



## 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