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

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

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, Permaebilisierung 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 *N*-Acetyl-4-azido-4-desoxy-(1,3,6-*O*-acetyl)-mannosamin (Ac_3-4-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

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

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

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