

# INHALTSVERZEICHNIS

ABSTRACT .....	7
ZUSAMMENFASSUNG .....	11
1 EINLEITUNG .....	17
1.1 Theoretischer Hintergrund .....	18
1.1.1 Die Bedeutung der Zellkulturtechnik für die pharmazeutische Industrie .....	18
1.1.2 Rekombinante Antikörper als Biopharmazeutika .....	20
1.1.3 Rekombinante Proteinexpression: Die zelluläre Grundlage von Hochproduzenten .....	22
1.1.4 Die Proteomanalyse als Werkzeug in der Systembiologie .....	24
1.1.5 (Differentielle) zweidimensionale Gelelektrophorese .....	26
1.1.6 Proteinidentifizierung mithilfe der Massenspektrometrie .....	28
1.1.7 Quantitative Massenspektrometrie: <i>Isobaric peptide tags for relative and absolute quantification</i> (iTRAQ) .....	30
1.2 Zielsetzung .....	32
2 MATERIAL UND METHODEN .....	35
2.1 Kultivierung von CHO-Zelllinien .....	36
2.1.1 Zelllinien .....	36
2.1.2 Kulturmedium .....	36
2.1.3 Kultivierungen .....	36
2.2 Prozessanalytik .....	37
2.2.1 Automatische Zellzählung .....	37
2.2.2 Bestimmung der Glucose- Lactat- und Ammoniumkonzentration .....	37
2.2.3 Aminosäureanalytik .....	38
2.2.4 Antikörperanalytik .....	38
2.3 Proteomanalytik von CHO-Zelllinien .....	39
2.3.1 Probenahme für die Proteomanalysen .....	39
2.3.2 Proteinextraktion und Quantifizierung .....	39
2.3.3 Proteinfällung mit Aceton .....	39
2.3.4 Zweidimensionale Gelelektrophorese .....	40
2.3.5 Massenspektrometrie .....	45
3 ERGEBNISSE UND DISKUSSION .....	51
3.1 Kultivierung der CHO-Zelllinien .....	52

<b>3.2</b>	<b>Produktivität der CHO-Zelllinien.....</b>	<b>56</b>
<b>3.3</b>	<b>Vergleichende Proteomanalyse von CHO-Zelllinien .....</b>	<b>59</b>
3.3.1	Optimierung und Evaluation der DIGE-Technik .....	59
3.3.2	Etablierung und Evaluation der iTRAQ-Methode .....	60
3.3.3	Erstellung einer 2D Proteom-Gelkarte der CHO-Zellen .....	62
3.3.4	Statistische Auswertung der gelbasierten Proteomanalyse .....	63
3.3.5	Statistische Auswertung der iTRAQ-basierten Proteomanalyse .....	68
3.3.6	Komplementarität von DIGE und iTRAQ .....	72
3.3.7	Heterogenität in der Proteinexpression bei vergleichbarem Phänotyp.....	73
3.3.8	Regulierte Stoffwechselenzyme in Verbindung mit der Metabolomanalyse.....	74
3.3.9	Proteine der mRNA-Prozessierung sowie Transkriptions- und Translationsregulation .....	79
3.3.10	Proteine des intrazellulären Transports .....	87
3.3.11	Proteine des Cytoskeletts.....	95
3.3.12	Proteolytische Proteine .....	99
3.3.13	Antioxidative Proteine und Redox-Regulation .....	105
3.3.14	Proteine der Proteinbiosynthese .....	110
3.3.15	Weitere differentiell exprimierte Proteine mit einer Korrelation in der Abundanz und der Produktivität.....	113
<b>4</b>	<b>FAZIT UND AUSBLICK .....</b>	<b>115</b>
<b>5</b>	<b>ANHANG .....</b>	<b>I</b>
5.1	Abbildungsverzeichnis .....	ii
5.2	Tabellenverzeichnis .....	iv
5.3	Abkürzungsverzeichnis.....	vi
5.4	Literaturverzeichnis .....	xii
5.5	Veröffentlichungen .....	xxxiv
5.5.1	Poster .....	xxxiv
5.5.2	Fachartikel .....	xxxiv
5.6	Gelbild des DIGE-Ansatzes .....	xxxv
5.7	Auflösung der iTRAQ-Reporter-Ionen .....	xxxvi
5.8	Darstellung des LC-MS-Survey der iTRAQ-Analysen .....	xxxvii
5.9	Übersicht über identifizierte Proteine .....	xxxvii
5.10	<i>Curriculum Vitae</i> .....	xxxviii
<b>6</b>	<b>DANKSAGUNGEN .....</b>	<b>XLI</b>
<b>7</b>	<b>ERKLÄRUNG.....</b>	<b>XLV</b>