

1 Einleitung

In dieser Arbeit wurden Kohlenhydrat-Arrays dargestellt und zur Untersuchung von Kohlenhydrat-Wechselwirkungen herangezogen. Die folgende Einleitung soll den Leser mit der Bedeutung, dem wissenschaftlichen Hintergrund und den notwendigen Konzepten des Themas vertraut machen, um die beschriebenen Ergebnisse angemessen beurteilen zu können.

1.1 Die Bedeutung von Kohlenhydrat-Wechselwirkungen

1.1.1 Struktur und Aufbau der Plasmamembran eukaryotischer Zellen

Die Plasmamembran ist eine Lipiddoppelschicht, die alle eukaryotischen Zellen umgibt und so das Zellinnere (Cytoplasma) vom Extrazellularraum abtrennt.^[1] Die Lipidmoleküle zeigen einen amphiphilen Aufbau aus einer hydrophilen Kopfgruppe und langen hydrophoben Kohlenwasserstoffketten. In wässrigem Milieu lagern sie sich deshalb spontan zu einer etwa 6 nm dicken Doppelschicht zusammen, bei der sich die hydrophoben Alkylreste im Inneren anordnen und die hydrophilen Gruppen auf den beiden dem Wasser zugewandten Außenseiten. Die Lipidkomponenten tierischer Zellemembranen bestehen aus Phospholipiden (Glycerophospholipide und Sphingomyeline) und Glycolipiden, deren hydrophile Kopfgruppe aus einem Kohlenhydrat besteht. Ferner ist das hydrophobe Cholesterin in die Membran eingebettet. Proteine durchdringen mit ihren hydrophoben Bereichen die Zellmembran ganz oder teilweise; auch sie können mit Kohlenhydratresten kovalent verknüpft sein (Membranglycoproteine). Die Zuckerreste der Glycolipide und Glycoproteine treten ausschließlich auf der Zelloberfläche auf und bilden dort die so genannte Glycokalix. Abbildung 1 veranschaulicht den Aufbau der Plasmamembran.

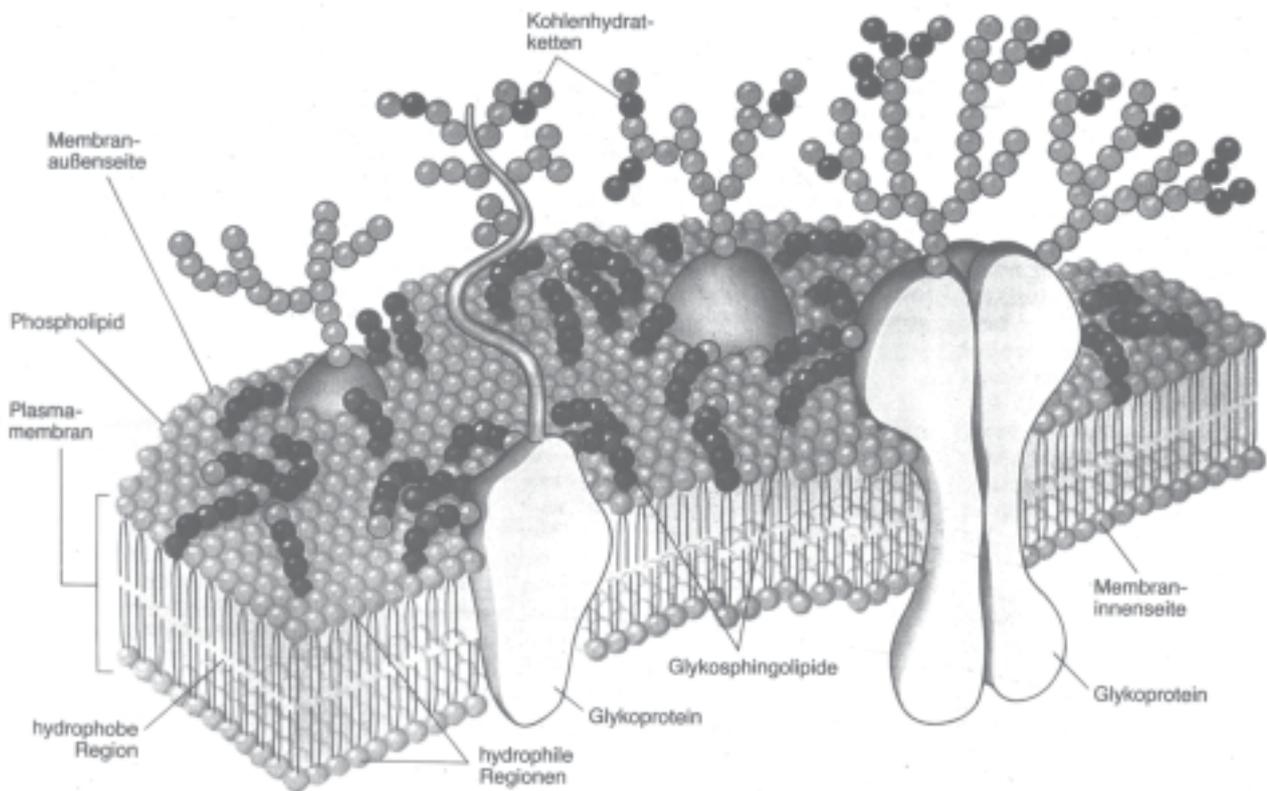


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Plasmamembran im Querschnitt.^[2]

Der Anteil der verschiedenen Membrankomponenten hängt von der Art des Organismus und des Gewebes ab und differiert teilweise erheblich. Sowohl die Lipid- als auch die Proteinkomponenten können sich innerhalb einer Ebene der Doppelschicht frei bewegen (laterale Diffusion), während ein Transfer durch die Doppelschicht hindurch (transversale Diffusion) nicht möglich ist. Es resultiert eine flüssig-fluide Struktur der Membran, bei der „die Membranproteine wie Eisberge in einem zweidimensionalen Lipidmeer umherschwimmen“.^[3]

1.1.2 Der Informationsgehalt der Glycokalix

Die Glycokalix bildet eine äußere Hülle aus Zuckermolekülen, die die Zelle umgibt. Ihre Kohlenhydratstrukturen (Glycanstrukturen) reichen in den intrazellulären Raum hinein (vgl. Abbildung 2).

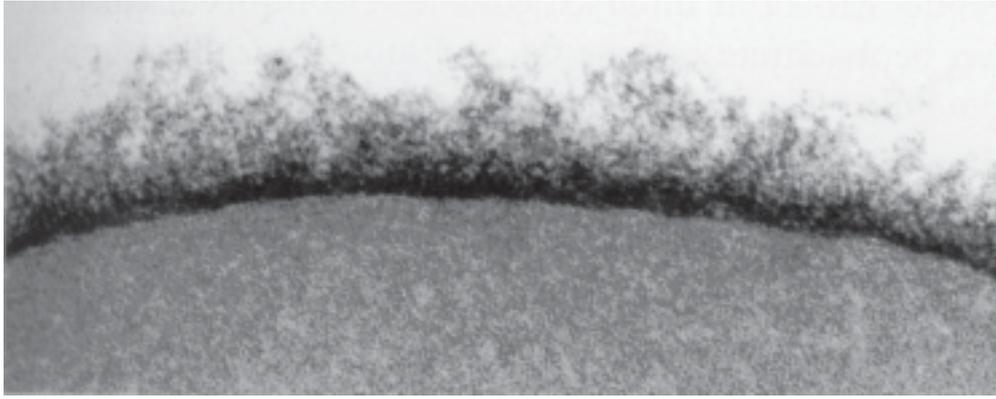


Abbildung 2: Erythrocyten-Glycokalix unter dem Elektronenmikroskop.^[1]

Sie zeichnen sich durch eine hohe strukturelle Vielfalt und Komplexität aus, die zur Speicherung von (biologischer) Information genutzt wird.^[4, 5] Oligosaccharide besitzen gegenüber anderen zur Informationsvermittlung verwendeten Biomolekülen, wie Nukleinsäuren, Peptiden oder Proteinen, den entscheidenden Vorteil, dass die Verknüpfungsmöglichkeiten zwischen ihren Monomerbausteinen (hier Monosacchariden) sehr zahlreich sind.^[6, 7] Im Gegensatz zu den genannten linearen Oligomeren mit nur einer Verknüpfungsmöglichkeit können sie auf Grund der mehrfach vorhandenen Hydroxylgruppen ihrer Monomere unterschiedliche Regioisomere und insbesondere auch verzweigte Strukturen bilden. Darüber hinaus erhöht die Zahl an stereogenen Zentren pro Monosaccharideinheit auch die Zahl der möglichen Isomere deutlich. Oligosaccharide können folglich pro Gewichtseinheit sehr viel mehr Information speichern als lineare Oligomere.

Die Entschlüsselung dieser in den Glycanstrukturen der Glycokalix gespeicherten Information erfolgt durch nicht-kovalente Wechselwirkung mit anderen Biomolekülen.^[8-10] Diesen Prozess kann man als molekulare Erkennung unter Beteiligung von Glycanstrukturen bezeichnen. In der Terminologie der molekularen Erkennung wird derjenige Teil einer biologischen Einheit, der zur Wechselwirkung mit einem Bindungspartner notwendig ist, Epitop genannt. Im Falle von Zuckern spricht man entsprechend von Kohlenhydratepitopen. Die interagierenden Bindungspartner werden als Rezeptor und Ligand bezeichnet, wobei der erste Begriff in der Regel für die größere Einheit verwendet wird (meistens Proteine); die Nomenklatur ist hier aber nicht immer einheitlich. Die Beteiligung von Glycanstrukturen bzw. Glycokonjugaten in der molekularen Erkennung ist sehr vielgestaltig und in Abbildung 3 als anschaulicher Cartoon zusammengefasst. Als Glycokonjugate bezeichnet man allgemein Verbindungen, die aus einer Kohlenhydratstruktur (dem Glycan) und einer aus einer anderen Naturstoffklasse stammenden Einheit (dem Aglycon) aufgebaut sind.

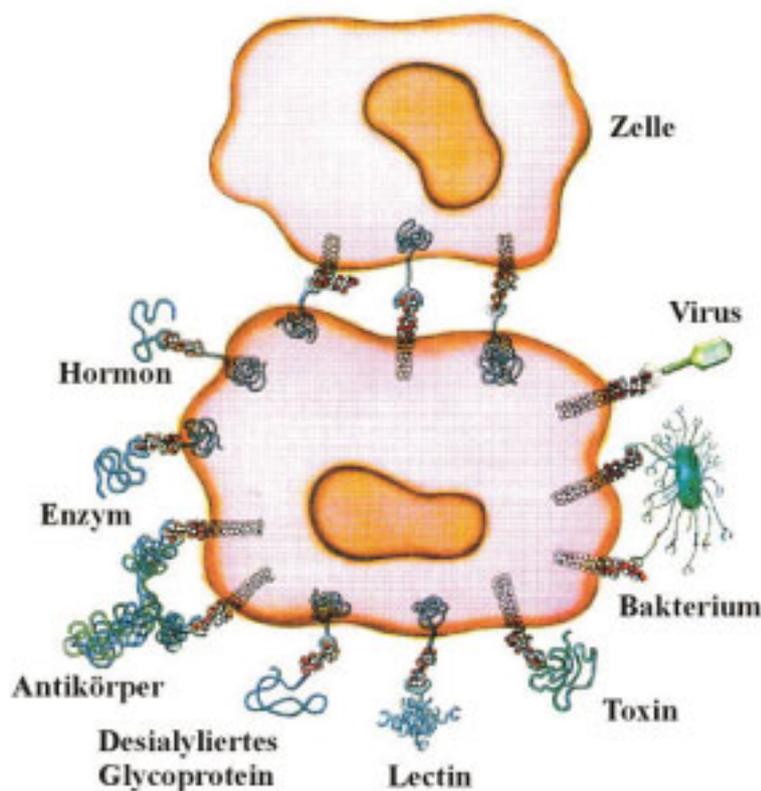


Abbildung 3: Molekulare Erkennung durch Glycokonjugate an Zelloberflächen.^[11]

Glycane dienen auf der Zelloberfläche als Rezeptorstellen für Enzyme, Hormone, Antikörper, Lektine (kohlenhydratbindende Proteine), Toxine sowie für ganze Mikroorganismen wie Bakterien oder Viren.^[12] Außerdem spielen sie eine wichtige Rolle bei der Kommunikation von Zellen untereinander, d.h. bei Zell-Zell-Erkennungs- und Adhäsionsprozessen. Hierzu gehören physiologische und pathologische Prozesse im Verlauf von Befruchtung, Zellentwicklung- und differenzierung, Aggregation zu Geweben und Organen (Morphogenese) und Immunabwehr. Zu letztgenanntem Bereich gehören unter anderem die Rekrutierung von Leukozyten zu Entzündungsherden und das Erkennen von befallenen Zellen bei bakteriellen oder viralen Infektionen oder von Krebszellen. Auf die Rolle von Kohlenhydraten bei zellulären Erkennungs- und Adhäsionsprozessen wird in Abschnitt 1.1.4 näher eingegangen.

1.1.3 Polyvalente Wechselwirkungen

Das Bindungsgleichgewicht eines Liganden an seinen zugehörigen Rezeptor



wird durch die zugehörige Bindungskonstante K quantitativ charakterisiert, die über die Konzentrationen der beteiligten Bindungspartner im Gleichgewicht definiert ist:

$$K = \frac{[\text{Rezeptor - Ligand - Komplex}]}{[\text{Rezeptor}][\text{Ligand}]}$$

Polyvalente Wechselwirkungen (auch multivalente Wechselwirkungen genannt) zeichnen sich durch die gleichzeitige Bindung mehrerer Liganden einer biologischen Einheit an mehrere Rezeptoren einer anderen biologischen Einheit aus.^[13, 14] Sie treten auf bei der Bindung von Viren oder Bakterien an ihre Wirtszelle und bei der Ausbildung von Zell-Zell-Kontakten, ferner bei der Bindung von Zellen an Moleküle mit mehreren Bindungsstellen (polyvalente Moleküle, z.B. Antikörper oder Toxine) oder schließlich bei der Bindung polyvalenter Moleküle aneinander (z.B. Transkriptionsfaktoren und DNA). Die genannten Bindungen werden auf molekularer Ebene durch mehrere nicht-kovalente Rezeptor-Ligand-Wechselwirkungen vermittelt. Einzelne Rezeptor-Ligand-Paare besitzen in der Regel nur eine geringe, jedoch selektive Affinität zueinander; durch das Zusammenwirken vieler gleichartiger Bindungspartner im passenden räumlichen Abstand lassen sich dagegen starke und selektive Bindungen erhalten. Kurz gesagt lassen sich durch polyvalente Wechselwirkungen viele einzeln betrachtet schwache Affinitäten zu einer festen, selektiven Bindung verstärken.

Polyvalente Wechselwirkungen sind außerdem entropisch begünstigt, da ein größerer Verlust an Entropie nur durch das Bindungsereignis zwischen der ersten Ligand- und Rezeptoreinheit hervorgerufen wird (Zusammenlagerung zweier Teilchen zu einem Komplex), nicht aber durch die Ausbildung weiterer Bindungen durch benachbarte Ligand-Rezeptor-Paare.

Das Phänomen der Polyvalenz ist dabei unabhängig von der Kooperativität einer Wechselwirkung zu sehen; eine polyvalente Wechselwirkung kann, muss aber nicht notwendigerweise positiv kooperativ (synergistisch, allosterisch) sein. Von einem kooperativen Effekt spricht man, wenn die Bindung eines Liganden die Bindung weiterer Liganden begünstigt, z.B. durch Konformationsänderung des Rezeptors nach der Bindung des ersten Liganden.

Polyvalenz wird durch das Verhältnis der Affinität des multivalenten Rezeptors zur Affinität der monovalenten Bindung definiert, den Verstärkungsfaktor β . Eines der am besten untersuchten polyvalenten Bindungssysteme ist die Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkung zwischen Sialinsäure und Hämagglutinin, die bei der Anlagerung des Influenzaviruses an die bronchiale Epithelzelle auftritt.^[13] Während die Bindungskonstante zwischen einem einzelnen Sialinsäuremolekül und einem einzigen Hämagglutinin-Rezeptor $K = 4 \cdot 10^2 \text{ L mol}^{-1}$ beträgt, ist diejenige zwischen Influenzavirus und Wirtszelle auf mindestens $K \approx 10^{13} \text{ L mol}^{-1}$ geschätzt worden. Damit ergibt sich für den Verstärkungsfaktor β

$$\beta = \frac{10^{13} \text{ L mol}^{-1}}{4 \cdot 10^2 \text{ L mol}^{-1}} \approx 10^{10}.$$