer und Lösungen zur Hybridisierung

Alle Puffer und Lösungen werden mit DMPC behandeltem und autoklaviertem Aqua bidest. angesetzt.

1.4.1 20 x SSC

NaCl	175,3 g
Na-tri-Citrat	88,2 g
ad 1000 ml, pH 7,0	

1.4.2 2 x SSC, 0,1 % SDS

20 x SSC	100 ml
SDS, 10 %	10 ml
ad 1000 ml	

1.4.3 Hybridisierungspuffer

20 x SSC	250 ml
SDS, 20 %	1 ml
N-Laurylsarcosin, 10 %	10 ml
ad 1000 ml	
unmittelbar vor Gebrauch Zugabe von 0,5 % Blockpuffer	

1.4.4 Maleinsäurepuffer

Maleinsäure	11,6 g
NaCl	8,8 g
ad 1000 ml, pH 7,5	

1.4.5 Waschpuffer

0,3 % Tween20 (Roth, Karlsruhe) in Maleinsäurepuffer

1.4.6 Blockpuffer

10 % Blocking-Reagenz (Boehringer, Mannheim) in Maleinsäurepuffer

1.4.7 AntiDIG-AP Lösung

AntiDIG-AP (Boehringer, Mannheim) 1:10.000 in Blockpuffer

1.4.8 Detektionspuffer

1 M TRIS/Cl	100 ml
NaCl	5,9 g
ad 1000 ml, pH 9,5	

1.4.9 Substratlösung

10 µl/ml CDP-Star (Boehringer, Mannheim) in Detektionspuffer

Anhang 1.5 Basensequenzen der 16S und 23S rRNA-Oligonukleotidsonden

Alle aufgeführten 16S und 23S rRNA-Oligonukleotidsonden sind am 3'-Ende DIG-markiert.

1.5.1 Oligonukleotidsonden zum Nachweis von Bakteriengruppen

Bac-0303-a-A-17	5'-CCA ATG TGG GGG ACC TT-3'
S-*-Chis-0150-a-A-23	5'-TTA TGC GGT ATT AAT CTY ¹ CCT TT-3'
16EI	5'-GAC CAA AGG TAT TAA CTT TAC TCC C-3'
S-G-Enc-038-a-A-18	5'-CTC TAC CTC CAT CAT TCT-3'
S-D-Bact-0338-a-A-18	5'-GCT GCC TCC CGT AGG AGT-3'
S-F-Lact-0770-a-A-24	5'-CAC CGC TAC ACA TGG AGT TCC CAT-3'
S-G-Bif-1432-a-A-21	5'-CGG GTG CTI ² CCC ACT TTC ATG-3'

¹„Wobble-Nukleotid“, paart mit Cytosin und Thymin
²Inusin, paart mit allen Basen

1.5.2 Oligonukleotidsonden zum Nachweis von Vertretern der *Enterococcus* spp.

S-S-Eas-0187-a-A-20	5'-CAA AAT CAT GCG ACT TTG AT-3'
S-S-Eaviraf-0473-a-A-20	5'-GGG ATG AAC ATT CTA CTC TC-3'
S-S-Ecae-0181-a-A-24	5'-CAA AGG CGC CTT TCA TCC ATC TAC-3'
S-S-Eclb-0026-a-A-26	5'-GAA AGA AAG TGC GTT CGA CTT GCA-3' TG-3'
S-S-Efaes-203-a-A-20	5'-TGT TGT TAG CAT TTC GTC TA-3'
S-S-Efaes-1237-b-A-17	5'-TGC ATG ACC TCG CGG TC-3'
S-S-Efaes-0099-c-A-18	5'-TTA TCC CCC TCT GAT GGG-3'
S-S-Efaem-0141-a-A-20	5'-CAC ACA ATC GTA ACA TCC TA-3'
S-S-Ehir-0278-a-A-20	5'-TGT AGC CCA GGT GCA TAA GG-3'
S-S-Ecasflaga-0185-a-A-21	5'-TCT TCC ATG CGG AAA ATA GTG-3'
DB6	5'-CAC ACA ATC GTA ACA TCT TA-3'
DB9	5'-TAG GTG CCA GTC AAA TTT TG-3'
Ecaf19b	5'-CAC GCA GAC GTA ACA TCC-3'
Ega9b	5'-CAC AAC TGT GTA ACA TCC-3'
Eduhi9b	5'-CAC GCA AAC GTA ACA TCC-3'

1.5.3 Oligonukleotidsonden zum Nachweis von Vertretern der *Lactobacillus* spp.

S-S-Lacet-0061-a-A-25	5'-CAA TTA GTT CGG CTC GCT CGA CTT G-3'
S-S-Lacid-2519-a-A-20	5'-CCG TAT CTC TAC GGA TTG CA-3'
S-S-Lamy-0499-a-A-24	5'-TGG TTA CCG TCA AAT AAA GTA CAG-3'
S-S-Lfer-061-a-A-26	5'-GCG ACC AAA ATC AAT CAG GTG CAA GC-3'
S-S-Lgas-0054-a-A-24	5'-GTT TCA TCT GGT GCA AGC ACC AAA-3'
S-S-Lreu-0485-a-A-23	5'-TCA CTG CGT AAC AGT TAC TCT AA-3'

Anhang 1.6 Für die Hybridisierung relevante Angaben zu den Oligonukleotidsonden

1.6.1 Oligonukleotidsonden zum Nachweis von Bakteriengruppen

	bp	AT	GC	GC (%)	T _M °C (2 AT + 4 GC)	HT _{th} (°C)
S-G-Bac-0303-a-A-17	17	7	10	59	54	44
S-*-Chis-0150-a-A-23	23	15	8	35	62	52
16EI	25	15	10	40	70	60
S-G-Enc-038-a-A-18	18	10	8	44	52	42
S-D-Bact-0338-a-A-18	18	6	12	67	60	50
S-F-Lact-0770-a-A-24	24	11	13	54	74	64
S-G-Bif-1432-a-A-21	21	9	12	57	66	56

1.6.2 Oligonukleotidsonden zum Nachweis von Vertretern der *Enterococcus spp.*

	bp	AT	GC	GC (%)	T _M °C (2 AT + 4 GC)	HT _{th} (°C)
S-S-Eas-0187-a-A-20	20	13	7	35	54	44
S-S-Eaviraf-0473-a-A-20	20	11	9	45	58	48
S-S-Ecae-0181-a-A-24	24	13	11	46	70	60
S-S-Eclb-0026-a-A-26	26	13	13	50	78	68
S-S-Efaes-203-a-A-20	20	13	7	35	54	44
S-S-Efaes-1237-b-A-17	17	6	11	64	56	46
S-S-Efaes-0099-c-A-18	18	13	7	35	54	44
S-S-Efaem-0141-a-A-20	20	12	8	40	56	46
S-S-Ehir-0278-a-A-20	20	9	11	55	62	52
S-S-Ecsflaga-0185-a-A-21	21	12	9	43	60	50
DB6	23	12	11	48	68	58
DB9	23	8	15	65	62	52
Ecaf9b	18	8	10	56	56	46
Ega9b	18	10	8	44	52	42
Eduhi9b	18	9	9	50	54	44

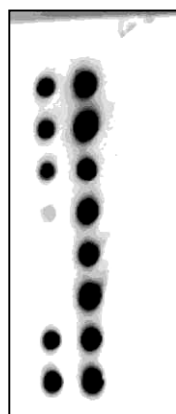
1.6.3 Oligonukleotidsonden zum Nachweis von Vertretern der *Lactobacillus spp.*

	bp	AT	GC	GC (%)	T _M °C (2 AT + 4 GC)	HT _{th} (°C)
S-S-Lacet-0061-a-A-25	25	12	13	52	76	66
S-S-Lacid-2519-a-A-20	20	10	10	50	60	50
S-S-Lamy-0499-a-A-24	24	15	9	38	66	56
S-S-Lfer-061-a-A-26	26	13	13	50	78	68
S-S-Lgas-0054-a-A-24	24	13	11	46	70	60
S-S-Lreu-0485-a-A-23	23	14	9	39	64	54

Anhang 2 Abbildungen zur Validierung/Optimierung der Oligonukleotidsonden

Spezifische Signale sind bei der Belegung der Membran **fett**, unspezifische Signale *kursiv* gedruckt

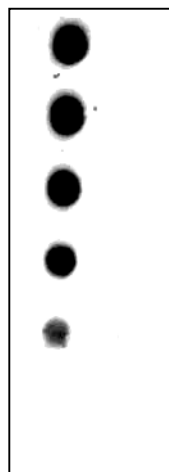
2.1 Überprüfung von 16El auf Spezifität für Vertreter der *E.coli* aus dem Verdauungstrakt von Broilern



Belegung der Membran

E.coli (Boehringer)	10 ng	E.coli Isolat 2 (Broiler)	100 ng
E.coli (Boehringer)	5 ng	E.coli Isolat 2 (Broiler)	50 ng
E.coli (Boehringer)	1 ng	E.coli Isolat 3 (Broiler)	100 ng
E.coli (Boehringer)	0,5 ng	E.coli Isolat 3 (Broiler)	50 ng
frei		E.coli Isolat 4 (Broiler)	100 ng
frei		E.coli Isolat 4 (Broiler)	50 ng
E.coli Isolat 1 (Broiler)	100 ng	E.coli Isolat 5 (Broiler)	100 ng
E.coli Isolat 1 (Broiler)	50 ng	E.coli Isolat 5 (Broiler)	50 ng

2.2 Überprüfung von S-G-Enc-038-a-A-18 auf ihre Spezifität bei Verwendung des in dieser Arbeit verwendeten Hybridisierungspuffers



Belegung der Membran

Enterococcus-Mix ¹	40 ng	Lactobacillus-Mix ²	500 ng
Enterococcus-Mix ¹	30 ng	Lactobacillus-Mix ²	100 ng
Enterococcus-Mix ¹	20 ng	Lactobacillus-Mix ²	50 ng
Enterococcus-Mix ¹	10 ng		
Enterococcus-Mix ¹	5 ng		
frei			
frei			
frei			

¹: Gemisch der Gesamt-RNA aller in der Sammlung des Institutes vorhandenen Vertreter der *Enterococcus spp.* zu gleichen Teilen

²: Gemisch der Gesamt-RNA aller in der Sammlung des Institutes vorhandenen Vertreter der *Lactobacillus spp.* zu gleichen Teilen

2.3 Überprüfung von S*-Chis-0150-a-A-23 auf Spezifität für ein Isolat von *Clostridium spp.* aus dem Verdauungstrakt von Broilern

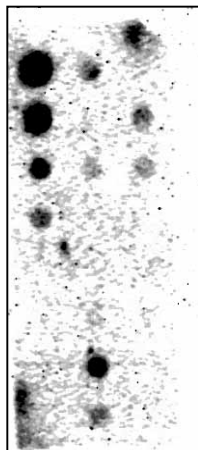


Belegung der Membran

Cl.perfringens-Isolat	100 ng	B.bifidum ¹
Cl.perfringens-Isolat	70 ng	E.coli, Isolat Broiler ¹
Cl.perfringens-Isolat	50 ng	L.acidophilus ¹
Cl.perfringens-Isolat	30 ng	Bacteroides sp., Isolat Broiler ¹
Cl.perfringens-Isolat	20 ng	eubakterieller Mix ¹
Cl.perfringens-Isolat	10 ng	Enterococcus Mix ¹
Cl.perfringens-Isolat	5 ng	frei
Cl.perfringens-Isolat	1 ng	Frei

¹jeweils 100 ng

2.4 Überprüfung von S-S-Eas-0187-a-A-20 auf Spezifität und Sensitivität

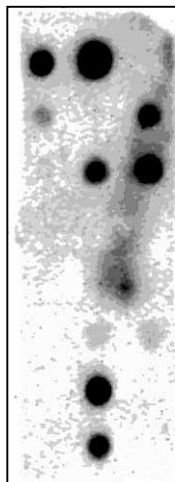


Belegung der Membran

E.asini	100 ng	<i>E.avium</i> ¹	<i>E.gallinarum</i> ¹
E.asini	50 ng	<i>E.casseliflavus</i> ¹	<i>E.hirae</i> ¹
E.asini	10 ng	<i>E.caecorum</i> ¹	<i>E.malodoratus</i> ¹
E.asini	5 ng	<i>E.columbae</i> ¹	<i>E.mundtii</i> ¹
E.asini	1 ng	<i>E.dispar</i> ¹	<i>E.saccharolyticus</i> ¹
frei		<i>E.durans</i> ¹	<i>E.sulfureus</i> ¹
frei		<i>E.faecalis</i> ¹	frei
frei		<i>E.faecium</i> ¹	frei

¹jeweils 100 ng

2.5 Überprüfung von S-S-Eaviraf-0473-a-A-20 auf Spezifität und Sensitivität

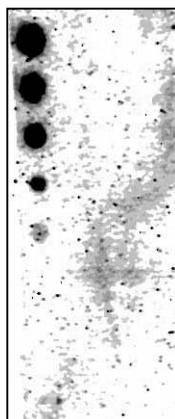


Belegung der Membran

E.avium	100 ng	<i>E.asini</i> ¹	<i>E.gallinarum</i> ¹
E.avium	50 ng	<i>E.casseliflavus</i> ¹	<i>E.hirae</i> ¹
E.avium	10 ng	<i>E.caecorum</i> ¹	<i>E.malodoratus</i> ¹
E.avium	5 ng	<i>E.columbae</i> ¹	<i>E.mundtii</i> ¹
E.avium	1 ng	<i>E.dispar</i> ¹	<i>E.saccharolyticus</i> ¹
frei		<i>E.durans</i> ¹	<i>E.sulfureus</i> ¹
frei		<i>E.faecalis</i> ¹	frei
frei		<i>E.faecium</i> ¹	frei

¹jeweils 100 ng

2.6 Überprüfung von S-S-Ecae-0181-a-A-24 auf Spezifität und Sensitivität

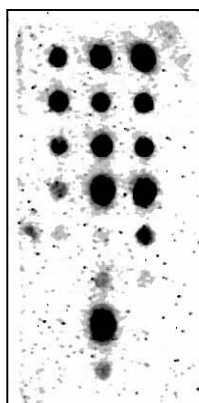


Belegung der Membran

E.caecorum	100 ng	<i>E.asini</i> ¹	<i>E.gallinarum</i> ¹
E.caecorum	50 ng	<i>E.avium</i> ¹	<i>E.hirae</i> ¹
E.caecorum	10 ng	<i>E.casseliflavus</i> ¹	<i>E.malodoratus</i> ¹
E.caecorum	5 ng	<i>E.columbae</i> ¹	<i>E.mundtii</i> ¹
E.caecorum	1 ng	<i>E.dispar</i> ¹	<i>E.saccharolyticus</i> ¹
frei		<i>E.durans</i> ¹	<i>E.sulfureus</i> ¹
frei		<i>E.faecalis</i> ¹	frei
frei		<i>E.faecium</i> ¹	frei

¹jeweils 100 ng

2.7 Überprüfung von S-S-Eclb-0026-a-A-26 auf Spezifität und Sensitivität

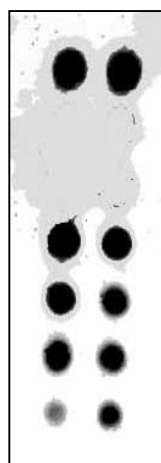


Belegung der Membran

E.columbae	100 ng	<i>E.asini</i> ¹	<i>E.gallinarum</i> ¹
E.columbae	50 ng	<i>E.avium</i> ¹	<i>E.hirae</i> ¹
E.columbae	10 ng	<i>E.caecorum</i> ¹	<i>E.malodoratus</i> ¹
E.columbae	5 ng	<i>E.casseliflavus</i> ¹	<i>E.mundtii</i> ¹
E.columbae	1 ng	<i>E.dispar</i> ¹	<i>E.saccharolyticus</i> ¹
frei		<i>E.durans</i> ¹	<i>E.sulfureus</i> ¹
frei		<i>E.faecalis</i> ¹	frei
frei		<i>E.faecium</i> ¹	frei

¹jeweils 100 ng

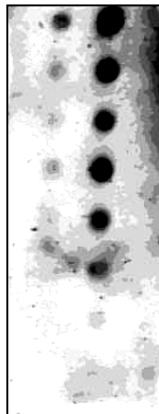
2.8 Überprüfung von S-S-Efaes-203-a-A-20 auf Spezifität und Sensitivität



Belegung der Membran

E.faecalis	100 ng	E.faecium	100 ng
frei		frei	
frei		frei	
frei		frei	
E.faecalis	20 ng	E.faecium	20 ng
E.faecalis	10 ng	E.faecium	10 ng
E.faecalis	5 ng	E.faecium	5 ng
E.faecalis	1 ng	E.faecium	1 ng

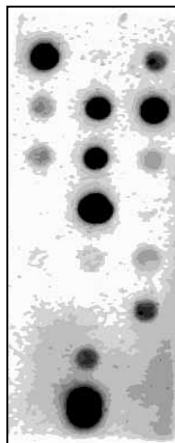
2.9 Überprüfung von S-S-Efaes-1237-b-A-17 auf Spezifität und Sensitivität



Belegung der Membran

E. faecalis	100 ng	E. faecium	100 ng
E. faecalis	50 ng	E. faecium	50 ng
E. faecalis	40 ng	E. faecium	40 ng
E. faecalis	30 ng	E. faecium	30 ng
E. faecalis	20 ng	E. faecium	20 ng
E. faecalis	10 ng	E. faecium	10 ng
E. faecalis	5 ng	E. faecium	5 ng
E. faecalis	1 ng	E. faecium	1 ng

2.10 Überprüfung von S-S-Efaes-0099-c-A-18 auf Spezifität und Sensitivität

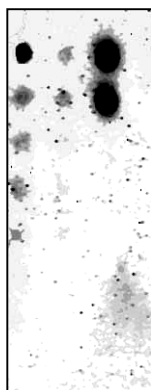


Belegung der Membran

E. faecalis	100 ng	<i>E. asini</i> ¹	<i>E. gallinarum</i> ¹
E. faecalis	50 ng	<i>E. avium</i> ¹	<i>E. hirae</i> ¹
E. faecalis	10 ng	<i>E. caecorum</i> ¹	<i>E. malodoratus</i> ¹
E. faecalis	5 ng	<i>E. casseliflavus</i> ¹	<i>E. mundtii</i> ¹
E. faecalis	1 ng	<i>E. columbae</i> ¹	<i>E. saccharolyticus</i> ¹
frei		<i>E. dispar</i> ¹	<i>E. sulfureus</i> ¹
frei		<i>E. durans</i> ¹	frei
frei		<i>E. faecium</i> ¹	frei

¹jeweils 100 ng

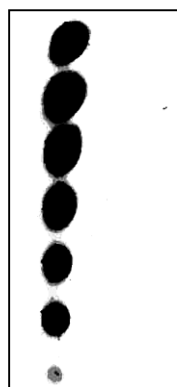
2.11 Überprüfung von S-S-Efaem-0141-a-A-20 auf Spezifität und Sensitivität



Belegung der Membran

E. faecium	100 ng	E. faecalis	100 ng	<i>E. gallinarum</i>	50 ng
E. faecium	50 ng	E. faecalis	50 ng	<i>E. gallinarum</i>	30 ng
E. faecium	40 ng	E. faecalis	40 ng		
E. faecium	30 ng	E. faecalis	30 ng		
E. faecium	20 ng	E. faecalis	20 ng		
E. faecium	10 ng	E. faecalis	10 ng		
E. faecium	5 ng	E. faecalis	5 ng		
E. faecium	1 ng	E. faecalis	1 ng		

2.12 Überprüfung von S-S-Ecsflaga-0185-a-A-21 auf Spezifität und Sensitivität

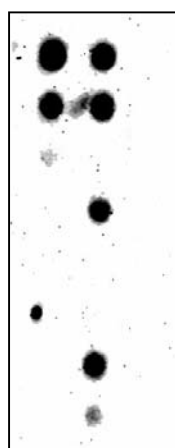


Belegung der Membran

E.gallinarum	50 ng	<i>E.asini</i> ¹	<i>E.faecium</i> ¹
E.gallinarum	40 ng	<i>E.avium</i> ¹	<i>E.hirae</i> ¹
E.gallinarum	30 ng	<i>E.caecorum</i> ¹	<i>E.malodoratus</i> ¹
E.gallinarum	20 ng	<i>E.casseliflavus</i> ¹	<i>E.mundtii</i> ¹
E.gallinarum	10 ng	<i>E.columbae</i> ¹	<i>E.saccharolyticus</i> ¹
E.gallinarum	5 ng	<i>E.dispar</i> ¹	<i>E.sulfureus</i> ¹
E.gallinarum	1 ng	<i>E.durans</i> ¹	frei
E.gallinarum	0,5 ng	<i>E.faecalis</i> ¹	frei

¹jeweils 100 ng

2.13 Überprüfung von S-S-Ehir-0278-a-A-20 auf Spezifität und Sensitivität



Belegung der Membran

E.hirae	100 ng	<i>E.asini</i> ¹	<i>E.faecium</i> ¹
E.hirae	50 ng	<i>E.avium</i> ¹	<i>E.gallinarum</i> ¹
E.hirae	10 ng	<i>E.caecorum</i> ¹	<i>E.malodoratus</i> ¹
E.hirae	5 ng	<i>E.casseliflavus</i> ¹	<i>E.mundtii</i> ¹
E.hirae	1 ng	<i>E.columbae</i> ¹	<i>E.saccharolyticus</i> ¹
		<i>E.dispar</i> ¹	<i>E.sulfureus</i> ¹
		<i>E.durans</i> ¹	frei
		<i>E.faecalis</i> ¹	frei

¹jeweils 100 ng

Anhang 3 Wertetabellen: Extraktion der Gesamt-RNA aus den Digestproben

3.1 Nukleinsäuregehalte und Reinheit (Verhältnis 260:280 nm) der Extrakte der ersten Extraktion (nicht gereinigt)

7. Lebenstag

Probe	Gruppe	Darmabschnitt	260 nm	280 nm	Reinheit	Verdünnung	Gehalt (µg/ml)
1	A	Duodenum	0,132	0,025	1,89	10	52,80
2	A	Jejunum	0,338	0,175	1,69	10	135,20
3	A	Ileum I	0,124	0,042	0,94	10	49,60
4	A	Ileum II	0,138	0,037	0,80	10	55,20
5	A	Caecum	0,185	0,048	3,85	10	74,00
9	B	Duodenum	0,803	0,429	1,87	10	312,20
10	B	Jejunum	0,199	0,086	2,31	10	79,60
11	B	Ileum I	0,270	0,098	1,44	10	108,00
12	B	Ileum II	0,294	0,133	2,21	10	117,60
13	B	Caecum	0,255	0,128	1,99	100	1020,00
17	C	Duodenum	0,391	0,195	2,00	10	156,40
18	C	Jejunum	0,763	0,567	1,34	10	305,20
19	C	Ileum I	0,823	0,504	1,63	10	329,20
20	C	Ileum II	0,460	0,207	2,22	10	184,00
21	C	Caecum	0,219	0,082	2,67	100	876,00
25	A	Duodenum	0,147	0,028	1,85	5	29,40
26	A	Jejunum	0,226	0,115	1,96	10	90,40
27	A	Ileum I	0,578	0,363	1,59	10	231,20
28	A	Ileum II	0,655	0,384	1,70	10	262,00
29	A	Caecum	0,402	0,185	2,17	10	160,08
33	B	Duodenum	0,974	0,552	4,95	10	389,60
34	B	Jejunum	0,509	0,287	1,77	10	203,60
35	B	Ileum I	0,575	0,331	1,73	10	230,00
36	B	Ileum II	0,646	0,322	2,00	10	258,40
37	B	Caecum	1,000	0,499	2,02	10	400,00
41	C	Duodenum	0,115	0,036	3,14	100	460,00
42	C	Jejunum	0,143	0,099	1,44	100	572,00
43	C	Ileum I	0,382	0,235	1,62	10	152,80
44	C	Ileum II	0,108	0,030	3,60	100	432,00
45	C	Caecum	0,152	0,051	2,98	100	608,00
49	A	Duodenum	0,141	0,048	2,93	100	564,00
50	A	Jejunum	0,250	0,105	2,38	10	100,00
51	A	Ileum I	0,821	0,379	2,16	10	328,40
52	A	Ileum II	0,619	0,391	1,58	10	247,60
53	A	Caecum	0,410	0,187	2,19	10	164,00
57	B	Duodenum	0,508	0,344	1,47	10	203,20
58	B	Jejunum	0,247	0,118	1,31	10	96,80
59	B	Ileum I	0,220	0,123	1,78	10	88,00
60	B	Ileum II	0,215	0,109	1,97	10	86,00
61	B	Caecum	0,730	0,374	1,95	10	292,00
65	C	Duodenum	0,725	0,372	1,94	10	290,00
66	C	Jejunum	0,699	0,511	1,36	10	279,60
67	C	Ileum I	0,188	0,101	1,43	10	752,00
68	C	Ileum II	0,479	0,314	1,52	10	191,60
69	C	Caecum	0,284	0,122	2,32	10	1136,00

14. Lebenstag

Proben	Gruppe	Darmabschnitt	260 nm	280 nm	Reinheit	Verdünnung	Gehalt (µg/ml)
73	A	Duodenum	0,101	0,013	7,76	5	20,20
74	A	Jejunum	0,556	0,453	1,22	10	222,40
75	A	Ileum I	0,679	0,475	1,42	10	271,60
76	A	Ileum II	0,615	0,460	0,61	10	246,00
77	A	Caecum	0,108	0,037	2,91	100	432,00
81	B	Duodenum	0,262	0,148	1,77	100	1048,00
82	B	Jejunum	0,402	0,275	1,46	10	160,80
83	B	Ileum I	0,416	0,251	1,65	10	166,40
84	B	Ileum II	0,967	0,703	1,37	10	386,80
85	B	Caecum	0,598	0,303	1,97	100	2392,00
89	C	Duodenum	0,123	0	X	5	24,60
90	C	Jejunum	0,810	0,516	1,56	10	324,00
91	C	Ileum I	0,865	0,705	1,22	10	346,00
92	C	Ileum II	0,278	0,263	1,05	100	1112,00
93	C	Caecum	0,121	0,022	5,50	100	484,00
97	A	Duodenum	0,146	0,072	2,02	10	58,40
98	A	Jejunum	0,548	0,369	1,48	10	233,60
99	A	Ileum I	0,410	0,324	1,26	10	164,00
100	A	Ileum II	0,167	0,111	1,50	10	66,80
101	A	Caecum	0,816	0,455	1,83	10	326,40
105	B	Duodenum	0,648	0,396	1,63	10	259,20
106	B	Jejunum	0,102	0,015	6,80	10	40,80
107	B	Ileum I	0,167	0,076	2,20	10	66,80
108	B	Ileum II	0,143	0,036	3,97	10	57,20
109	B	Caecum	0,189	0,087	2,17	100	756,00
113	C	Duodenum	0,104	0	X	10	41,60
114	C	Jejunum	0,147	0	X	10	58,80
115	C	Ileum I	0,140	0	X	10	56,00
116	C	Ileum II	0,324	0,195	1,66	10	129,60
117	C	Caecum	0,483	0,285	1,69	10	193,20
121	A	Duodenum	0,205	0,090	2,77	10	82,00
122	A	Jejunum	0,119	0	X	10	46,70
123	A	Ileum I	0	0	X	X	0
123	A	Ileum I	0,107	0,081	1,32	100	428,00
124	A	Ileum II	0,160	0	X	10	64,00
125	A	Caecum	0,452	0,229	1,97	10	180,80
129	B	Duodenum	0,270	0	X	10	108,00
130	B	Jejunum	0,230	0,146	1,57	10	92,00
131	B	Ileum I	0,272	0,179	1,51	10	108,80
132	B	Ileum II	0,380	0,206	1,84	10	152,00
133	B	Caecum	0,242	0,122	1,98	100	968,00
137	C	Duodenum	0,116	0	X	10	46,40
138	C	Jejunum	0,380	0,225	1,68	10	152,00
139	C	Ileum I	0,505	0,338	1,49	10	202,00
140	C	Ileum II	0,344	0,215	1,60	10	137,60
141	C	Caecum	0,154	0,100	1,54	10	61,60

21. Lebenstag

Proben	Gruppe	Darmabschnitt	260 nm	280 nm	Reinheit	Verdünnung	Gehalt (µg/ml)
145	A	Duodenum	0,555	0,304	1,82	10	222,00
146	A	Jejunum	0,120	0	X	10	48,00
147	A	Ileum I	0,107	0	X	10	42,80
148	A	Ileum II	0,145	0	X	10	58,00
149	A	Caecum	0,622	0,440	1,41	10	248,80
153	B	Duodenum	0,237	0,105	2,25	10	94,80
154	B	Jejunum	0,371	0,237	1,56	10	148,40
155	B	Ileum I	0,112	0	X	10	44,80
156	B	Ileum II	0,128	0	X	10	51,20
157	B	Caecum	0,577	0,522	1,10	10	230,80
161	C	Duodenum	0,254	0	X	10	101,60
162	C	Jejunum	0,300	0,222	1,35	10	120,00
163	C	Ileum I	0,4789	0,332	1,44	10	191,20
164	C	Ileum II	0,355	0,221	1,51	10	134,00
165	C	Caecum	0,113	0,070	1,61	100	4520,00
169	A	Duodenum	0,503	0,273	1,84	10	201,20
170	A	Jejunum	0,140	0	X	10	56,00
171	A	Ileum I	0,240	0,144	1,66	10	96,00
172	A	Ileum II	0	0	0	X	0
173	A	Caecum	0,109	0	X	10	43,60
177	B	Duodenum	0,667	0,483	1,38	10	266,80
178	B	Jejunum	0,165	0,093	1,77	10	66,00
179	B	Ileum I	0,404	0,299	1,35	10	161,60
180	B	Ileum II	0,500	0,371	1,34	10	200,00
181	B	Caecum	0,700	0,415	1,68	100	2800,00
185	C	Duodenum	0,272	0,105	2,59	10	108,80
186	C	Jejunum	0,502	0,328	1,52	10	200,00
187	C	Ileum I	0,638	0,494	1,29	10	255,20
188	C	Ileum II	0,157	0,108	1,45	10	62,80
189	C	Caecum	0,101	0	X	100	404,00
193	A	Duodenum	0,315	0	X	10	126,00
194	A	Jejunum	0,244	0,194	1,28	100	976,00
195	A	Ileum I	0,197	0,146	1,34	100	788,00
196	A	Ileum II	0,361	0,227	1,59	10	144,40
197	A	Caecum	0,519	0,312	1,66	10	207,60
201	B	Duodenum	0,295	0	X	10	118,00
202	B	Jejunum	0,548	0,500	1,09	10	219,20
203	B	Ileum I	0,461	0,310	1,48	10	184,40
204	B	Ileum II	0,142	0,099	1,43	100	568,00
205	B	Caecum	0,951	0,495	1,92	100	3804,00
209	C	Duodenum	0,211	0	X	10	84,40
210	C	Jejunum	0,115	0	X	10	46,00
211	C	Ileum I	0,285	0,119	2,39	10	114,00
212	C	Ileum II	0,523	0,393	1,33	10	209,20
213	C	Caecum	0,256	0,156	1,64	10	102,40

28. Lebenstag

Proben	Gruppe	Darmabschnitt	260 nm	280 nm	Reinheit	Verdünnung	Gehalt (µg/ml)
217	A	Duodenum	0,245	0,110	2,22	5	49,00
218	A	Jejunum	0,124	0	X	5	24,80
219	A	Ileum I	0,800	0,518	1,55	5	160,00
220	A	Ileum II	0,105	0	X	5	21,00
221	A	Caecum	0,568	0,326	1,74	100	2272,00
225	B	Duodenum	0,573	0,313	1,83	10	229,20
226	B	Jejunum	0,454	0,284	1,59	10	181,60
227	B	Ileum I	0,322	0,203	1,58	10	128,80
228	B	Ileum II	0,265	0,163	1,62	10	106,00
229	B	Caecum	0,195	0,087	2,24	100	780,00
233	C	Duodenum	0,305	0,120	2,54	10	122,00
234	C	Jejunum	0,190	0,129	1,47	10	76,00
235	C	Ileum I	0,141	0	X	10	56,40
236	C	Ileum II	0,560	0,429	1,30	10	224,00
237	C	Caecum	0,101	0	X	100	404,00
241	A	Duodenum	0,138	0	X	5	27,60
242	A	Jejunum	0,202	0,143	1,41	100	808,80
243	A	Ileum I	0,129	0	X	5	25,80
244	A	Ileum II	0,502	0,306	1,64	5	100,40
245	A	Caecum	0,134	0,082	1,63	100	5360,00
249	B	Duodenum	0,813	0,397	2,04	10	325,20
250	B	Jejunum	0,198	0	X	10	79,20
251	B	Ileum I	0,228	0,098	2,32	10	91,20
252	B	Ileum II	0,219	0,121	1,80	10	87,60
253	B	Caecum	0,170	0	X	100	680,00
257	C	Duodenum	0,448	0,183	2,44	10	179,20
258	C	Jejunum	0,268	0,111	2,41	10	107,20
259	C	Ileum I	0,420	0,209	2,00	10	168,00
260	C	Ileum II	0,434	0,323	1,34	10	173,60
261	C	Caecum	0,192	0,112	1,71	100	7680,00
265	A	Duodenum	0,155	0,103	1,50	10	62,00
266	A	Jejunum	0,154	0,114	1,35	100	616,00
267	A	Ileum I	0,150	0,097	1,56	100	600,00
268	A	Ileum II	0,163	0	X	5	32,60
269	A	Caecum	0,676	0,432	1,62	100	2704,00
273	B	Duodenum	0,885	0,546	1,62	100	3540,00
274	B	Jejunum	0,469	0,331	1,41	10	186,70
275	B	Ileum I	0,321	0,162	1,98	10	128,40
276	B	Ileum II	0,251	0,137	1,83	10	100,40
277	B	Caecum	0,520	0,290	1,79	100	2080,00
281	C	Duodenum	0,132	0	X	10	52,80
282	C	Jejunum	0,237	0,129	1,83	10	94,80
283	C	Ileum I	0,180	0,105	1,71	10	72,00
284	C	Ileum II	0,351	0,183	1,91	10	120,40
285	C	Caecum	0,094	0,065	1,60	100	3760,00

3.2 Nukleinsäuregehalte und Reinheit (Verhältnis 260:280 nm) der Extrakte der zweiten Extraktion

14. Lebenstag

Probe	Gruppe	Darmabschnitt	260 nm	280 nm	Reinheit	Verdünnung	Gehalt (µg/ml)
74	A	Jejunum	0,346	0,220	1,57	10	138,40
75	A	Ileum I	0,617	0,359	1,71	10	246,80
76	A	Ileum II	0,654	0,385	1,69	10	261,60
82	B	Jejunum	0,178	0,123	1,44	10	71,20
83	B	Ileum I	0,310	0,214	1,44	10	124,00
84	B	Ileum II	0,661	0,392	1,68	10	264,40
90	C	Jejunum	0,353	0,250	1,41	10	141,20
91	C	Ileum I	0,327	0,222	1,47	10	130,80
92	C	Ileum II	0,861	0,518	1,66	10	344,40
98	A	Jejunum	0,357	0,214	1,66	10	142,80
99	A	Ileum I	0,988	0,557	1,77	10	395,20
100	A	Ileum II	0,948	0,579	1,63	10	379,20
106	B	Jejunum	0,240	0,162	1,48	10	96,00
107	B	Ileum I	0,298	0,189	1,52	10	115,60
108	B	Ileum II	0,605	0,380	1,56	10	242,00
114	C	Jejunum	0,231	0,159	1,45	10	92,40
115	C	Ileum I	0,228	0,161	1,41	10	91,20
116	C	Ileum II	0,584	0,379	1,55	10	233,60
122	A	Jejunum	0,473	0,270	1,75	10	189,20
123	A	Ileum I	0,875	0,486	1,80	10	350,00
124	A	Ileum II	0,961	0,536	1,79	10	384,40
130	B	Jejunum	0,222	0,154	1,44	10	88,80
131	B	Ileum I	0,565	0,361	1,56	10	226,00
132	B	Ileum II	0,501	0,317	1,58	10	200,40
138	C	Jejunum	0,168	0,129	1,30	10	67,20
139	C	Ileum I	0,236	0,143	1,65	10	94,40
140	C	Ileum II	0,340	0,206	1,63	10	137,00

21. Lebenstag

Probe	Gruppe	Darmabschnitt	260 nm	280 nm	Reinheit	Verdünnung	Gehalt (µg/ml)
146	A	Jejunum	0,542	0,314	1,72	10	216,80
147	A	Ileum I	0,976	0,560	1,74	10	390,40
148	A	Ileum II	0,684	0,390	1,75	10	273,60
154	B	Jejunum	0,204	0,134	1,52	10	81,60
155	B	Ileum I	0,825	0,436	1,89	10	330,00
156	B	Ileum II	0,724	0,378	1,91	10	289,60
162	C	Jejunum	0,794	0,585	1,35	10	317,60
163	C	Ileum I	0,551	0,389	1,41	10	220,40
164	C	Ileum II	0,631	0,353	1,78	10	252,40
170	A	Jejunum	0,497	0,321	1,54	10	198,80
171	A	Ileum I	0,772	0,478	1,61	10	308,80
172	A	Ileum II	0,115	0,059	1,94	10	460,00
178	B	Jejunum	0,152	0,103	1,47	10	60,80
179	B	Ileum I	0,285	0,185	1,54	10	114,00
180	B	Ileum II	0,392	0,258	1,51	10	156,80
186	C	Jejunum	0,308	0,215	1,43	10	123,20
187	C	Ileum I	0,745	0,474	1,57	10	298,00
188	C	Ileum II	0,892	0,533	1,67	10	356,80

Probe	Gruppe	Darmabschnitt	260 nm	280 nm	Reinheit	Verdünnung	Gehalt (µg/ml)
194	A	Jejunum	0,146	0,087	1,67	10	584,00
195	A	Ileum I	fehlt	X	X	X	
196	A	Ileum II	1,000	0,582	1,71	10	400,00
202	B	Jejunum	0,194	0,149	1,30	10	77,60
203	B	Ileum I	0,336	0,223	1,50	10	134,40
204	B	Ileum II	0,099	0,060	1,65	10	396,00
210	C	Jejunum	0,404	0,253	1,57	10	161,60
211	C	Ileum I	0,450	0,283	1,59	10	162,00
212	C	Ileum II	0,885	0,532	1,66	10	354,00

28. Lebenstag

Probe	Gruppe	Darmabschnitt	260 nm	280 nm	Reinheit	Verdünnung	Gehalt (µg/ml)
218	A	Jejunum	0,873	0,488	1,78	10	349,20
219	A	Ileum I	0,132	0,075	1,76	10	528,00
220	A	Ileum II	0,179	0,105	1,70	10	716,00
226	B	Jejunum	0,374	0,222	1,68	10	149,20
227	B	Ileum I	0,460	0,276	1,66	10	184,00
228	B	Ileum II	0,314	0,192	1,63	10	125,60
234	C	Jejunum	fehlt	X	X	X	
235	C	Ileum I	0,874	0,560	1,56	10	349,60
236	C	Ileum II	0,835	0,505	1,65	10	334,00
242	A	Jejunum	0,262	0,150	1,74	10	104,80
243	A	Ileum I	0,692	0,386	1,79	10	276,80
244	A	Ileum II	0,122	0,074	1,64	10	488,00
250	B	Jejunum	0,207	0,154	1,34	10	82,80
251	B	Ileum I	0,167	0,109	1,53	10	66,80
252	B	Ileum II	0,736	0,425	1,73	10	294,40
258	C	Jejunum	0,324	0,208	1,55	10	129,60
259	C	Ileum I	0,639	0,405	1,57	10	255,60
260	C	Ileum II	0,108	0,060	1,80	10	432,00
266	A	Jejunum	0,693	0,417	1,66	10	277,20
267	A	Ileum I	0,747	0,449	1,66	10	298,80
268	A	Ileum II	0,202	0,117	1,72	10	808,00
274	B	Jejunum	0,155	0,128	1,21	10	62,00
275	B	Ileum I	0,296	0,188	1,57	10	118,40
276	B	Ileum II	0,297	0,187	1,58	10	118,80
282	C	Jejunum	0,199	0,169	1,17	10	79,60
283	C	Ileum I	0,325	0,222	1,46	10	130,00
284	C	Ileum II	0,604	0,374	1,61	10	241,60

Anhang 4 Abbildungen der Hybridisierungen der Proben-RNA mit Oligonukleotidsonden

Durch die Überführung der Abbildungen in ein für die Textverarbeitung gebräuchliches Dateiformat hat die Bildqualität deutlich gelitten.

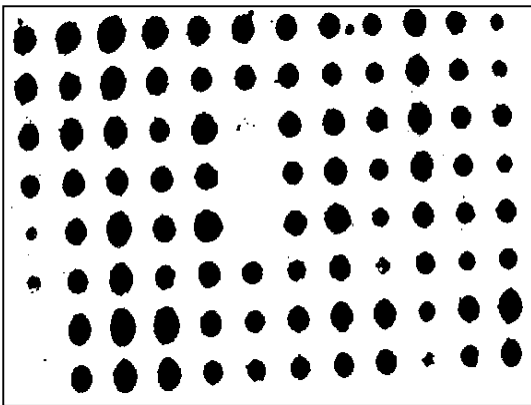
In der entsprechenden Bearbeitungs-Software (PCBAS, Raytest, Straubenhardt) war eine eindeutige Differenzierung der Signale möglich.

Auch waren Signale auswertbar, welche in den hier dargestellten Abbildungen nicht oder nur sehr schwer zu erkennen sind.

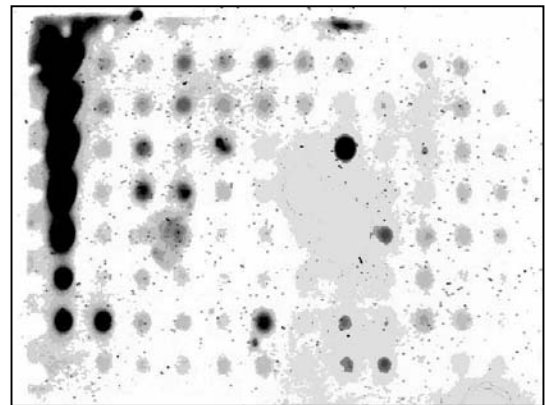
Belegung der Membranen bei der Hybridisierung der Proben-RNA mit Oligonukleotidsonden (Belegung der Referenzreihe ist aus Tabelle 24 in Kapitel 5.7 ersichtlich, die Probenkodierung aus Anhang 3.2)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Referenz	¹	74	124	131	138	172	180	187	242	228	235
B	Referenz	¹	75	82	132	139	194	202	188	243	250	236
C	Referenz	¹	76	83	90	140	196	203	210	244	251	258
D	Referenz	¹	98	84	91	146	154	204	211	266	252	259
E	Referenz	¹	99	106	92	147	155	162	212	267	274	260
F	Referenz	¹	100	107	114	148	156	163	218	268	275	282
G	Referenz	¹	122	108	115	170	178	164	219	226	276	283
H	Referenz	¹	123	130	116	171	179	186	220	227	X	284

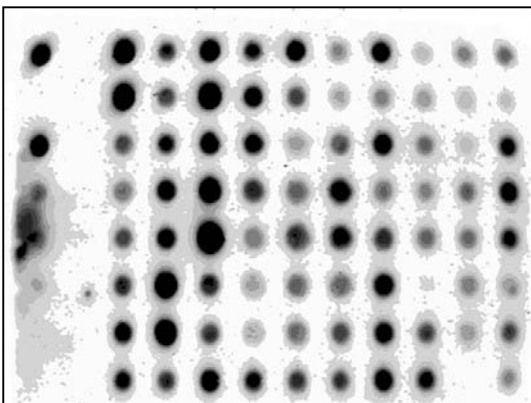
¹: leer oder weitere Referenzen



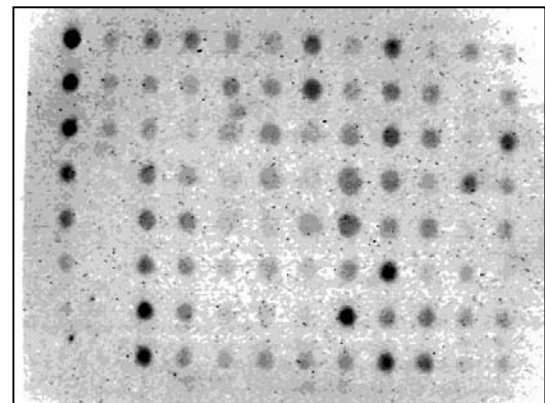
S-D-Bact-0338-a-A-18



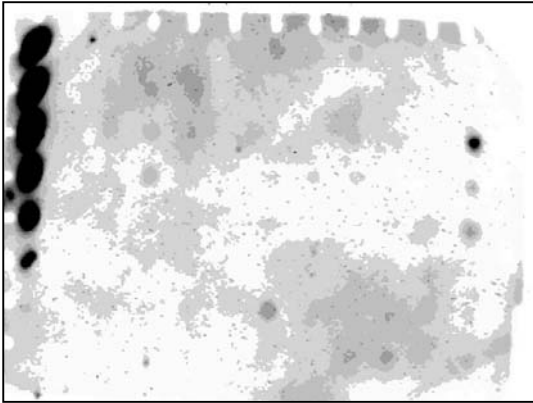
16E1



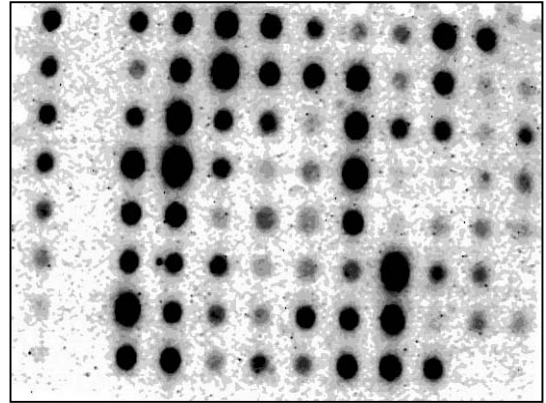
S-G-Enc-038-a-A-18



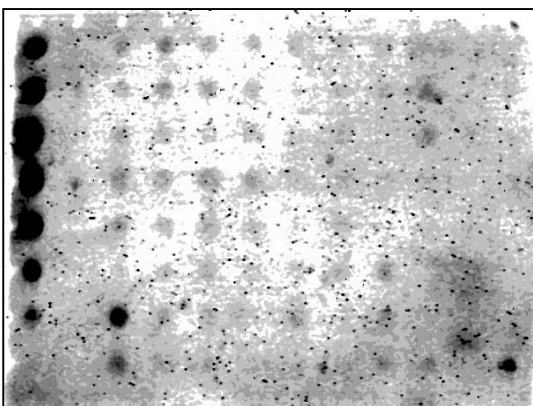
S-F-Lact-0770-a-A-24



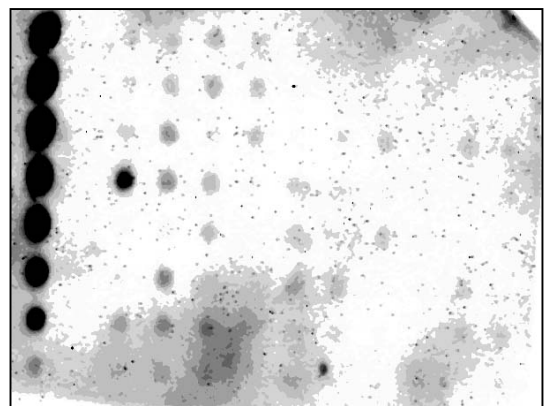
S-S-Efaes-1237-b-A-17



S-S-Lreu-0485-a-A-23



S-S-Lgas-0054-a-A-24



S-S-Lfer-061-a-A-26