

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 (iTRAQ)</i>	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

3.2	Produktivität der CHO-Zelllinien.....	56
3.3	Vergleichende Proteomanalyse von CHO-Zelllinien	59
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
4	FAZIT UND AUSBLICK	115
5	ANHANG	I
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
6	DANKSAGUNGEN	XLI
7	ERKLÄRUNG.....	XLV