Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	V
Abbildungsverzeichnis	IX
Tabellenverzeichnis	XI

1. Einleitung	1
1.1 Alzheimersche Demenz – Ein Überblick	1
1.2 Neurobiologie der Alzheimerschen Demenz	2
1.3 <i>Amyloid precureser protein</i> (APP)	4
1.4 Prozessierung von APP zu Aβ	5
1.5 Amyloid-Kaskaden-Hypothese	6
1.6 Aggregationsformen von Aβ	10
1.6.1 Das A β (1-42)-Monomer	10
1.6.2 Neurotoxische Oligomere des A β (1-42)	10
1.6.3 A β -Fibrillen die inflammatorische Zellantworten auslösen	10
1.7 Diagnose der AD	12
1.8 Palliative Therapie der AD	13
1.9 Pathogenesebezogene Therapie der AD	14
1.9.1 Prozessierung von APP	15
1.9.2 Immuntherapie	15
1.9.3 Degradierung von A β	15
1.9.4 Aggregationsmodulatoren für A β	16
1.9.4.1 A β -bindende Peptide	16
1.9.4.1.1 Die Peptide D1 und D3	17
1.9.4.2 Hybrid JM169	18
1.10 Zielsetzung	20

2. Material	22
2.1. Peptide und Peptidverbindungen	22
2.1.1 Peptide	22
2.1.2 PepSpot-Membran mit immobilisierten A β -Fragmenten	22
2.1.3 Aminopyrazoltrimer-TEG-D3 (JM169) und Hybridbausteine	23
2.2 Chemikalien und Antikörper	24
2.2.1 Weitere Chemikalien	24
2.3 Lösungen, Puffer, Nährmedien und Zellen	24
2.3.1 Eukaryotische Zellen	26
2.4 Materialien, Geräte und Software	26
2.5 Probenpräparation von Aβ und Wirkstoffen	28
2.5.1 Allgemeine Präparation von A β -Pellets	28
2.5.2 Präparation von aggregationskeimfreiem A β	28
2.5.3 Präparation von A β -Pellets in NaOH	28
2.5.4 Präparation von D1 und D3	28
2.5.5 Präparation von JM169 und der Hybridbausteine	29
3. Methoden	30
3.1 Absorptionsmessung	30
3.2 Proteinkonzentrationsbestimmung	30
3.3 Zellkultur	30
3.3.1 Mikroskopie	30
3.3.2 Beschichtung von Gewebekulturflaschen	30
3.3.3 Kultivierung von PC12-Zellen	31
3.3.4 Bestimmung der Lebendzellzahl mittels Neubauer-Zählkammer	31
3.3.5 Zytotoxizitätstest	31
3.3.6 MTT-Test	31
3.3.7 Auswertung der Zellvitalität im MTT-Test	32
3.4 Thioflavin-T-Test	32
3.5 Turbiditätstest	33
3.6 Transmissionselektronenmikroskopie	33
3.7 Größenausschlusschromatographie	33
3.8 Dot-Blot-Analyse	35
3.9 Dynamische Lichtstreuung	35
3.10 Reversed-Phase-Chromatographie	36
3.11 Cirkulardichroismus (CD)-Spektroskopie	37
3.12 Amyloidogenitäts-Test	37
3.13 Oberflächenplasmonenresonanz	38
3.14 Analyse des Bindungsepitops mittels PepSpot-Membran	39

4. Experimente und Ergebnisse	41
4.1 Eigenschaften von D1 und D3	41
4.1.1 Fern-UV-CD-Spektroskopie mit D1 und D3	41
4.1.2 Reversed-Phase-Chromatographie (RPC) mit D3	42
4.1.3 Selektierte D-Peptide binden bestimmte A β -Spezies und -Formen	43
4.1.3.1 Bindung von D1 und D3 an A β -Spezies (1-40, 1-42)	44
4.1.3.2 Bindung von D1 und D3 an bestimmte A β -Formen	45
4.2 Peptid D1 – Ein Konzept zur Alzheimer-Diagnose	49
4.2.1 Partikelgrößen in der Dynamischen Lichtstreuung (DLS)	49
4.2.2 Größenausschlusschromatographie (SEC)	50
4.2.3 Analyse des Bindungsepitops von D1 an A β	52
4.3 Peptid D3 – Ein Konzept zur Alzheimer-Therapie	53
4.3.1 Größenausschlusschromatographie (SEC) und Dot Blot	53
4.3.2 Paralleler Turbiditäts- und Thioflavin T (ThT) –Test	56
4.3.3 Messung der Partikelgrößen mit Dynamischen Lichtstreuung (DLS)	58
4.3.4 Elektronenmikroskopie	60
4.3.5 Amyloidogenitätstest	61
4.3.6 Analyse des Bindungsepitops von D3 auf A β	62
4.4 Hybrid JM169 als Konzept für die Therapie der Alzheimerschen Demenz	64
4.4.1 Dynamische Lichtstreuung (DLS)	64
4.4.2 Elektronenmikroskopie (EM)	67
4.4.3 Hybrid JM169 beeinflusst die A β -Aggregation und -Toxizität	67
4.4.3.1 Thioflavin T-Test (ThT)	68
4.4.3.2 Zytotoxizitätstest	69
4.4.3.3 Elektronenmikroskopie (EM) mit JM169 und A β	71
5. Diskussion	73
5.1 Eigenschaften von D1 und D3 im Vergleich	74
5.1.1 D-Peptid D3 ist resistent gegenüber Proteasen im Mäusespeichel	75
5.1.2 D1 bindet bevorzugt A β (1-42)-Fibrillen und D3 bindet bevorzugt A β (1-42)-Oligomere	76
5.2 Peptid D1 - Ein Konzept zur Diagnose der Alzheimerschen Demenz	78
5.2.1 D1 hat trotz Bindung an A β keinen Einfluss auf dessen Aggregation	78
5.2.2 D1 hat keinen Einfluss auf die Größe von A β -Partikeln	78
5.2.3 D1 hat keinen Einfluss auf die Menge präparierter A β -Formen	78
5.2.4 D1 bindet hydrophobere A β -Regionen	78

5.3 Peptid D3 - Ein Konzept zur Therapie der Alzheimerschen Demenz	79
5.3.1 Aggregation von ThT-negativen A β -Aggregaten	80
5.3.2 D3 moduliert die A β -Partikelgrößen	80
5.3.3 D3 präzipitiert A β (1-42)-Oligomere zu hochmolekularen A β -Aggregaten	80
5.3.4 Amorphe A β -D3-Koaggregate fördern nicht die Aggregation von A β	81
5.3.5 D3 bindet hydrophilere A β -Regionen	81
5.3.6 Einfluss von D3 auf A β im Kontext weiterer Experimente	82
5.3.7 Potenzieller Wirkungsmechanismus von D3	85
5.4 Hybrid JM169 - Ein Konzept zur Therapie der Alzheimerschen Demenz	87
5.4.1 JM169 beeinflusst die Aggregation und die Toxizität von A β	87
5.4.2 Wirkung von JM169 im Kontext weiterer Experimente	88
5.4.3 Potenzieller Wirkungsmechanismus von JM169	88
5.7 Ausblick	90
Zusammenfassung	91
Summary	92
Anhang	93
Abkürzungsverzeichnis	93
Ein-Buchstaben-Aminosäure-Code	95
Publikationen, Patentbeteiligungen und Posterpräsentationen	96
Literaturverzeichnis	97
Danksagung	104
Erklärung	106