

2 Abkürzungsverzeichnis/Definitionen

2.1 Abkürzungsverzeichnis

AS	Aminosäure
β A	β -Alanin
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
CD	Zirkulardichroismus (<i>circular dichroism</i>)
Cha	Zylohexylalanin (<i>cyclohexylalanine</i>)
C-Terminus	Carboxy-Ende in Peptiden oder Proteinen
DBU	1,8-Diazabicyklo[5.4.0]undec-7-en
DCM	Dichlormethan
DIC	Diisopropylcarbodiimid
DIPA	N-Ethyl-diisopropylamin
DMA	Dimethylacetamid
DMF	Dimethylformamid
ϵ	Extinktionskoeffizient
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EEDQ	2-Ethoxy-1-ethoxycarbonyl-1,2-dihydrochinolin
eq.	equivalent
ESI-TOF	Elektronensprayionisations-Flugzeit (<i>electron spray ionization-time of flight</i>)
Fmoc	9-Fluorenylmethyloxycarbonyl
HATU	O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluronium- hexafluorophosphat
HBTU	2-(1H-Benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium- hexafluorophosphat
HOBT	1-Hydroxybenzotriazol
HRP	Meerrettich-Peroxidase (<i>horseradish-peroxidase</i>)

ITC	Isothermische Titrations-Kalorimetrie (<i>isothermal titration calorimetry</i>)
K _d	Dissoziationskonstante
MALDI-TOF	Matrix-unterstützte Laserdesorbptions/Ionisations-Flugzeit (<i>matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight</i>)
MTBE	Methyl- <i>tert</i> -butylether
NMI	<i>N</i> -Methylimidazol
NMM	<i>N</i> -Methylmorpholin
NMP	<i>N</i> -Methylpyrrolidon
NMR	Kernspinresonanz (<i>nuclear magnetic resonance</i>)
MS	Massenspektrometrie
N-Terminus	Amino-Ende in Peptiden oder Proteinen
Pbf	2,2,4,6,7-Pentamethyldihydrobenzofuran-5-sulfonyl
PDB	Proteindatenbank
Pfp	Pentafluorphenyl
ppm	Teile pro Million (<i>parts per million</i>)
PyBOP	(1H-Benzotriazol-1-yl-oxy)-tris(pyrrolidino)phosphonium- hexafluorophosphat
RP-HPLC	Umkehrphasen-Hochleistungs-Flüssigchromatographie (<i>reversed-phase high-performance liquid chromatography</i>)
rpm	Umläufe pro Minute (<i>rounds per minute</i>)
RT	Raumtemperatur
SMART	<i>simple modular architecture research tool</i>
SPOT-Synthese	Methode zur Synthese zellulosegebundener Peptidbibliotheken, wobei jedes Peptid als Punkt (<i>spot</i>) definiert ist
SPPS	Festphasenpeptidsynthese (<i>solid phase peptide synthesis</i>)
SPR	Oberflächen-Plasmon-Resonanz (<i>surface plasmon resonance</i>)
TBS	TRIS-gepufferte Salzlösung (<i>TRIS buffered saline</i>)
TBTU	<i>O</i> -Benzotriazol- <i>N,N,N',N'</i> -tetra(methyluronium)- tetrafluoroborat
<i>t</i> Bu	<i>tert</i> -Butyl
TFA	Trifluoressigsäure
TIBS	Triisopropylsilan
TRIS	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
Trt	Trityl
UV	ultraviolett
WW-Domäne	Proteindomäne, deren Name sich von den zwei konservierten Tryptophanen ableitet
wt	Wildtyp

Gencodierte Aminosäuren:

Aminosäure	Einbuchtabencode	Dreibuchstabencode
Alanin	A	Ala
Arginin	R	Arg
Asparagin	N	Asn
Aspartat	D	Asp
Cystein	C	Cys
Glutamat	E	Glu
Glutamin	Q	Gln
Glycin	G	Gly
Histidin	H	His
Isoleucin	I	Ile
Leucin	L	Leu
Lysin	K	Lys
Methionin	M	Met
Phenylalanin	F	Phe
Prolin	P	Pro
Serin	S	Ser
Threonin	T	Thr
Tryptophan	W	Trp
Tyrosin	Y	Tyr
Valin	V	Val

2.2 Definitionen

Kennzeichnung einer Mutation in einem Peptid

Diese erfolgt mittels Nennung der ursprünglichen AS (Aminosäure) in dieser Position, gefolgt von der Positionsnummer und der neuen AS. Bsp: **D15N** (Aspartat an Position 15 wurde gegen Asparagin ausgetauscht). Erfolgt eine Mutation eines Pseudoprolinbausteines, wird diese folgendermaßen gekennzeichnet: **KT(12,13)E** (der Pseudoprolinbaustein, der am Ende der Synthese die Sequenz Lysin-Threonin an der Position 12 und 13 bildet, wird durch die AS Glutamat ausgetauscht).

Domänenbezeichnung FBP28-D15N (4-37) WW-Domäne

heißt FBP28 WW-Domäne von Position 4 bis 37 mit der Mutation Asn für Asp an der Position 15.

Pepscan

heißt Abtasten einer Peptidsequenz mittels Verschieben einer bestimmten Peptidlänge (z.B. 12mer) entlang dieser Sequenz mit einer bestimmten Verschiebungsrate (z.B. 3 AS).

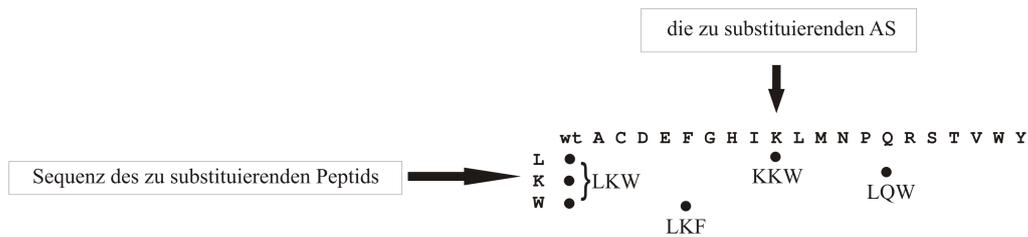
Längenanalyse

bedeutet ein Verkürzen der zu untersuchenden Sequenz vom N-Terminus (Aminoende in Peptiden oder Proteinen) und/oder C-Terminus (Carboxyende in Peptiden oder Proteinen) bis zu einer vorher festgelegten Länge. Damit kann festgestellt werden, bis zu welcher Länge des entsprechenden Peptids eine Bindung zu detektieren ist.

Substitutionsanalyse

heißt Austausch jeder Position des Peptids gegen jede natürliche AS. Dabei repräsentiert die erste Spalte der Spot-Bibliothek den Wildtyp (wt) des Peptids und jede weitere Spalte Einzelaustauschmutanten der jeweiligen natürlichen AS (Ala, Cys, Gly usw...) in jeder Position des Peptids. Jeder schwarze Punkt bedeutet Bindung des inkubierten, markierten Liganden an dem Peptid auf der Membran.

A)



B)

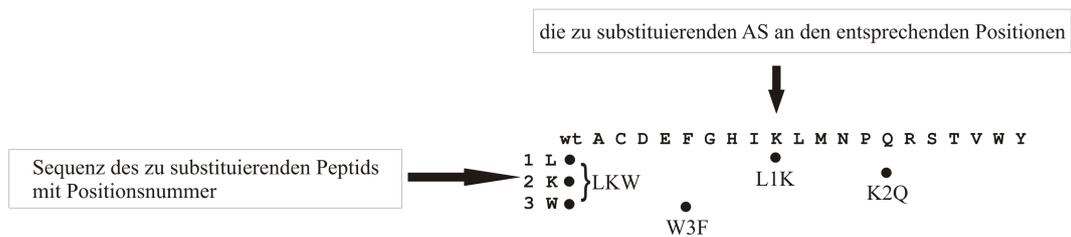


Abbildung 2.1: Schematische Darstellung einer Substitutionsanalyse. Schwarze Punkte repräsentieren Sequenzen, an die ein markierter Ligand gebunden hat. Jede Position der Sequenz des Peptids (hier LKW) wird durch alle natürlichen AS ausgetauscht, so dass ein Raster an Einzelmutanten entsteht. Die erste Spalte repräsentiert den wt (hier LKW).

A) soll verdeutlichen, welche Sequenz die Peptide nach der Substitution haben

B) soll die Bezeichnung der Peptide zeigen

Schlüsselmotiv

bezeichnet einen Bereich z.B. in einem Peptid-Liganden, dessen AS nicht oder kaum austauschbar sind (geringe Variabilität gegen Austausch). Dies ist ein Hinweis auf eine spezifische Bindung an entsprechenden Protein über dieses Schlüsselmotiv.

Doppelaustausche

zeichnen sich dadurch aus, dass zwei Positionen B ausgewählt (Bsp: B₁PPP₂) und anschließend durch alle gencodierten AS ersetzt werden. Bei 20 AS resultiert daraus eine Bibliothek von 400 Doppelmутanten.

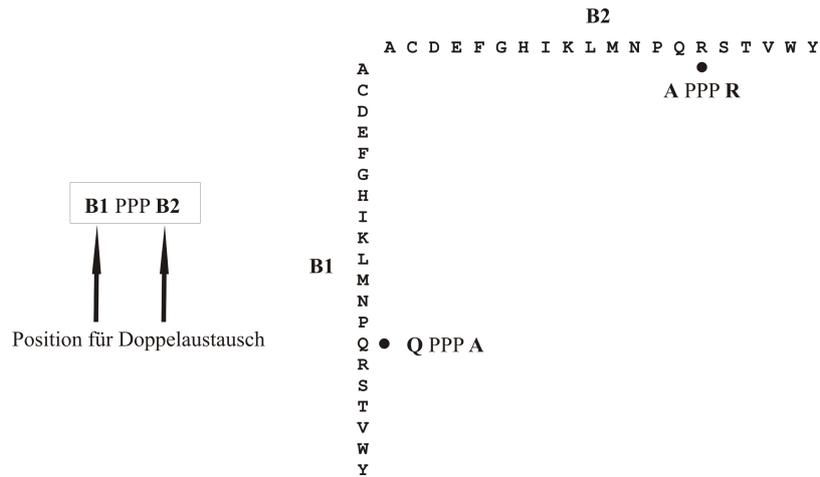


Abbildung 2.2: Schematische Darstellung eines Doppelaustausches. Schwarze Punkte repräsentieren Sequenzen, an die ein markierter Ligand gebunden hat. **B1** ist die erste Position, die durch alle natürlichen AS ausgetauscht wird (vertikal aufgetragen). **B2** ist die zweite Position, die durch alle natürlichen AS ausgetauscht wird (horizontal aufgetragen). An jeder Position des Rasters entsteht so eine Mutante mit je zwei Austauschen.