

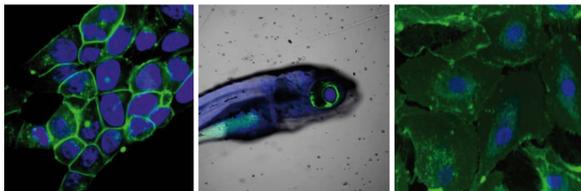


Judith Seltenreich (Autor)

In vivo Markierung von Glykostrukturen mit Hilfe neuartiger, bioorthogonaler Azid-Alkin 1,3-dipolarer Cycloadditionen

In vivo Markierung von
Glykostrukturen mit Hilfe neuartiger,
bioorthogonaler Azid-Alkin
1,3-dipolarer Cycloadditionen

Judith Seltenreich



<https://cuvillier.de/de/shop/publications/6744>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen,
Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: info@cuvillier.de, Website: <https://cuvillier.de>



Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung.....	1
2	Einleitung	3
2.1	Die Glykokalyx.....	4
2.2	Die endotheliale Glykokalyx	6
2.3	Zusammensetzung der Glykokalyx.....	7
2.3.1	Glykoproteine.....	7
2.3.1.2	O- Glykane.....	10
2.3.2	Proteoglykane	12
2.3.3	Glykolipide	14
2.4	Die Charakterisierung der Glykanstrukturen auf der Zelloberfläche	16
2.4.1	Darstellungsmethoden der Glykokalyx.....	16
2.4.2	Metabolisierung von unnatürlichen Monosacchariden	16
2.4.3	Click-Chemie.....	23
3	Ziel der Arbeit.....	31
4	Ergebnisse und Diskussion.....	33
4.1	Labelling von Glykostrukturen in diversen Zelllinien	33
4.1.1	Cu-freie Click-Reaktion (SPAAC) mit ClickFITC und ClickCy5	33
4.1.2	Hochdurchsatzverfahren zur Quantifizierung von Glykostrukturen auf der Zellmembran	49
4.2	Markierung von Glykan-gebundenen Sialinsäuren mit Hilfe der SPAAC.....	51
4.3	Intramolekulare CuAAC mit Cu(I)-Komplexen aus Emittermaterialien von organischen Leuchtdioden (OLEDs).....	62
4.3.1	Toxikologische Untersuchungen zur intramolekular-katalysierten CuAAC	71
4.3.2	Intramolekular-katalysierte CuAAC im Zebrafischmodell	72
4.3.3	PyrPHOS-Cu(I)-Komplexe mit heteroleptischen organischen Liganden	78
4.4	Neue Cu-basierte Fluoreszenzfarbstoffe aus Emittermaterialien von OLEDs.....	82
5	Experimenteller Teil	87
5.1	Zellkultur	87
5.1.1	Tumor- und Primärzelllinien	87
5.1.2	Kryokonservierung von Zelllinien	87



5.1.3	Verwendung von BG Matrigel™ bei SHSY5Y Zellen	88
5.2	Cu-freie Click-Reaktion mit ClickFITC- bzw. ClickCy5.....	88
5.3	Cu-katalysierte Click-Reaktion mit PyrPHOS-Cu(I)-Komplex	89
5.4	FACS Analyse	89
5.5	Zellkernfärbung mit Hoechst 33342.....	90
5.6	Fixierung der Zellen mit Paraformaldehyd.....	90
5.7	MTT-Test.....	90
5.8	Statistische Auswertung	91
5.8.1	MTT Test.....	91
5.8.2	Hochdurchsatzverfahren.....	91
5.9	Behandlung der Zebrafisch Embryonen	92
5.9.1	Gewinnung der Zebrafisch Embryonen.....	92
5.9.2	Haltung der Eier	92
5.9.3	Start der Zucker- und Click-Injektion.....	92
5.9.4	Unterdrückung der Pigmentierung und Narkotisierung	93
5.9.5	Dechorionieren mit Pronase und Entdottern	94
5.9.6	Fixierung, Permeabilisierung und Färbung von Zebrafischembryonen .	94
5.9.7	Einbettung der fixierten Embryonen.....	95
5.9.8	Fixierung mit Methanol als Alternative zur PFA-Fixierung	96
5.10	Western-Blot als Nachweis der neuronalen Zelladhäsionsmoleküle	96
5.10.1	Probeaufbereitung und Verdau	96
5.10.2	Gießen des Gels	96
5.10.3	Vorbereiten des Gel-Gießstandes.....	97
5.10.4	Gießen des Trenngels	97
5.10.5	Gießen des Sammelgels.....	97
5.10.6	Probenaufbereitung und Gelelektrophorese	97
5.10.7	Semi-Dry Blot.....	98
5.11	Immunnachweis.....	98
5.12	Synthese von <i>N</i> -Acetyl-4-azido-4-desoxy-(1,3,6- <i>O</i> -acetyl)-mannosamin (Ac ₃ -4-Azido-ManNAc)	99
5.13	Metabolischer Einbau von Azidozuckern, Click-Reaktion und Analyse des Glykaneinbaus in Glykoproteine	101
6	Materialverzeichnis	103
6.1	Zelllinien	103
6.2	Zellmedien	104



6.3	Versuchstiere	106
6.4	Verbrauchsmaterialien.....	106
6.5	Analytik.....	108
6.6	Chemikalien und Reagenzien.....	109
7	Abkürzungsverzeichnis	113
8	Literaturverzeichnis	119
9	Lebenslauf	129
10	Danksagungen.....	133