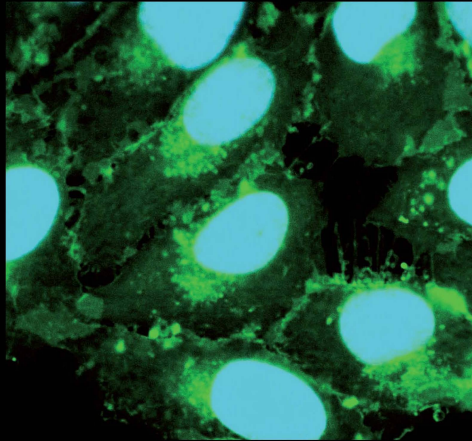




Larissa Kaufmann (Autor)

Untersuchung der Glykostrukturtopologie bei Tumor- und Primärzelllinien



Larissa Kaufmann

Untersuchung der
Glykostrukturtopologie bei Tumor- und
Primärzelllinien



Cuvillier Verlag Göttingen
Internationaler wissenschaftlicher Fachverlag

<https://cuvillier.de/de/shop/publications/6142>

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
1.2	Abstract	3
2	Einleitung	4
2.1	Die Glykokalyx der Zelloberfläche	4
2.1.1	Glykoproteine.....	5
2.1.2	Proteoglykane	7
2.1.3	Glykolipide.....	11
2.2	Weitere Aufgaben der Glykokalyx	12
2.3	Salvage Pathway.....	17
2.4	Das Mapping der Proteoglykane (Methodik).....	18
2.4.1	Click Chemie und Biologie	18
3	Ziel der Arbeit.....	24
4	Ergebnisse	24
4.1	Glykolabeling auf Zellen mit FITC-gekoppeltem Click-Reagenz (ClickFITC)	24
4.1.1	Inkubation mit Azido- Zucker und ClickFITC bei HeLa wt-Zellen.....	24
4.1.2	Das Mapping der Zuckerstrukturen bei verschiedenen Zelllinien	27
4.1.3	Unterschiedliche Konzentrationen und Inkubationszeiten	40
4.1.4	Zuckerlabeling bei der Stammzelllinie GNE-SC	49
4.1.5	Zuckeraufnahme/ Labeling mit fixierten Zellen	51
4.2	Biologische Verträglichkeit der Zucker und von ClickFITC: MTT-Test, FACS und Western Blots	69
4.2.1	MTT-Tests	69
4.2.2	FACS (Durchflusszytometrie).....	74
4.2.3	Test auf Caspase-8 Spaltung (Apoptose).....	77
4.3	Entwicklung des Hochdurchsatzverfahrens	80
4.3.1	Einfriertechnik	80
4.3.2	Mikroskopie Hochdurchsatz.....	82
4.4	Parallele Inkubation mit Peptoiden	84
4.5	Inkubation von L1210-Zellen mit Plakoteninderivaten.....	88
5	Diskussion.....	104
5.1	Plakoteninderivate	109
6	Experimenteller Teil	110
6.1	Zellkultur	110
6.1.1	Tumor- und Primärzelllinien.....	110



6.1.2	Stammzellen.....	110
6.1.3	Zellen Einfrieren und Auftauen.....	110
6.2	Fluoreszenzlabeling der Zucker (kupferfreie Clickreaktion) bei lebenden Zellen.....	111
6.2.1	Cyclooctin und Hochdurchsatzprotokoll.....	111
6.2.2	Diyn.....	112
6.3	Färbung der Zucker mit ClickIT (Invitrogen).....	112
6.4	Hoechst Färbung.....	113
6.5	Fixierung der Zellen mit Paraformaldehyd.....	113
6.6	Phaloidinfärbung.....	113
6.7	Western Blot.....	114
6.7.1	Isolation der Proteine.....	114
6.7.2	SDS-PAGE- Gel und Blotting.....	114
6.7.3	Strippen der Membran.....	116
6.8	FACS (Fluorescence activated cell sorter).....	116
6.9	RT-PCR.....	117
6.10	MTT-Test.....	121
6.11	Statistische Auswertung.....	122
7	Materialverzeichnis.....	122
7.1	Zelllinien.....	122
7.2	Zellmedien.....	125
7.3	Material und Reagenzien.....	127
7.4	Mikroskope.....	129
7.4.1	Abbildungseinstellungen.....	129
8	Abkürzungsverzeichnis.....	132
9	Literatur.....	135
10	Lebenslauf.....	145
11	Manuskripte.....	147