

Inhaltsverzeichnis

1	<u>EINLEITUNG</u>	1
1.1	ERBLICHE STOFFWECHSELSTÖRUNGEN	1
1.2	GLYKOSPHINGOLIPIDE	3
1.3	GLYKOSPHINGOLIPID-SPEICHERKRANKHEITEN	4
1.4	β -HEXOSAMINIDASE UND GM2-GANGLIOSIDosen	5
1.4.1	GM2-GANGLIOSIDosen: TAY-SACHS UND SANDHOFF-KRANKHEIT	5
1.4.2	BIOSYNTHESE UND PROZESSIERUNG DER β -HEXOSAMINIDASE	6
1.4.3	SUBSTRATSPEZIFITÄT UND KATALYTISCHE AKTIVITÄT DER β -HEXOSAMINIDASE	8
1.4.4	STRUKTUR UND MECHANISMUS DER β -HEXOSAMINIDASE	8
1.5	SPHINGOLIPID-AKTIVATORPROTEINE	9
1.6	AUFGABENSTELLUNG	10
1.7	GLIEDERUNG DIESER ARBEIT	11
2	<u>MATERIALIEN UND METHODEN</u>	12
2.1	MATERIALIEN	12
2.1.1	EXPRESSIONSVEKTOREN UND -SYSTEME	12
2.1.2	PROTEINREINIGUNG	12
2.1.3	KRISTALLISATION	13
2.2	GERÄTE	14
2.3	EXPRESSION, REINIGUNG UND KRISTALLISATION VON HEXB	14
2.3.1	EXPRESSION UND REINIGUNG	14
2.3.2	AKTIVITÄTSBESTIMMUNG	14
2.3.3	KRISTALLISATION	15
2.4	EXPRESSION, REINIGUNG UND KRISTALLISATION VON SAPC UND SAPD	16
2.4.1	EXPRESSION VON SAPC UND SAPD	16
2.4.2	KRISTALLISATION VON SAPC UND SAPD	18
2.5	KRISTALLOGRAPHISCHE METHODEN	18
2.5.1	VORBEREITEN VON KRISTALLEN ZUR RAUMTEMPERATUR-MESSUNG	18
2.5.2	VORBEREITEN VON HEXB-KRISTALLEN ZUR TIEFTEMPERATUR-MESSUNG	18
2.5.3	VORBEREITEN VON SAP-KRISTALLEN ZUR TIEFTEMPERATUR-MESSUNG	19
2.5.4	DERIVATISIERUNG VON HEXB KRISTALLEN MIT SCHWERATOMEN	19
2.5.5	DERIVATISIERUNG VON SAPD-KRISTALLEN MIT SCHWERATOMEN	20
2.5.6	KRISTALLOGRAPHISCHE DATENSAMMLUNG	20
2.6	STRUKTURBESTIMMUNG VON HEXB NACH DER MIRAS-METHODE	21
2.6.1	DAS PHASENPROBLEM	21
2.6.2	THEORIE DER EXPERIMENTELLEN LÖSUNG DES PHASENPROBLEMS	22
2.6.3	BESTIMMUNG VON SCHWERATOMLAGEN UND PHASIERUNG	28
2.6.4	DICHTEMODIFIKATION ZUR PHASENVERBESSERUNG	28
2.6.5	MODELLBAU	29

2.7 STRUKTURBESTIMMUNG VON SAPD DURCH MOLEKULAREN ERSATZ	29
2.8 MODELLVERFEINERUNG	30
2.8.1 VERFEINERUNG DES HEXB-MODELLS	30
2.8.2 VERFEINERUNG DES SAPD-MODELLS	31
2.9 MODELLANALYSE	32
2.10 KLEINWINKEL-RÖNTGENSTREUUNG	32
2.10.1 THEORIE DER KLEINWINKEL-RÖNTGENSTREUUNG	32
2.10.2 PROBENVORBEREITUNG	36
2.10.3 DATENSAMMLUNG UND AUSWERTUNG	37
<u>3 ERGEBNISSE ZUR HEXOSAMINIDASE B</u>	<u>38</u>
3.1 KRISTALLISATION VON HEXB	38
3.2 SCHWERATOMDERIVATISIERUNG VON HEXB-KRISTALLEN	40
3.3 STRUKTURBESTIMMUNG VON HEXB MIT DER MIRAS-METHODE	42
3.4 MODELLBAU UND VERFEINERUNG	45
3.5 FALTUNG VON HEXB	47
3.6 STRUKTURVERWANDTE VON HEXB	49
3.7 DER KATALYTISCHE MECHANISMUS VON HEXB	50
3.8 OLIGOMERSTRUKTUR VON HEXB IM KRISTALL	55
3.8.1 ANALYSE DER KRISTALLPACKUNG	55
3.9 DIMERE STRUKTUR VON HEXB	61
3.9.1 DIMERKONTAKTFLÄCHE	61
3.9.2 AKTIVES ZENTRUM UND SUBSTRATBINDESTELLE IM HEXB-DIMER	62
3.10 KRANKHEITSASSOZIIERTE MUTATIONEN IN HEXB	63
3.10.1 MUTATION SER62LEU: INFANTIL AKUTE SANDHOFF-KRANKHEIT	65
3.10.2 MUTATION PRO417LEU: CHRONISCHE SANDHOFF-KRANKHEIT	66
3.10.3 MUTATION TYR456SER: CHRONISCHE SANDHOFF-KRANKHEIT	66
3.10.4 MUTATION PRO504SER UND ARG505GLN: CHRONISCHE SANDHOFF-KRANKHEIT	68
3.10.5 MUTATION CYS534TYR: INFANTIL AKUTE SANDHOFF-KRANKHEIT	69
3.10.6 MUTATION ALA543THR: HITZELABILE HEXB	71
3.11 RÖNTGEN-KLEINWINKELSTREUUNG: OLIGOMERSTRUKTUR VON HEXB IN LÖSUNG	71
3.11.1 PRIMÄRE DATENPROZESSIERUNG	71
3.11.2 ANPASSUNG BERECHNETER STREUKURVEN	74
3.11.3 ANPASSUNG DES KRISTALLOGRAPHISCHEN MODELLS AN DIE STREUDATEN	76
3.11.4 <i>AB INITIO</i> FORMVORHERSAGE	78
3.11.5 ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE DER KLEINWINKEL-RÖNTGENSTREUUNG	82
3.11.6 KONTAKTFLÄCHEN IM TETRAMER	83
3.12 ANSÄTZE ZU WEITEREN ARBEITEN ZU HEXB	86
<u>4 ERGEBNISSE ZU SAPC UND SAPD</u>	<u>89</u>
4.1 KRISTALLISATION VON SAPC	89

4.2 KRISTALLISATION UND DERIVATISIERUNG VON SAPD	92
4.3 STRUKTURAUFKLÄRUNG VON SAPD	95
4.4 DIE FALTUNG VON SAPD	98
4.5 VERGLEICH DER STRUKTUREN VON SAPD UND IODO-SAPD	101
4.6 STRUKTURVERGLEICH VON SAPD MIT HOMOLOGEN PROTEINEN	107
4.7 LADUNGSVERTEILUNG UND LIPID-INTERAKTION SAP-ÄHNLICHER PROTEINE	112
4.8 ANSÄTZE ZU WEITEREN ARBEITEN ZUM MECHANISMUS SAP-ÄHNLICHER PROTEINE	118
<u>5 RESÜMEE UND AUSBLICK</u>	<u>120</u>
<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	<u>123</u>
<u>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</u>	<u>133</u>
<u>TABELLENVERZEICHNIS</u>	<u>135</u>
<u>ANHANG</u>	<u>136</u>
<u>LEBENS LAUF</u>	<u>140</u>
<u>PUBLIKATIONEN UND VORTRÄGE</u>	<u>141</u>