

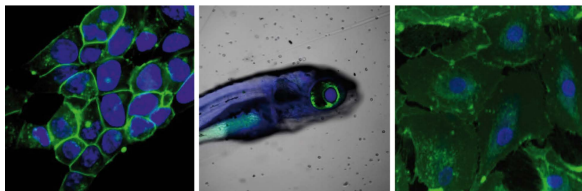


Judith Seltenreich (Autor)

## **In vivo Markierung von Glykostrukturen mit Hilfe neuartiger, bioorthogonaler Azid-Alkin 1,3-dipolarer Cycloadditionen**

*In vivo* Markierung von  
Glykostrukturen mit Hilfe neuartiger,  
bioorthogonaler Azid-Alkin  
1,3-dipolarer Cycloadditionen

Judith Seltenreich



<https://cuvillier.de/de/shop/publications/6744>

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

1	Zusammenfassung.....	1
2	Einleitung .....	3
2.1	Die Glykokalyx.....	4
2.2	Die endotheliale Glykokalyx .....	6
2.3	Zusammensetzung der Glykokalyx.....	7
2.3.1	Glykoproteine.....	7
2.3.1.2	O- Glykane.....	10
2.3.2	Proteoglykane .....	12
2.3.3	Glykolipide .....	14
2.4	Die Charakterisierung der Glykanstrukturen auf der Zelloberfläche .....	16
2.4.1	Darstellungsmethoden der Glykokalyx.....	16
2.4.2	Metabolisierung von unnatürlichen Monosacchariden .....	16
2.4.3	Click-Chemie.....	23
3	Ziel der Arbeit.....	31
4	Ergebnisse und Diskussion.....	33
4.1	Labelling von Glykostrukturen in diversen Zelllinien .....	33
4.1.1	Cu-freie Click-Reaktion (SPAAC) mit ClickFITC und ClickCy5 .....	33
4.1.2	Hochdurchsatzverfahren zur Quantifizierung von Glykostrukturen auf der Zellmembran .....	49
4.2	Markierung von Glykan-gebundenen Sialinsäuren mit Hilfe der SPAAC.....	51
4.3	Intramolekulare CuAAC mit Cu(I)-Komplexen aus Emittermaterialien von organischen Leuchtdioden (OLEDs).....	62
4.3.1	Toxikologische Untersuchungen zur intramolekular-katalysierten CuAAC .....	71
4.3.2	Intramolekular-katalysierte CuAAC im Zebrafischmodell .....	72
4.3.3	PyrPHOS-Cu(I)-Komplexe mit heteroleptischen organischen Liganden ... ..	78
4.4	Neue Cu-basierte Fluoreszenzfarbstoffe aus Emittermaterialien von OLEDs.....	82
5	Experimenteller Teil .....	87
5.1	Zellkultur .....	87
5.1.1	Tumor- und Primärzelllinien .....	87
5.1.2	Kryokonservierung von Zelllinien .....	87



5.1.3	Verwendung von BG Matrigel™ bei SHSY5Y Zellen .....	88
5.2	Cu-freie Click-Reaktion mit ClickFITC- bzw. ClickCy5.....	88
5.3	Cu-katalysierte Click-Reaktion mit PyrPHOS-Cu(I)-Komplex .....	89
5.4	FACS Analyse .....	89
5.5	Zellkernfärbung mit Hoechst 33342.....	90
5.6	Fixierung der Zellen mit Paraformaldehyd.....	90
5.7	MTT-Test.....	90
5.8	Statistische Auswertung .....	91
5.8.1	MTT Test.....	91
5.8.2	Hochdurchsatzverfahren.....	91
5.9	Behandlung der Zebrafisch Embryonen .....	92
5.9.1	Gewinnung der Zebrafisch Embryonen.....	92
5.9.2	Haltung der Eier .....	92
5.9.3	Start der Zucker- und Click-Injektion.....	92
5.9.4	Unterdrückung der Pigmentierung und Narkotisierung .....	93
5.9.5	Dechorionieren mit Pronase und Entdottern .....	94
5.9.6	Fixierung, Permeabilisierung und Färbung von Zebrafischembryonen .	94
5.9.7	Einbettung der fixierten Embryonen.....	95
5.9.8	Fixierung mit Methanol als Alternative zur PFA-Fixierung .....	96
5.10	Western-Blot als Nachweis der neuronalen Zelladhäsionsmoleküle .....	96
5.10.1	Probeaufbereitung und Verdau .....	96
5.10.2	Gießen des Gels .....	96
5.10.3	Vorbereiten des Gel-Gießstandes.....	97
5.10.4	Gießen des Trenngels .....	97
5.10.5	Gießen des Sammelgels.....	97
5.10.6	Probenaufbereitung und Gelelektrophorese .....	97
5.10.7	Semi-Dry Blot.....	98
5.11	Immunnachweis.....	98
5.12	Synthese von <i>N</i> -Acetyl-4-azido-4-desoxy-(1,3,6- <i>O</i> -acetyl)-mannosamin (Ac <sub>3</sub> -4-Azido-ManNAc) .....	99
5.13	Metabolischer Einbau von Azidozuckern, Click-Reaktion und Analyse des Glykaneinbaus in Glykoproteine .....	101
6	Materialverzeichnis .....	103
6.1	Zelllinien .....	103
6.2	Zellmedien .....	104



6.3	Versuchstiere .....	106
6.4	Verbrauchsmaterialien.....	106
6.5	Analytik.....	108
6.6	Chemikalien und Reagenzien.....	109
7	Abkürzungsverzeichnis .....	113
8	Literaturverzeichnis .....	119
9	Lebenslauf .....	129
10	Danksagungen.....	133