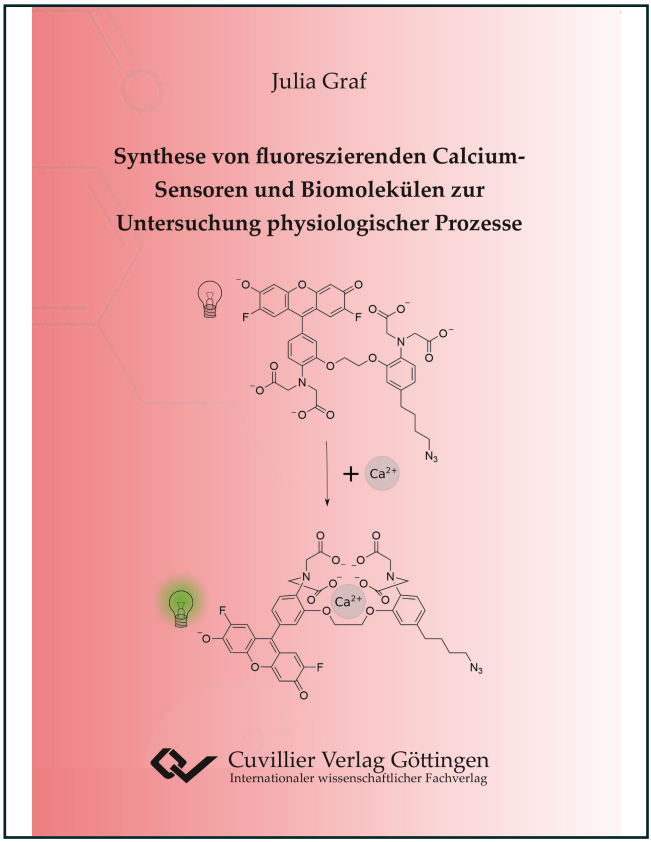
Julia Graf (Autor)

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 *Fluo-4* 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

Dieses Werk ist copyrightgeschützt und darf in keiner Form vervielfältigt werden noch an Dritte weitergegeben werden.
Es gilt nur für den persönlichen Gebrauch.

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

Dieses Werk ist copyrightgeschützt und darf in keiner Form vervielfältigt werden noch an Dritte weitergegeben werden.
Es gilt nur für den persönlichen Gebrauch.

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

Dieses Werk ist copyrightgeschützt und darf in keiner Form vervielfältigt werden noch an Dritte weitergegeben werden.
Es gilt nur für den persönlichen Gebrauch.