

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	III
1. Einleitung.....	1
2. Theoretischer Teil.....	3
2.1. Adhäsionskaskade der Leukozyten im Entzündungsprozeß	3
2.2. Selektine: Struktur und Funktion	4
2.2.1. L-Selektin.....	6
2.2.2. P-Selektin	7
2.2.3. E-Selektin.....	8
2.2.4. Signaltransduktion durch Selektine	9
2.3. Selektinliganden.....	10
2.3.1. P-Selektin Glykoprotein-1	13
2.3.2. E-Selektin Liganden	14
2.3.3. L-Selektin Liganden	14
2.3.4. Bindungseigenschaften/Multivalenzhypothese	15
2.4. Der Zellrollprozeß.....	17
2.4.1. Flußbedingungen in Blutgefäßen.....	17
2.4.2. Beobachtungen <i>in-vivo</i>	20
2.4.3. Beobachtungen <i>in-vitro</i>	22
2.5. Ziel dieser Arbeit	24
3. Materialien und Methoden.....	26
3.1. Modellmembranen und Chemikalien.....	26
3.1.1. Trägermaterialien und Reinigung.....	26
3.1.2. Membranlipide und Concanavalin A.....	26
3.1.3. Glykolipide.....	27
3.1.4. P-Selektin	27
3.2. Zellkultivation.....	27
3.3. Immuno-Goldmarkierung und Präparation für Elektronenmikroskopie	28
3.4. Kunststoffpartikel.....	28

3.5.	Liposomenpräparationen	29
3.6.	Vesikelfusion	29
3.7.	Self-Assembling	29
3.8.	Langmuir-Blodgett-Technik	30
3.9.	Ellipsometrie	31
3.10.	Rasterkraft Mikroskopie (AFM)	31
3.11.	Zyklovoltammetrie	32
3.12.	Zellrollexperimente	33
3.12.1.	Aufbau der Durchflußapparatur	33
3.12.2.	Durchführung der Rollexperimente	33
3.12.3.	Laser-Scanning-Mikroskopie	34
4.	Ergebnisse und Diskussion	35
4.1.	Entwicklung eines dynamischen Modellsystems	35
4.1.1.	Simulierung der Entzündungsbedingungen	35
4.1.2.	Die Durchflußapparatur	37
4.1.3.	Herstellung der Modellmembranen	39
4.1.3.1.	Self-Assembling-Technik	39
4.1.3.2.	Vesikelfusionstechnik	41
4.1.3.3.	Langmuir-Blodgett-Technik	43
4.1.4.	Das Adhäsionsverhalten von Modellzellen in der Durchflußkammer	47
4.2.	Zellrollexperimente	52
4.2.1.	Einfluß der Ligandenverteilung und -konzentration	56
4.2.2.	Einfluß des Schergrades	66
4.2.3.	Einfluß der Ligandenmolekülstruktur und -flexibilität	68
4.3.	Inhibierung des Zellrollens	71
5.	Zusammenfassung	79
6.	Abbildungsverzeichnis	81
7.	Literaturverzeichnis	84

Abkürzungsverzeichnis

AFM.....	Atomic Force Microscopy (Rasterkraftmikroskopie)
BSA.....	Bovine Serum Albumin (Rinderserumalbumin)
CB	Complement Binding (Komplementbindend)
CHO	Chinese Hamster Ovarial Cells (Eizellen der chinesischen Hamsterin)
CHO-E.....	E-Selektin-exprimierende CHO-Zellen
CLSM.....	Confocal Laser-Scanning-Microscope (Konfokales Laser-Scanning-Mikroskop)
ConA	Concanavalin A
DMPC	1,2-Dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholin
DMPE.....	1,2-Dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin
DPPC.....	1,2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholin
DPPE.....	1,2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin
DSPC.....	1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholin
EGF	Epidermal Growth Factor (epidermaler Wachstumsfaktor)
ESL-1	E-Selektin-Ligand-1
FAK.....	Focal Adhesion Kinase
FITC.....	Fluoresceinisothiocyanat
FRAP.....	Fluorescence Recovery After Photobleaching (Fluoreszenzwiederherstellung nach Ausbleichen)
HEV	High Endothelial Venules (kleinste endotheliale Venolen)
HUVEC	Human Umbilical Vein Endothelial Cells (humane Nabelschnurvenenzellen)
k_{off}	Dissoziationskonstante
k_{on}	Assoziationskonstante
LPS.....	Lipopolysaccharid
MAb.....	Monoclonal Antibody (monoklonaler Antikörper)
MAdCAM.....	Mucosal Adressin Cell Adhesion Molecule (mukosales Adressin Zelladhäsionsmolekül)
MAPK	Mitogen Activated Protein-Kinase
NBD-PC	1-Palmitoyl-2-[12-[(7-nitro-2-1,3 benzoxadiazol-4-yl)amido]dodecanoyl]-sn-glycero-3-phosphocholin
NBD-PE	1,2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin-N-(7-nitro-2-1,3-benzoxadiazol-4-yl)
PAF	Plättchen-aktivierender Faktor
PBG.....	Phosphate Buffer Gelatine (gelatinehaltiger Phosphatsalzpuffer)
PBS	Phosphate Buffer Saline (Phosphatsalzpuffer)
PEG	Polyethylenglykol
POPC.....	1-Palmitoyl, 2-Oleoyl -sn-glycero-3-phosphocholin
PSGL-1.....	P-Selektin Glykolipid-1
SCR	Short Consensus Repeats
sLe ^a	Sialyl LewisA
sLe ^x	Sialyl LewisX
sLe ^x -Cer.....	Sialyl Lewis ^x -Lipid mit Laktosespacer und Ceramidanker; [(2S,3R,4E)-2-amino-3-hydroxy-2(N-palmitoyl)-octadec-4-en-1-yl]-D (Kalium-5-acetamido-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galakto-2-nonulopyranosylat)-(2 \rightarrow 3)-(β -D-

- galaktopyranosyl)-(1→4)-[α-L-fucopyranosyl)-(1→3)]-2-acetamido-2-deoxy-β-D-glucopyranosyl-(1→3)-(β-D-galaktopyranosyl)-(1→4)-β-D-glucopyranosid
- sLe^x-L0..... Sialyl Lewis^x-Lipid/O Ethoxyeinheiten; (1,2-Di-O-hexadecyl-sn-3-glyceryl)-O-(triethylammonium-5-acetamido-3,5-dideoxy-D-glycero-α-D-galakto-2-nonulopyranosylonat)-(2→3)-(β-D-galaktopyranosyl)-(1→4)-[α-L-fucopyranosyl)-(1→3)]-2-acetamido-2-deoxy-β-D-glucopyranosid
- sLe^x-L3..... Sialyl Lewis^x-Lipid/3 Ethoxyeinheiten; [8-(1,2-Di-O-hexadecyl-sn-glycer-3-oxy)-3,6-dioxaoct-1yl]-O-(triethylammonium-5-acetamido-3,5-dideoxy-D-glycero-α-D-galakto-2-nonulopyranosylonat)-(2→3)-(β-D-galaktopyranosyl)-(1→4)-[α-L-fucopyranosyl)-(1→3)]-2-acetamido-2-deoxy-β-D-glucopyranosid
- sLe^x-L6..... Sialyl Lewis^x-Lipid/6 Ethoxyeinheiten; [17-(1,2-Di-O-hexadecyl-sn-glycer-3-oxy)-3,6,9,12,15-pentaoxaheptadec-1-yl]-O-(triethylammonium-5-acetamido-3,5-dideoxy-D-glycero-α-D-galakto-2-nonulopyranosylonat)-(2→3)-(β-D-galaktopyranosyl)-(1→4)-[α-L-fucopyranosyl)-(1→3)]-2-acetamido-2-deoxy-β-D-glucopyranosid
- sLe^x-L9..... Sialyl Lewis^x-Lipid/9 Ethoxyeinheiten; [26-(1,2-Di-O-hexadecyl-sn-glycer-3-oxy)-3,6,9,12,15,18,21,24-octaoxahexacos-1-yl]-O-(triethylammonium-5-acetamido-3,5-dideoxy-D-glycero-α-D-galakto-2-nonulopyranosylonat)-(2→3)-(β-D-galaktopyranosyl)-(1→4)-[α-L-fucopyranosyl)-(1→3)]-2-acetamido-2-deoxy-β-D-glucopyranosid
- SPC Sojalecithin
- TNFα..... Tumornekrosefaktor α