

Videoverzeichnis

Auf dieser Video-CD befinden sich folgende Videos:

Video 1 Thrombozyten aggregieren auf Plaquematerial in fließendem Blut.

Thrombozyten (grün) wurden mit Mepacrin angefärbt und Blut wurde für 5 min über Plauehomogenat perfundiert (Scherrate: 550/s). Die Thrombozytenaggregation wurde unter Verwendung eines 10x Objektivs (NA 0,4) mittels Fluoreszenzmikroskopie detektiert (1 Bild/sek). Flussrichtung von rechts nach links.

Video 2 Nach Behandlung des Blutes mit GPVI-Fc tritt die Thrombozytenaggregation auf Plaquematerial verzögert ein und ist reduziert.

Blut wurde mit GPVI-Fc (50 µg/ml) behandelt und für 5 min über Plauehomogenat perfundiert (Scherrate: 550/s). Thrombozyten (grün) wurden mit Mepacrin angefärbt. Die Thrombozytenaggregation wurde unter Verwendung eines 10x Objektivs (NA 0,4) mittels Fluoreszenzmikroskopie detektiert (1 Bild/sek). Flussrichtung von rechts nach links.

Video 3 Nach Behandlung des Blutes mit GPVI-Antikörpern ist die Thrombozytenaggregation auf Plaquematerial gehemmt. Die Thrombozytenadhäsion ist eher transient als stabil.

Blut wurde mit 5C4 (1,25 µg/ml) behandelt und für 5 min über Plauehomogenat perfundiert (Scherrate: 550/s). Thrombozyten (grün) wurden mit Mepacrin angefärbt. Die Thrombozytenadhäsion wurde unter Verwendung eines 10x Objektivs (NA 0,4) mittels Fluoreszenzmikroskopie detektiert (1 Bild/sek). Flussrichtung von rechts nach links.

Video 4 GPVI-Fc bindet schnell an kleine und große Plauefragmente.

GPVI-Fc wurde mit PE-konjugierten anti-human-Fc Antikörpern markiert und vor Beginn der Perfusion über Plauehomogenat (Scherrate: 550/s) dem Blut beigegeben (finale Konzentration 50 µg/ml). GPVI-Fc (rot) wurde unter Verwendung eines 100x Öl-Objektivs (NA 1,4) mittels Fluoreszenzmikroskopie detektiert (1 Bild/2 sek). Flussrichtung von rechts nach links.

Video 5 Dynamik der GPVI-Fc-Bindung und Thrombozytenanhaftung an Plauefragmente.

GPVI-Fc bindet schnell stromaufwärts und stromabwärts an kleine und große Plauefragmente, Thrombozyten adhären in Strömungsnischen an große Plauefragmente, was zur Thrombozytenaggregation führt.

GPVI-Fc (rot) wurde mit PE-konjugierten anti-human-Fc Antikörpern markiert und vor Beginn der Perfusion über Plauehomogenat (Scherrate: 550/s) dem Blut beigegeben (finale Konzentration 50 µg/ml). Plauefragmente und Thrombozyten wurden mit DIC- und PE-markiertes GPVI-Fc wurde mit Fluoreszenzmikroskopie unter Verwendung eines 100x Öl-Objektivs (NA 1,4) detektiert (1 Bild/2 sek). Flussrichtung von rechts nach links.

Video 6 **GPVI-Fc-Bindung an Kollagen.**

GPVI-Fc wurde mit PE-konjugierten anti-human-Fc Antikörpern markiert und vor Beginn der Perfusion über Kollagen (Scherrate: 600/s) dem Abciximab enthaltenden Blut beigegeben (finale GPVI-Fc-Konzentration 50 µg/ml). GPVI-Fc (rot) wurde unter Verwendung eines 100x Öl-Objektivs (NA 1,4) mittels Fluoreszenzmikroskopie detektiert (1 Bild/sek). Flussrichtung von rechts nach links.

Video 7 **Trotz schneller GPVI-Fc-Bindung an Plaquematerial aggregieren Thrombozyten stromabwärts von großen Plaquefragmenten bei niedriger Scherrate.**

Dreidimensionale Visualisierung (TPLSM) der Thrombozytenanlagerung (grün) an autofluoreszierendes Plaquematerial (blau) in Anwesenheit von GPVI-Fc (rot). Totale Dicke 10 µm; z-Abschnitte 0,7 µm. Thrombozyten wurden mit DiOC6 angefärbt. GPVI-Fc wurde mit Alexa Fluor® 594-konjugierten anti-human-Fc Antikörpern markiert und vor Beginn der Perfusion über Plaquehomogenat (Scherrate: 550/s) dem Blut beigegeben (finale Konzentration 50 µg/ml). Flussrichtung von rechts nach links.

Video 8 **Thrombozyten adhärieren und aggregieren bei niedriger Scherrate in Anwesenheit von GPVI-Fc stromabwärts an Plaquefragmente.**

Blut wurde mit GPVI-Fc (50 µg/ml) behandelt und über Plaquehomogenat perfundiert (Scherrate: 550/s). Plaquehomogenat und Thrombozyten wurden unter Verwendung eines 100x Öl-Objektivs (NA 1,4) mittels DIC-Mikroskopie detektiert (1 Bild/sek). Flussrichtung von rechts nach links.

Video 9 **Dreidimensionale Animation des SIM-Bildes in Abbildung 27.**

Thrombozyten (grün) adhärieren stromabwärts an bestimmte Stellen des Plaque-Kollagens (blau), die von GPVI-Fc (rot) nicht besetzt sind, sich aber in nächster Nähe davon befinden. SIM Bildgebung. Totale Dicke 3,6 µm; z-Abschnitte 0,2 µm.

Video 10 **Dreidimensionale Animation des SIM-Bildes in Abbildung 28.**

Thrombozyten (grün) adhärieren hauptsächlich an Kollagensegmente (blau), die wenig GPVI-Fc (rot) tragen. SIM Bildgebung. Totale Dicke 2,5 µm; z-Abschnitte 0,15 µm.

Video 11 **Thrombozyten adhärieren und aggregieren stromabwärts an Plaquefragmente in Anwesenheit niedriger inhibitorischer Schwellenkonzentrationen von 5C4.**

Blut wurde mit 5C4 (0,5 µg/ml) behandelt und über Plaquehomogenat perfundiert (Scherrate: 550/s). Plaquehomogenat und Thrombozyten wurden unter Verwendung eines 100x Öl-Objektivs (NA 1,4) mittels DIC-Mikroskopie detektiert (1 Bild/sek). Flussrichtung von rechts nach links.

Video 12 **Kinetik der Bindung von unvernetztem GPVI-Fc an Kollagen unter Strömungsbedingungen.**

GPVI-Fc wurde mit PE-markierten anti-human-Fc Fab2 Antikörpern in einem molaren Verhältnis von 20:1 inkubiert. Die Mischung wurde vor der Perfusion (Scherrate: 600/s) über Kollagen dem Abciximab enthaltenden Blut beigegeben (finale GPVI-Fc-Konzentration 333 nM).

Die Bindung von PE-markiertem GPVI-Fc*Fab2 (rot) an Kollagen wurde mittels Fluoreszenzmikroskopie (1 Bild/sek) unter Verwendung eines 10x Objektivs (NA 0,4) aufgezeichnet. Flussrichtung von rechts nach links.

Video 13 **Kinetik der Bindung von quervernetztem GPVI-Fc an Kollagen unter Strömungsbedingungen.**

GPVI-Fc wurde mit 10% PE-markierten und 90% unmarkierten anti-human-Fc Fab2 Antikörpern in einem molaren Verhältnis von 1:1 zur GPVI-Fc-Quervernetzung inkubiert. Die Mischung wurde vor der Perfusion (Scherrate: 600/s) über Kollagen dem Abciximab enthaltenden Blut beigegeben (finale GPVI-Fc-Konzentration 333 nM).

Die Bindung von PE-markiertem GPVI-Fc*Fab2-XL (rot) an Kollagen wurde mittels Fluoreszenzmikroskopie (1 Bild/sek) unter Verwendung eines 10x Objektivs (NA 0,4) aufgezeichnet. Flussrichtung von rechts nach links.