

1.5. Zielsetzung der Arbeit

1.5.1. N-Glykan-Modifikation

Der Abbau von Glykoproteinen ist abhängig von der Oligosaccharid-Sialylierung. Diese wird durch die Aktivität von Sialidasen beeinflusst und sollte im Rahmen dieser Arbeit untersucht werden. Hierfür waren die Analoga 2-Desoxy-Galactose und N-Acyl-mannosamine in der Kultur verschiedener Zelllinien zu verwenden und in isolierten Glykane nachzuweisen. Durch die Quantifizierungen konnten die Einbauraten der unphysiologischen Monosaccharide bestimmt werden, die die Auswahl einer optimalen Zelllinie für die nachfolgenden Versuche zuließ. Weiterhin waren Veränderungen der Halblebenszeiten nach Sialidase-Behandlungen zu charakterisieren. Der Vergleich zwischen nativen N-Glykanen und Oligosacchariden mit nicht-physiologischen Analoga sollte deren mögliche Anwendung klären bzw. die Bedingungen der Supplementations-Methodik festlegen.

1.5.2. Analytik von Glykanen

Die Verwendung von Glykoprotein-Standards für die Optimierung von Isolierungen und Charakterisierungen der Glykane war Voraussetzung der Probenverwendung aus den Glykan-Modifikationen. Die Anwendung von HPLC- und MALDI-TOF-MS-Methoden sollte für definierte Arbeitsziele angepasst werden. Die ESI-IonTrap-MS-Technik und die damit verbundene Analyse der Glykan-Strukturen mittels Fragmentierung war zu etablieren. Die Interpretation der Massenspektrometrie-Daten und die Berechnung von Glykan/Peptid-Massen sollte mit neuen Anwendungen vereinfacht und die Archivierung der Resultate auf Basis einer Datenbank ermöglicht werden.