
Inhaltsverzeichnis

	INHALTSVERZEICHNIS	3
	VERZEICHNIS DER ABBILDUNGEN UND TABELLEN	6
	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	8
1.	EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG	11
2.	SCHRIFTTUM	12
2.1	Myristoylierung	14
2.1.1	Funktionen der Myristoylierung	14
2.1.2	Mechanismen der Myristoylierung	17
2.2	Palmitoylierung	19
2.2.1	Palmitoylierte Proteine	19
2.2.2	Funktionen der Palmitoylierung	23
2.2.3	Mechanismen der Palmitoylierung	29
2.2.3.1	Fettsäure-Substrat	29
2.2.3.2	Art und Zeitpunkt der Bindung	30
2.2.3.3	Die Enzymologie der Palmitoylierung	32
2.2.3.4	Nicht-enzymatische Mechanismen	37
2.2.3.5	Enzymatische Depalmitoylierung	40
2.2.3.6	Strukturelle Voraussetzungen für die Palmitoylierung	44
2.2.3.6.1	Periphere Membranproteine	45
2.2.3.6.2	Integrale Membranproteine	49
2.3	Kurze Darstellung der in dieser Arbeit untersuchten Proteine	55
2.3.1	Fusionsprotein des Sendai-Virus	55
2.3.2	Hämagglutinin des Influenza A-Virus	57
2.3.3	CD4- und CD8-Rezeptorproteine	62
2.3.3.1	CD4	63
2.3.3.2	CD8	66
3.	MATERIAL UND METHODEN	67
3.1	Material	67
3.1.1	Zellkultur	67
3.1.2	Zell-Linien	67
3.1.3	Isotope und Oligonukleotide	68

3.1.4	Enzyme	68
3.1.5	Kits	68
3.1.6	Weitere Reagenzien	69
3.1.7	Geräte	69
3.1.8	Dokumentation	70
3.2	Methoden	70
3.2.1	Erstellung von Chimären und Mutanten	70
3.2.1.1	Overlap Extension-PCR	70
3.2.1.2	Agarose-Gelelektrophorese	72
3.2.1.3	Isolierung und Aufreinigung von der DNA	74
3.2.2	Klonierung	75
3.2.2.1	Restriktionsenzym-Verdau	75
3.2.2.2	Ligation	75
3.2.2.3	Kompetente Bakterienzellen	75
3.2.2.4	Transformation	76
3.2.2.5	Plasmidisolierung	76
3.2.2.6	Kontrolle der Klonierung	77
3.2.2.7	Sequenzierung	77
3.2.3	Protein-Expression	78
3.2.3.1	Zellkultur mit CV1-Zellen	78
3.2.3.2	Vacciniavirus-Expressionssystem	79
3.2.4	Protein-Charakterisierung	80
3.2.4.1	Metabolische Markierung mit [³⁵ S]-Methionin und [³ H]-Palmitinsäure	80
3.2.4.2	Quantifizierung des [³⁵ S]- und [³ H]- Einbaus	81
3.2.4.3	Endoglykosidase-Verdau	81
3.2.4.4	Indirekte Immunfluoreszenz	82
3.2.4.5	Durchflusszytometrie	82
3.2.5	Statistische Auswertung	83
3.3	Zusammensetzung der verwendeten Puffer und Medien	84
4	ERGEBNISSE	86
4.1	Einfluss der Transmembranregion auf die Palmitoylierung	86
4.1.1	Erstellung verschiedener Chimären aus palmitoylierten und nicht-palmitoylierbaren Proteinen	86
4.1.2	Expression der Chimärenproteine und Markierung mit [³ H]-Palmitinsäure	89

4.1.3	Kontrolle der Unterschiede in Transport und Prozessierung	91
4.1.3.1	Kontrolle der Glykosylierung	91
4.1.3.2	Durchflusszytometrie	92
4.1.3.3	Indirekte Immunfluoreszenz	93
4.1.4	Vergleich der helikalen Anordnung und der Hydrophobizität der Transmembransegmente	95
4.2	Einfluss spezifischer Aminosäuren	100
4.2.1	Sequenzvergleich palmitoylierter Polypeptide	100
4.2.2	Einfluss der Aminosäuren Glycin und Phenylalanin	103
4.2.2.1	Chimäre F-CD4-F _{Cys}	103
4.2.2.2	Chimäre F-HA ¹ -F _{Cys}	105
4.2.2.3	Kontrolle der Unterschiede in Transport und Prozessierung	107
5	DISKUSSION	109
5.1	Der Einfluss der Transmembranregion auf die Palmitoylierung	109
5.2	Unterschiede in der Prozessierung und Funktion	111
5.3	Die Bedeutung der Aminosäure Glycin für die Palmitoylierung	114
5.4	Gibt es eine Konsensus-Sequenz?	118
5.5	Ausblick	123
6	ZUSAMMENFASSUNG	125
7	SUMMARY	126
8	LITERATURVERZEICHNIS	127
	VERÖFFENTLICHUNGEN	160
	DANKSAGUNG	161
	CURRICULUM VITAE	162
	SELBSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG	163