Naturwissenschaft

Bernd Kaltwaßer

Präparation und Charakterisierung von klonalen, neuralen Zelllinien, welche das EGFP-Tau-Fusions-Protein stabil exprimieren

Bachelorarbeit

Diplom.de

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek:

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek: Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über http://dnb.d-nb.de/ abrufbar.

Dieses Werk sowie alle darin enthaltenen einzelnen Beiträge und Abbildungen sind urheberrechtlich geschützt. Jede Verwertung, die nicht ausdrücklich vom Urheberrechtsschutz zugelassen ist, bedarf der vorherigen Zustimmung des Verlages. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Bearbeitungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen, Auswertungen durch Datenbanken und für die Einspeicherung und Verarbeitung in elektronische Systeme. Alle Rechte, auch die des auszugsweisen Nachdrucks, der fotomechanischen Wiedergabe (einschließlich Mikrokopie) sowie der Auswertung durch Datenbanken oder ähnliche Einrichtungen, vorbehalten.

Copyright © 2004 Diplomica Verlag GmbH
ISBN: 9783832484965

http://www.diplom.de/e-book/223701/praeparation-und-charakterisierung-von-klonalen-neuralen-zelllinien-welche

Bernd Kaltwaßer

Präparation und Charakterisierung von klonalen, neuralen Zelllinien, welche das EGFP-Tau-Fusions-Protein stabil exprimieren

Diplom.de

Bernd Kaltwaßer

Präparation und Charakterisierung von klonalen, neuralen Zelllinien, welche das EGFP-Tau-Fusions-Protein stabil exprimieren

Bachelorarbeit
Universität Osnabrück
Fachbereich Biologie / Chemie
Abgabe September 2004

Diplom.de

Diplomica GmbH
Hermannstal 119k
22119 Hamburg

Fon: 040 / 655 99 20
Fax: 040 / 655 99 222

agentur@diplom.de
www.diplom.de

ID 8496

ID 8496
Kaltwaßer, Bernd: Präparation und Charakterisierung von klonalen, neuralen Zelllinien, welche das EGFP-Tau-Fusions-Protein stabil exprimieren
Hamburg: Diplomica GmbH, 2004
Zugl.: Universität Osnabrück, Bachelorarbeit, 2004

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt. Die dadurch begründeten Rechte, insbesondere die der Übersetzung, des Nachdrucks, des Vortrags, der Entnahme von Abbildungen und Tabellen, der Funksendung, der Mikroverfilmung oder der Vervielfältigung auf anderen Wegen und der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen, bleiben, auch bei nur auszugsweiser Verwertung, vorbehalten. Eine Vervielfältigung dieses Werkes oder von Teilen dieses Werkes ist auch im Einzelfall nur in den Grenzen der gesetzlichen Bestimmungen des Urheberrechtsgesetzes der Bundesrepublik Deutschland in der jeweils geltenden Fassung zulässig. Sie ist grundsätzlich vergütungspflichtig. Zuwiderhandlungen unterliegen den Strafbestimmungen des Urheberrechtes.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Die Informationen in diesem Werk wurden mit Sorgfalt erarbeitet. Dennoch können Fehler nicht vollständig ausgeschlossen werden, und die Diplomarbeiten Agentur, die Autoren oder Übersetzer übernehmen keine juristische Verantwortung oder irgendeine Haftung für evtl. verbliebene fehlerhafte Angaben und deren Folgen.

Diplomica GmbH
http://www.diplom.de, Hamburg 2004
Printed in Germany

Autorenprofil

Bernd Kaltwaßer

Donaustr. 24
49809 Lingen / Ems

Kontakt:

☎ **0591 / 48818**
Bernd.kaltwasser@web.de

Studium

2004 **Akademischer Grad:**
Bachelor of Science „Biologie der Zelle“

Studiengänge:
2001 - „Biologie“ (Diplom)
2004 - „Biologie der Zelle“ (Master of Science)

Berufliche Entwicklung

2001 Prüfung zum staatlich anerkannten Rettungssanitäter
2001 Arbeit als Rettungssanitäter beim DRK Kreisverband Lingen e.V.
2000 - 2001 Zivildienst als Rettungshelfer beim DRK Kreisverband Lingen e.V. (Abteilung Rettungsdienst)

Fort– und Weiterbildung

2004 Sprachkurs „Schwedisch“ an der VHS Osnabrück
2003 Schulung zum Zoopädagogen im Zoo Osnabrück

Kenntnisse und Fertigkeiten

Soziales Ehrenamtliche Mitarbeit als Rettungssanitäter im Rettungsdienst des Landkreises Emsland
Mitarbeit in den Einsatzgruppen Wasserrettung / Sanitätsdienst der DLRG Ortsgruppe Lingen e.V.
Mitarbeit in der DPSG Lingen

Sport Teilnahme am Hochschulsportprogramm der Universität Osnabrück
Mitglied der DLRG Lingen

Sprachen Englisch: Präsentationssicher in Wort und Schrift
Französisch: vertiefte Kenntnisse in Wort und Schrift
Schwedisch: Grundkenntnisse in Wort und Schrift

Interessenschwerpunkte

Neurobiologie Anfertigung der Abschlussarbeit zum B.Sc. „Biologie der Zelle“
Thema: „Charakterisierung und Präparation von klonalen, neuralen Zelllinien, welche das EGFP-Tau Fusionsprotein stabil exprimieren“

Genetik Erwerb vertiefter Kenntnisse genetischer Arbeitsmethoden im Verlaufe des Studiums

Der Durchbruch vollzieht sich in der zerebralen Zirkusmanege der Tetrapoden.
Hier wird von den letzten Triumphen der Sippe berichtet.
In den Synapsen des warmblütigen Wirbeltieres knallen die ersten Champagnerkorken.
Postmoderne Primaten erhalten am Ende den großen Überblick.
Und verzweifeln nicht: Das Universum sieht sich selbst im Weitwinkel.

Jostein Gaarder

Sr. Johannis

Die vorliegende Arbeit hätte ohne die Unterstützung vieler Menschen nicht geschrieben werden können. Daher gilt mein Dank zunächst Herrn Prof. Dr. Brandt, für die Überlassung eines ebenso interessanten wie reizvollen Themas. Ihm und Frau Dr. Monika Hundelt möchte ich auch für die Bereitschaft diese Arbeit zu prüfen danken.

Den Mitarbeitern der Abteilung Neurobiologie ist es gelungen eine Arbeitsatmosphäre zu schaffen, die wesentlich zum Gelingen des Projektes beigetragen hat. Außerordentliche Hilfsbereitschaft und jederzeitige Unterstützung sind nur zwei Punkte, für die ich diesen Menschen Dank schulde. Besonderes hervorzuheben ist in diesem Zusammenhang die Bereitschaft Carina Weismanns, die direkte Betreuung meines Projektes zu übernehmen.

Prof. Dr. Roland Brandt, Dr. Monika Hundelt, Carina Weissmann und Ursula Wempe gebührt besonderer Dank und Respekt für die kritische Korrektur der vorliegenden Arbeit. Alle Fehler die sich jetzt immer noch im Text befinden, liegen daher ausschließlich in meiner Verantwortung.

Zu erwähnen sind auch noch Jessica Koch und Ann-Theres Lüttkoff, die zeitgleich mit mir ihre Bachelor-Arbeiten verfassten und mir oft hilfreich zur Seite standen.

Abschließend gilt noch ein besonderer Dank meinen Eltern und meiner Familie ohne deren finanzielle und ideelle Unterstützung ein Studium der Biologie nicht durchzuführen wäre. Kathrin Witzenberger möchte ich danken für all die Rücksichtnahme und Hilfe, die sie mir während des Entstehens dieser Arbeit hat zuteil werden lassen. Durch sie ist die Strecke bis zum Mond nicht mehr gar so weit.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis **6**
Abkürzungsverzeichnis **8**
Einleitung **11**
1 Das Zytoskelett 12
2 Die Mikrotubuli 12
3 Das Protein Tau 13
4 Neurodegenerative Erkrankungen 15
5 Die PC12-Zelllinie 17
6 Das „Enhanced Green Fluorescent Protein“ (EGFP) 18
7 Fragestellung und Ziel der Arbeit 19
Material und Methoden **21**
1 Materialen und Geräte 21
1.1 Chemikalien 21
1.2 Verwendete Zelllinien 21
1.3 Puffer, Medien, Lösungen 22
1.3.1 Zellkultur 22
1.3.2 Immunfluoreszenzmikroskopie 24
1.3.3 Biochemische Analysen 27
1.4 Antikörper und Chemikalien zur Färbung 30
1.4.1 Primäre Antikörper 30
1.4.2 Sekundäre Antikörper 31
1.4.3 Chemikalien zur Fluoreszenzfärbung 31
1.5 Verbrauchswaren 31
1.5.1 Glaswaren 31
1.5.2 Plastikwaren 32
1.6 Geräte 32
1.7 Software 36
2 Methode 37
2.1 Zellkultur 37
2.1.1 Kultur von PC-12 Zellen 37
2.1.2 Bechichtung von Zellkulturschalen mit Kollagen 38
2.1.3 Auftauen von Zellen 38
2.1.4 Zellzahlbestimmung und Vereinzelung von Zellen 39

2.1.5 Synchronisation von Zellpopulationen mittels serumfreien Mediums 40
2.1.6 Zellsynchronisation mittels Zugabe von Colchizin 41
2.2 Immunfluoreszenzmikroskopie 41
2.2.1 Beschichtung von Deckgläschen mit Poly-L-Lysin 41
2.2.2 Standardfixierung von Zellen auf Deckgläschen 42
2.2.3 Extraktionsfixierung von Zellen auf Deckgläschen 42
2.2.4 Immunchemische Färbung und Einbettung 43
2.2.5 Mikroskopische Auswertung 44
2.3 Protein-biochemische Untersuchungen 44
2.3.1 Präparation von Zelllysaten 44
2.3.2 Proteinbestimmung mittels der Bicinchoninsäure-Methode („BCA-Assay“) 45
2.3.3 Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamid-Gelelektrophorese („SDS-PAGE“) 46
2.3.4 Proteintransfer durch Elektroblot („Westernblot“) 47
2.3.5 Immundetektion 48
2.3.6 Entfernung gebundener Antikörper von einer PVDF-Membran 49
Ergebnis 50
1 Immunfluoreszenzmikroskopische Untersuchungen der Dauerkultur 50
2 Immunfluoreszenzmikroskopische Untersuchungen der Subklonierungskulturen 58
3 Ergebnis der Zellsynchronisationsversuche 60
3.1 Zellsynchronisation mittels serumfreien Mediums 61
3.2 Zellsynchronisation mittels Kolchizin 64
4 Protein-biochemische Analyse der Dauerkultur 66
Diskussion 71
1 Immunfluoreszenzmikroskopische Untersuchungen der Dauerkultur 71
2 Immunfluoreszenzmikroskopische Untersuchungen der Subklonierungskulturen 73
3 Zellsynchronisationsversuche 75
3.1 Zellsynchronisationsversuche mittels serumfreien Mediums 75
3.2 Zellsynchronisation mittels Kolchizin 76
4 Protein-biochemische Untersuchungen 78
5 Zusammenfassung 80
6 Ausblick 81
Anhang 84
1 Auszählungsergebnisse im Rahmen der Dauerkultur 84
2 Auszählungsergebnisse im Rahmen der Subklonierungsexperimente 90
3 Auszählungsergebnisse im Rahmen der Zellsynchronisation mit serumfreien Medium 92
4 Auszählungsergebnisse im Rahmen des Zellsynchronisation mit Kolchizin 94
Literaturverzeichnis 96