

Zusammenfassung

Das Verständnis der Dynamik der zellulären Prozesse erfordert neue Methoden zur Beobachtung und Manipulation von Proteinen und deren Verhalten, so dass auf diesem Wege die zeitlichen und örtlichen Prozesse verfolgt werden können. Deswegen ist die Chemische Biologie unverzichtbar, weil nur mit ihrer Methodik maßgeschneiderte Proben hergestellt werden können.

Tiefgehende Einsichten können nur auf molekularer Ebene erlangt werden, so dass die Chemie hier unabdingbar ist. Im Rahmen dieser Dissertation ist es gelungen mit einem kombinierten Ansatz molekularbiologischer Methoden und Organischer Chemie semisynthetische Proteine herzustellen, die zur Aufklärung dynamischer, zellulärer Prozesse führten. Dabei wurden gentechnisch hergestellte Proteinfragmente mit chemisch synthetisierten Peptiden ligiert. Letztere enthielten native posttranslationale sowie weitere unnatürliche Modifikationen. Des Weiteren wurden Peptide synthetisiert, die aus nicht natürlichen D-konfigurierten oder β -Aminosäuren bestanden.

Unter Verwendung dieser semisynthetischen Proteine ist es auch gelungen, Einblicke in den bislang nur unzureichend verstandenen Mechanismus der zellulären Palmitoylierung zu erhalten. Für diese Untersuchungen wurden einerseits native Proteine (Abbildung 1) wie auch nicht native Proteine (Abbildung 2) generiert.

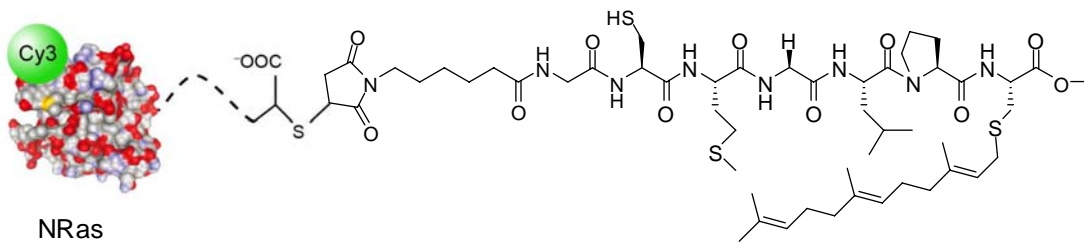


Abbildung 1: Semisynthetisches N-Ras-Protein (Far-Protein), nativ

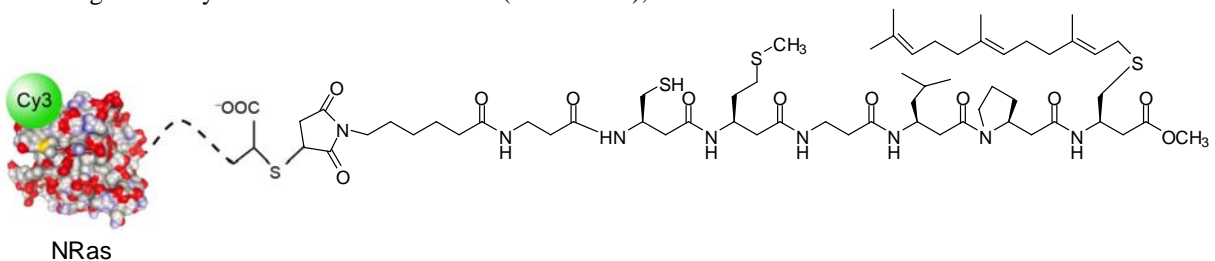


Abbildung 2: Semisynthetisches N-Ras-Protein (β -Far-Protein), nicht nativ

Mit Hilfe dieser Proben konnte gezeigt werden, dass Palmitoylierung ausschließlich an der Oberfläche des Golgi Apparats stattfindet, nicht aber an anderen Membransystemen, wie z.B. der Plasmamembran. Zudem ergab sich, dass die Palmitoylierung in einem Zeitrahmen von Sekunden abläuft und nicht in Stunden, wie vorher angenommen. Ferner konnte gezeigt werden, dass die Depalmitoylierung überall in der Zelle und nicht lokal begrenzt stattfinden muss und dass auch dieser Prozess innerhalb von Sekunden stattfindet und damit mit einer um mehrere Größenordnungen schnelleren Kinetik als bisher angenommen.

Für die Synthese der β -Lipopeptide wurde das Tenta Gel R PHB Harz evaluiert. Basierend auf diesem Linker wurde die Synthese für β -Lipopeptide etabliert. Es wurden im Rahmen dieser Arbeit β -Lipopeptideanaloge der N-Ras-Sequenz mit sowohl einem Farnesylrest synthetisiert, wie auch mit einem Farnesyl- und einem Palmitoylrest. Dabei wurde die Sequenz vom C-terminalen β -Prolin aufgebaut. Nach der Abspaltung des β -Peptids wurde es in Lösung an das β -Cysteinderivat gekuppelt.

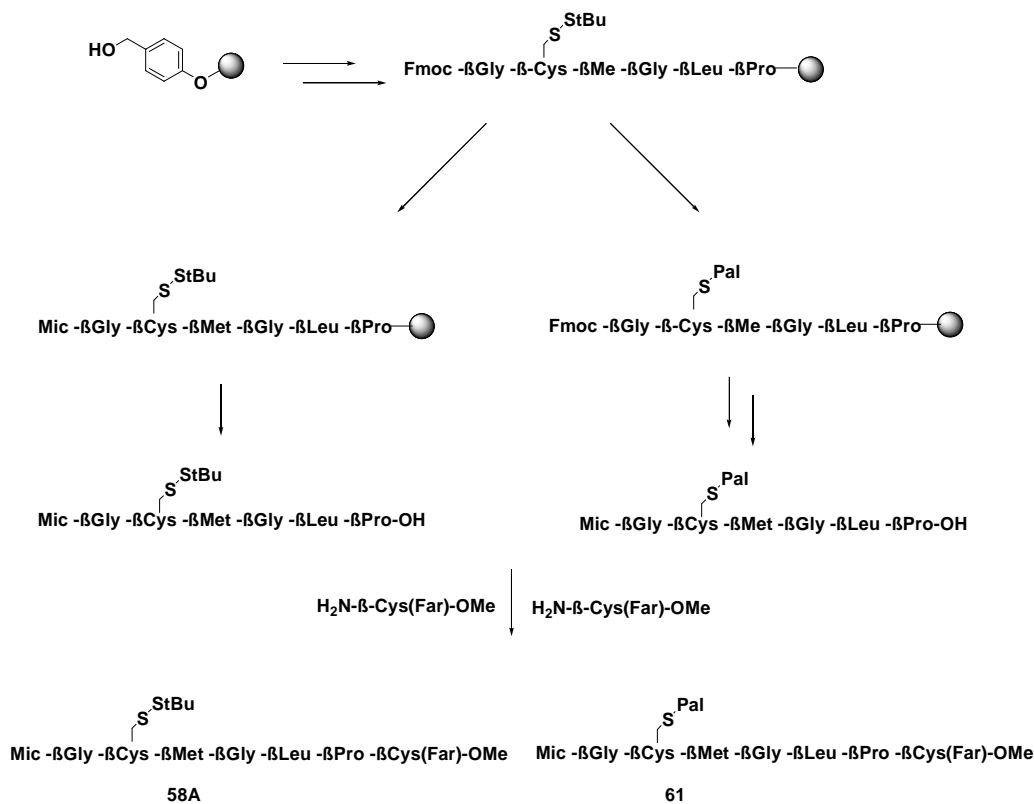


Abbildung 100: Synthese der β -Peptide: a) Route für die analoge N-Ras-Sequenz, b) Palmitoylierung an fester Phase