

INHALTSVERZEICHNIS

1	Kurzzusammenfassung.....	1
2	Einleitung	5
2.1	Fluoreszenz	5
2.2	Fluoreszenzfarbstoffe	9
2.2.1	Carbazole.....	10
2.2.2	BODIPY-Farbstoffe	11
2.2.3	Pyrene, Xanthene und Cyanine	12
2.3	Fluoreszenzfarbstoffe in der Biologie	16
2.3.1	Bioorthogonalität.....	16
2.4	Biologische Anwendung.....	20
2.4.1	Die Membran und die Glykokalyx.....	20
2.4.2	Peptoide.....	30
2.5	Spektroskopische und mikroskopische Methoden	31
2.5.1	Konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie	32
2.5.2	Auflösung und das Abbe-Kriterium	32
2.5.3	Lebensdauermessungen.....	34
2.5.4	Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie (FCS)	35
3	Ziel der Arbeit	47
4	Hauptteil.....	49
4.1	Messungen zur Charakterisierung von Fluoreszenzfarbstoffen	49
4.2	Carbazole	49
4.2.1	Spektroskopische Untersuchungen	51
4.2.2	DFT-Berechnungen.....	60
4.2.3	Mechanismus mit internem Ladungstransfer gedrehter Strukturen (Twisted internal charge transfer = TICT)	62
4.2.4	Intelligente Farbstoffe (<i>smart dyes</i>)	62
4.2.5	Biologische Untersuchungen.....	63
4.2.6	Ausblick	64
4.3	BODIPY-Farbstoffe.....	65
4.3.1	Ester- und Carbonsäurephenyl-funktionalisierte BODIPY-Farbstoffe	68
4.3.2	BODIPY-Farbstoffe mit einer Perfluorphenylgruppe in <i>meso</i> -Position	70
4.3.3	BODIPY-Farbstoffe mit einer Perfluorphenylgruppe in <i>meso</i> -Position und Substituenten in 2,6-Position.....	71

4.3.4	BODIPY-Farbstoffe mit Perfluorphenylgruppe in <i>meso</i> -Position und Alkylsubstituenten in 2,6-Position	74
4.3.5	Lebensdauermessungen an 2,6-substituierten BODIPY-Farbstoffen	77
4.3.6	BODIPY-Farbstoffe mit Perfluorphenylgruppe in <i>meso</i> -Position und Substitution in 3,5-Position	78
4.3.7	Modifizierte BODIPY-Farbstoffe	86
4.3.8	DFT-Berechnungen zu den BODIPY-Farbstoffen	88
4.3.9	Ansätze zur Erklärung des spektroskopischen Verhaltens der 3,5-substituierten Substanz 35	93
4.4	Spektroskopische Messungen an Peptoiden	99
4.4.1	Spektroskopische Messungen an Peptoiden ohne Fluoreszenzfarbstoff	99
4.4.2	Spektroskopische Messungen von Peptoiden mit Rhodamin B Fluoreszenzfarbstoff	102
4.5	Spektroskopische Untersuchungen von Cyclooctinen	106
4.5.1	Cyclooctine mit Rhodamin B- und FITC-Farbstoffe	107
4.5.2	Cyclooctine mit gebundenen Farbstoffen für Einzelmolekülmikroskopie und -spektroskopie	109
4.6	Mikroskopische Analysen	118
4.6.1	Messungen an biologischen Zellen	118
4.6.2	Farbstoffmarkierung der Glykostrukturen	119
4.6.3	Überprüfung der Markierung von Glykostrukturen mittels LSM und Spinning-Disk-Mikroskopie	120
4.6.4	Messung der Dynamik der Glykokalyx mittels FCS	134
4.6.5	Analyse der Wechselwirkungen der Glykokalyx innerhalb der Zell-Zell-Grenzfläche zweier angrenzender Zellen	143
5	Zusammenfassung und Ausblick	151
5.1	Spektroskopische Untersuchungen von Carbazolen	151
5.2	Das spektroskopische Verhalten von BODIPY-Farbstoffen mit unterschiedlichen Substitutionsmustern	153
5.3	Untersuchung der Kupferkoordination von Peptoiden mittels Absorptionsmessungen und des Einflusses der Peptoidseitenketten auf Fluorophore	154
5.4	Cyclooctinfarbstoffe für die bioorthogonale Click-Reaktion an der Glykostruktur von Plasmamembranen	155

5.5	Untersuchung der tangentialen Diffusion der Glykostrukturen sowie der Wechselwirkungen von Glykostrukturen an Zell-Zell-Grenzflächen mittels Zwei-Farben-Zwei-Fokus-Line-Scanning-Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie (2c2f IsFCS)	156
6	Experimenteller Teil	159
6.1	Chemische Synthese und Analyse	159
6.1.1	Chemikalien und Lösungsmittel	159
6.1.2	Analytik und Geräte	159
6.2	Synthesevorschriften und analytische Daten	163
6.2.1	Alexa Fluor® 405 DAB-MFCO Cyclooctin-Konjugat (62)	163
6.2.2	Alexa Fluor® 488 DAB-MFCO Cyclooctin-Konjugat (63)	164
6.2.3	ATTO 488 DAB-MFCO Cyclooctin-Konjugat (64)	164
6.2.4	ATTO 532 DAB-MFCO Cyclooctin-Konjugat (65)	165
6.2.5	Alexa Fluor® 594 DAB-MFCO Cyclooctin-Konjugat (66)	165
6.2.6	Sulfo-Cyanin 5 DAB-MFCO Cyclooctin-Konjugat (67) ^[133]	166
6.2.7	ATTO 655 DAB-MFCO Cyclooctin-Konjugat (68)	166
6.2.8	ATTO 700 DAB-MFCO Cyclooctin-Konjugat (69)	167
6.2.9	Alexa Fluor® 700 DAB-MFCO Cyclooctin-Konjugat (70)	167
6.3	Biophysikalischen Messungen	168
6.3.1	Zellkultur an HeLa-Zellen	168
6.3.2	Farbstoffmarkierung der Glykanstrukturen	169
6.3.3	Zellkernfärbung mit Hoechst 33342	169
6.3.4	Methodik zur Erzeugung von verschiedenfarbig markierten Zellgrenzflächen	169
6.4	Materialverzeichnis Biophysik	171
6.4.1	Zelllinien	171
6.4.2	Zellmedien und Verbrauchskemikalien für Messungen an Zellen	171
6.4.3	Hergestellte Zucker	171
6.4.4	Verbrauchsmaterialien	172
6.4.5	Geräte Mikroskopie	175
7	Anhang	181
7.1	Tabellen	181
7.1.1	Absorptionsbanden inklusive Extinktionswerte und Abweichungen	181
7.1.2	Alle Fluoreszenzbanden inklusive Schultern	184

7.1.3	Quantenausbeuten und Helligkeiten der DAB-MFCO-Konjugate inkl. Abweichungen.....	186
7.1.4	Diffusionswerte der einzelnen Messungen inklusive Abweichungen und Partikelanzahl.....	187
7.2	Abbildungen	190
7.3	Kristallstrukturanalysen.....	191
7.4	Kombinierter Aufbau für tip-enhancement mittels AFM, LSM und FLIM	193
8	Abkürzungsverzeichnis	197
9	Referenzen.....	205
10	Lebenslauf	217
11	Publikationen und Konferenzbeiträge.....	219
12	Danksagung.....	223