

1.5 Zielsetzung der Arbeit

Sialinsäuren bestimmen als endständige Zuckermoleküle der Oligosaccharidseitenketten von Glycokonjugaten in vielfältiger Form die biologische Funktion ihrer präsentierenden Zellen im Säugerorganismus. Biosynthetischer Vorläufer aller Sialinsäuren ist die Neu5Ac, die in fünf enzymatischen Schritten aus UDP-GlcNAc synthetisiert wird. Die ersten beiden spezifischen Enzymschritte werden von der bifunktionellen UDP-GlcNAc-2-Epimerase/ManNAc-Kinase (GNE), dem Schlüsselenzym der Sialinsäurebiosynthese katalysiert. Um einen besseren Einblick in die Funktionsweise und Regulation des Enzyms zu bekommen, sind Strukturinformationen von immenser Bedeutung. Für derartige Strukturuntersuchungen werden von der UDP-GlcNAc-2-Epimerase/ManNAc-Kinase mg-Mengen in reiner Form benötigt. Daher sollte im Rahmen dieser Arbeit versucht werden, rekombinante UDP-GlcNAc-2-Epimerase/ManNAc-Kinase aus Insektenzellen zu reinigen. Des Weiteren sollten mit biophysikalischen Methoden die Sekundär-, Tertiär- und Quartärstruktur des Enzyms untersucht werden. Um ein besseres Verständnis der Epimerisierungsreaktion und der beteiligten Aminosäuren zu ermöglichen, sollten zudem Punktmutanten im putativen katalytischen Zentrum der UDP-GlcNAc-2-Epimerase-Domäne generiert und charakterisiert werden. Zusätzlich sollte geklärt werden, ob enzymatische bzw. strukturelle Veränderungen bei Punktmutanten der erblichen Muskelschwäche HIBM mögliche Ursache der Krankheit sind. Hauptziel der Arbeit sollte sein, die Basis für die Kristallisation des Gesamtzyms bzw. seiner einzelnen Domänen und die anschließende atomare Strukturaufklärung mittels Röntgenstrukturanalyse zu bereiten.