



Julia Graf (Autor)

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



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

Copyright:

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

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



Inhaltsverzeichnis

Einleitung und Motivation	1
1 Synthese fluoreszierender Calcium-Sensoren	3
1.1 Einleitung.....	3
1.2 Die Bedeutung von intrazellulärem Calcium	4
1.2.1 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 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
2	Synthese von Fluorophor-markiertem Arginin	71
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
3	Synthese von Fluorophor-markierter Saccharose	79
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
4	SNARE-Protein-Analoga mit modifizierten PNA-Erkennungseinheiten	91
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
5	Experimenteller Teil	107
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 ^[84,85]	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
Abkürzungsverzeichnis.....		171
Literaturverzeichnis		177
Danksagung		189