

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	XI
1 Einleitung.....	1
1.1 Die Bedeutung von Kohlenhydrat-Wechselwirkungen	1
1.1.1 Struktur und Aufbau der Plasmamembran eukaryotischer Zellen	1
1.1.2 Der Informationsgehalt der Glycokalix.....	2
1.1.3 Polyvalente Wechselwirkungen	4
1.1.4 Kohlenhydrat-Wechselwirkungen bei zellulären Erkennungs- und Adhäsionsprozessen	6
1.1.5 Lektine und die Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkung.....	7
1.1.5.1 Definition und Klassifizierung von Lektinen	7
1.1.5.2 Die pflanzlichen Lektine Con A, PNA und RCA I.....	9
1.1.5.3 Das bakterielle Lektin Cyanovirin N.....	12
1.1.6 Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Wechselwirkungen	13
1.1.6.1 Eigenschaften von Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Wechselwirkungen	13
1.1.6.2 Die homophile Lewis X-Lewis X-Wechselwirkung	15
1.2 Analytik von Kohlenhydrat-Wechselwirkungen.....	16
1.2.1 Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen.....	16
1.2.1.1 Hämagglutinations-Assay.....	16
1.2.1.2 Affinitätschromatographie.....	17
1.2.1.3 Affinitätsselektrophorese	17
1.2.1.4 Isothermische Titrationskalorimetrie (ITC).....	18
1.2.1.5 Oberflächenplasmonenresonanzspektroskopie (SPR)	18
1.2.1.6 NMR-Methoden	19
1.2.1.7 Enzymgekoppelter Lektintest (ELLA)	20
1.2.2 Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Wechselwirkungen	21
1.3 Array-Verfahren und Kohlenhydrat-Arrays	23
1.3.1 Grundprinzip der Array-Verfahren	23
1.3.2 Klassifizierung von Array-Verfahren und Immobilisierungsmethoden	24
1.3.3 Detektionsmethoden	26
1.3.4 Anwendung von Array-Methoden	27
1.3.5 Kohlenhydrat-Arrays	27
1.3.5.1 Allgemeiner Überblick	27
1.3.5.2 Immobilisierungsmethoden	30
1.3.5.3 Immobilisierung nicht-funktionalisierter Kohlenhydrate	34
1.3.5.4 Anwendung von Kohlenhydrat-Arrays.....	36

2	Aufgabenstellung.....	37
2.1	Darstellung von Kohlenhydrat-Arrays und Untersuchung von Kohlenhydrat-Wechselwirkungen ..	37
2.2	Synthese von Mannoseglycolipiden.....	41
3	Chemische Synthesen.....	43
3.1	Synthese von Linkerbausteinen.....	43
3.2	Synthese von Kohlenhydratbausteinen.....	47
3.2.1	Acetylierte Trichloracetimidat-Donoren.....	48
3.2.2	Der Glucosamin-Donor	49
3.2.3	Der Fucosedonor.....	49
3.2.4	Der Mannosedonor	52
3.3	Synthese funktionalisierter Kohlenhydrate	53
3.4	Synthese von Lewis X-Derivaten.....	56
3.5	Synthese von Mannose-Glycolipiden	64
4	Array Untersuchungen.....	71
4.1	Allgemeine Betrachtungen.....	71
4.1.1	Reduktive Aminierung.....	72
4.1.2	Amidbindungsbildung durch Carbodiimide und PyBOP.....	73
4.1.3	Standardprotokoll zur Darstellung von Kohlenhydrat-Arrays durch reduktive Aminierung (SP 1).....	75
4.1.4	Verwendung von Silikonmasken.....	76
4.1.5	Standardprotokoll zur Untersuchung von Kohlenhydrat-Lektin-Wechselwirkungen (SP 2).....	78
4.1.6	Quantitative Auswertung der Fluoreszenzmessungen	79
4.2	Untersuchungen zur Immobilisierung von Kohlenhydraten auf funktionalisierten Glaträgern.....	80
4.2.1	Fluoreszenzmarkierte Kohlenhydrate	80
4.2.2	Messungen mit dem ELISA-Plattenreader	82
4.2.2.1	Messungen von Flüssigkeitstropfen bzw. Messungen in Lösung	83
4.2.2.2	Trockene Messungen	84
4.2.2.3	Fazit.....	85
4.2.3	Messungen mit dem Fluoreszenzmikroskop.....	85
4.2.3.1	Messungen von versiegelten Spots	86
4.2.3.2	Trockene Messungen	87
4.2.3.3	Fazit.....	88
4.2.4	Messungen mit dem Array-Scanner	89
4.2.4.1	Untersuchungen zur Kovalenz der Immobilisierung.....	89

4.2.4.2	Fazit.....	94
4.2.4.3	Untersuchungen zur Kinetik der Immobilisierung	95
4.2.4.4	Fazit.....	103
4.3	Untersuchungen von Kohlenhydrat-Lektin-Wechselwirkungen.....	103
4.3.1	Untersuchungen zur Immobilisierung von α -Mannopyranosiden und ihrer Wechselwirkung mit dem Lektin Concanavalin A.....	104
4.3.1.1	Immobilisierung durch reduktive Aminierung	104
4.3.1.2	Untersuchungen zur nicht-spezifischen Adsorption von Kohlenhydraten.....	110
4.3.1.3	Untersuchungen zum Detektionslimit	113
4.3.1.4	Immobilisierung durch Ausbildung von Carbonsäureamidbindungen	116
4.3.1.5	Fazit.....	119
4.3.2	Untersuchungen zur Selektivität der Kohlenhydrat-Lektin-Wechselwirkung	120
4.3.2.1	Fazit.....	123
4.3.3	Untersuchungen zur Reversibilität der Kohlenhydrat-Lektin-Wechselwirkung	123
4.3.3.1	Untersuchung von eluierenden Reagenzien.....	124
4.3.3.2	Untersuchungen zur Rehybridisierung	128
4.3.3.3	Untersuchung von denaturierenden Reagenzien und proteolytischem Abbau	131
4.3.3.4	Fazit.....	137
4.3.4	Untersuchungen zur Polyvalenz der Kohlenhydrat-Lektin-Wechselwirkung.....	138
4.3.4.1	Fazit.....	141
5	Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkung an einer Micelloberfläche	143
6	Experimental Part	147
6.1	General Methods and Equipment	147
6.2	Experiments	150
6.2.1	General Procedures	150
6.2.2	Substances and synthesised compounds	151
6.2.3	Array Experiments	207
7	Abbildung der Spektren	209
8	Zusammenfassung.....	273
8.1	Chemische Synthesen	275
8.2	Array Untersuchungen.....	280
9	Literatur- und Quellenverzeichnis	287