

INHALTSVERZEICHNIS

1	ABSTRACT	VIII
2	KURZFASSUNG	IX
3	THEORIE	
3.1	ZIELSETZUNG	1
3.2	EINFÜHRUNG	2
3.3	ZENTRALSTOFFWECHSEL	9
3.3.1	<i>Glykolyse</i>	9
3.3.2	<i>Citratzyklus</i>	12
3.3.3	<i>Harnstoffzyklus</i>	14
3.4	α_1 -ANTITRYPSIN	15
4	MATERIAL UND METHODEN	
4.1	ZELLEN	17
4.2	MEDIUM	17
4.3	KYROPRÄSERVATION	17
4.4	KULTIVIERUNGSSYSTEME	18
4.4.1	<i>Schüttelkolbenkultivierungen</i>	18
4.4.2	<i>Bioreaktorkultivierungen</i>	20
4.5	ANALYTIK	21
4.5.1	<i>Zelldichte</i>	21
4.5.2	<i>Glukose und Laktat</i>	22
4.5.3	<i>Ammonium</i>	22
4.5.4	<i>Aminosäuren</i>	23
4.5.5	<i>Antitrypsin</i>	23
4.6	PROBENVORBEREITUNG	24
4.6.1	<i>Quenching mittels Fast Filtration</i>	24
4.6.2	<i>Extraktion</i>	24
4.7	METABOLOMANALYTIK	25
4.7.1	<i>LC-MS Methode zur Quantifizierung intrazellulärer Metabolite</i>	25
4.7.2	<i>Präparation der Kalibrierstandards</i>	27
4.8	TRANSKRIPTOMANALYTIK	28
4.8.1	<i>Microarrays</i>	28
4.8.1.1	<i>Vorbereitung der Microarray-Analyse</i>	28
4.8.1.2	<i>Vorverarbeitung der Daten</i>	31
4.8.2	<i>Normalisierung</i>	34
4.9	BERECHNUNGEN UND FORMELN	36

4.9.1	Berechnungen zellspezifischer Parameter	36
5	ERGEBNISSE UND DISKUSSION	
5.1	METHODENETABLIERUNG METABOLOMANALYTIK.....	39
5.1.1	Entwicklung der LC-MS basierten Methode zur quantitativen Bestimmung von Metaboliten aus Zellextrakten	40
5.1.2	Optimierung der HPLC-Auftrennung.....	43
5.2	QUENCHING	49
5.3	PROBENVORBEREITUNG.....	53
5.3.1	Langzeitlagerung von Standards.....	53
5.3.2	Langzeitlagerung von Zellextrakten	54
5.3.3	Charakterisierung der Methode	56
5.3.4	Zusammenfassung und Diskussion der Methodenetablierung	61
5.4	KULTIVIERUNG	63
5.4.1	Charakterisierung der AGE1.HN Zelllinien	63
5.4.1.1	Wachstum & extrazelluläre Analytik der parentalen AGE1.HN Zelllinie	63
5.4.1.2	Wachstum & extrazelluläre Analytik der AGE1.HN AAT Zelllinie	66
5.4.1.3	Aminosäurekonzentrationen beider Zelllinien	69
5.4.2	Zusammenfassung der Zellliniencharakterisierung	70
5.5	INTEGRIERTE METABOLOM- UND TRANSKRIPTOMANALYSEN	71
5.5.1	Zentralexperiment I	71
5.5.1.1	Wachstum & extrazelluläre Analytik Zentralexperiment I	72
5.5.1.2	Metabolomanalyse Zentralexperiment I	80
5.5.1.3	Transkriptomanalyse Zentralexperiment I	102
5.5.2	Zentralexperiment II.....	113
5.5.2.1	Wachstum & extrazelluläre Analytik Zentralexperiment II	113
5.5.2.2	Metabolomanalyse Zentralexperiment II	120
5.5.2.3	Transkriptomanalyse Zentralexperiment II	126
5.5.3	Zusammenfassung Zentralexperimente I & II	129
5.5.4	Temperaturversuche.....	134
5.5.4.1	Ergebnisse Wachstum & extrazelluläre Analytik Temperaturversuche	134
5.5.4.2	Metabolomanalysen der Temperaturversuche	139
6	ZUSAMMENFASSUNG	147
7	FAZIT	151
A	TUNINGEINSTELLUNGEN 1200L MASSENSPEKTROMETER	I
B	BEISPIEL FÜR GEO-DATEIEN	I
C	KORRELATIONSMATRICES ZENTRALEXPERIMENT I UND II	II
D	KORRELATIONSMATRICES TEMPERATUREXPERIMENTE	IV
E	LITERATURVERZEICHNIS	VI

F	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	XXI
G	TABELLENVERZEICHNIS	XXIV
H	LEBENS LAUF.....	XXV