



Julia Graf (Autor)

# Synthese von fluoreszierenden Calcium-Sensoren und Biomolekülen zur Untersuchung physiologischer Prozesse

Julia Graf

Synthese von fluoreszierenden Calcium-Sensoren und Biomolekülen zur Untersuchung physiologischer Prozesse

C1=CC=C(C=C1)OC(=O)N(C(=O)O)C(=O)O + Ca2+ → C1=CC=C(C=C1)OC(=O)N(C(=O)O)C(=O)O + Ca2+

Cuvillier Verlag Göttingen  
Internationaler wissenschaftlicher Fachverlag

<https://cuvillier.de/de/shop/publications/7571>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen, Germany  
Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: [info@cuvillier.de](mailto:info@cuvillier.de), Website: <https://cuvillier.de>



# Inhaltsverzeichnis

<b>Einleitung und Motivation</b> .....	<b>1</b>
<b>1 Synthese fluoreszierender Calcium-Sensoren</b> .....	<b>3</b>
1.1 Einleitung.....	3
1.2 Die Bedeutung von intrazellulärem Calcium .....	4
1.2.1 $\text{Ca}^{2+}$ -bindende Proteine .....	6
1.3 Fluoreszierende Calcium-Sensoren.....	8
1.3.1 BAPTA als Calcium Chelator .....	11
1.3.2 Funktionsweise nicht-ratiometrischer Calcium-Sensoren.....	13
1.3.3 Calcium-Affinität nicht-ratiometrischer Calcium-Sensoren .....	14
1.4 Kriterien und Designstrategien neuer Calcium-Sensoren.....	16
1.5 Synthese der BAPTA-Derivate .....	19
1.5.1 Synthese des BAPTA-Derivats 10.....	19
1.5.2 Synthese des neuen BAPTA-Derivats 11.....	22
1.6 Auf Fluorescein basierte Calcium-Sensoren .....	25
1.6.1 Calcium-Sensor <i>Fluo-4</i> .....	25
1.6.2 Synthese der neuen Calcium-Sensoren .....	27
1.6.3 $\text{Ca}^{2+}$ -abhängige Fluoreszenzmessungen .....	30
1.6.4 Calcium-Selektivität der Sensoren .....	35
1.6.5 Vergleich der neuen Calcium-Sensoren.....	38
1.7 Auf Rhodamin-basierte Calcium-Sensoren .....	39
1.7.1 Einleitung .....	39
1.7.2 Synthese der modifizierten Rot-emittierenden Sensoren .....	40
1.7.3 Spektroskopische Untersuchungen .....	43
1.7.4 Calcium-Selektivität .....	48
1.8 Einschleusen in die Zellen als Acetoxymethyl-Ester .....	50
1.9 Calcium-Sensor-Konjugate .....	52
1.9.1 Einleitung .....	52
1.9.2 PEGylierung der neuen Calcium-Sensoren .....	54
1.9.3 Anwendung in olfaktorischen Zellen .....	60



1.9.4	Kombination eines rot und grün fluoreszierenden Sensors am PEG .....	62
1.10	Schlussfolgerung und Ausblick.....	68
<b>2</b>	<b>Synthese von Fluorophor-markiertem Arginin .....</b>	<b>71</b>
2.1	Einleitung und Zielsetzung.....	71
2.2	Design und Synthese .....	73
2.3	Erste Untersuchungen an olfaktorischen Zellen .....	76
2.4	Schlussfolgerung und Ausblick .....	78
<b>3</b>	<b>Synthese von Fluorophor-markierter Saccharose .....</b>	<b>79</b>
3.1	Einleitung und Zielsetzung.....	79
3.2	Der synaptische Vesikelzyklus .....	80
3.3	Kriterien und Designstrategien.....	81
3.4	Synthese .....	84
3.5	Schlussfolgerung und Ausblick .....	89
<b>4</b>	<b>SNARE-Protein-Analoga mit modifizierten PNA-Erkennungseinheiten .....</b>	<b>91</b>
4.1	Einleitung und Zielsetzung.....	91
4.2	SNARE-Proteine – Vermittler der Membranfusion .....	92
4.2.1	Struktur des SNARE-Komplexes .....	93
4.2.2	Mechanismus der Membranfusion .....	94
4.3	Photolabile Schutzgruppen .....	97
4.4	Design der SNARE-Protein Analoga .....	98
4.5	Synthese modifizierter PNA-Derivate.....	101
4.6	Schlussfolgerung und Ausblick .....	105
<b>5</b>	<b>Experimenteller Teil .....</b>	<b>107</b>
5.1	Materialien und Methoden .....	107
5.2	Spektroskopische Methoden.....	109
5.2.1	Fluoreszenzspektroskopie .....	109
5.2.2	UV/vis-Spektroskopie .....	111
5.3	Bestimmung der $K_D$ -Werte .....	112
5.4	Charakterisierung .....	112
5.5	Festphasenpeptidsynthese.....	113
5.5.1	Manuelle Festphasenpeptidsynthese von Peptid/PNA-Konjugaten .....	113
5.5.2	Abspaltung vom Wang-Harz.....	114
5.6	Synthesen .....	115
5.6.1	Synthese von BAPTA-Derivat 10 <sup>[84,85]</sup> .....	115
5.6.2	Synthese von BAPTA-Derivat 11 .....	124
5.6.3	Fluorescein-basierte Calcium-Sensoren.....	131



5.6.4	Rhodamin-basierte Calcium-Sensoren .....	139
5.6.5	PEGylierung der Calcium-Sensoren .....	145
5.6.6	Fluorophor-markiertes Arginin .....	149
5.6.7	Fluorophor-markierte Saccharose .....	157
5.6.8	Synthese von modifizierten PNA und PNA/TMD-Hybriden.....	164
<b>Abkürzungsverzeichnis.....</b>		<b>171</b>
<b>Literaturverzeichnis .....</b>		<b>177</b>
<b>Danksagung .....</b>		<b>189</b>