

Inhaltsverzeichnis

Geleitwort	V
Abbildungsverzeichnis	IX
Tabellenverzeichnis	XIII
Abkürzungsverzeichnis	XV

1 Einleitung und Zielsetzung 1

2 Theoretischer Hintergrund 3

2.1 Die Hitzeschockproteine	3
2.2 Das Hitzeschockprotein Hsp70	4
2.2.1 Struktur von Hsp70	5
2.2.2 ATP-abhängiger Faltungsmechanismus von Hsp70	6
2.3 Das Hitzeschockprotein Hsp90	8
2.3.1 Struktur von Hsp90	9
2.3.2 ATP-abhängiger Faltungsmechanismus von Hsp90	10
2.4 Hitzeschockproteine in der Krebsforschung	12
2.5 Inhibierung der Chaperonfunktion	12
2.5.1 Hemmung der ATPase-Aktivität	13
2.5.2 Konformationsänderungen	14
2.5.3 Interaktionen mit Co-Chaperonen	14
2.6 Fungi als Quelle biochemischer Diversität	15
2.7 <i>Hypoxylon rickii</i> : Naturstoffherzeuger mit einem besonderen Sekundärmetabolismus	16
2.8 Die Microarray-Technologie als Plattform komplexer Analysen	18
2.9 Molekularbiologischer Teil: pET SUMO HsHsp70 Vektor	22

3 Praktische Arbeiten..... 23

3.1 Bioinformatische Analysen zu Hsp70 und Hsp90	23
3.1.1 Funktionelle Interaktionspartner	23
3.1.2 3D-Strukturen der N-terminalen ATP-Bindetasche	25
3.2 Experimentelle Arbeiten	26
3.2.1 Transformation und Kultivierung von HsHsp70	26
3.2.2 Zelllyse und Reinigung vom HsHsp70	27
3.2.3 Fraktionierung und Probenvorbereitung des <i>H. rickii</i> Rohextraktes AM 5.1	28
3.2.4 Durchführung der Analysen mit der Microarray-Technologie	30

4	Ergebnisse.....	33
4.1	Reinheit vom HsHsp70	33
4.2	Aktivitätstest der produzierten Proteine	34
4.3	Kompetitiver Verdrängungstest mit isolierten Naturstoffen	35
	an der ATP-Bindestelle des humanen Hsp70s	35
4.4	Analyse von der ATP-Verdrängung	40
	durch den <i>H. rickii</i> Rohextrakt AM 5.1 und dessen Fraktionen	40
4.5	Interaktionsanalyse zwischen humanem Hsp70 und Hsp90	44
4.6	Die Anwendungsbreite des Microarray-Testsystems.....	47
4.6.1	Lagerbedingungen bedruckter Microarrays und verwendeter Proteine.....	47
4.6.2	Einfluss der Position des Fluoreszenzfarbstoffes am ATP auf die Bindungsfähigkeit an Hsp90.....	50
4.6.3	Geräteeinfluss vom Scanner	51
5	Diskussion.....	53
5.1	Kompetitive Verdrängungstests von Naturstoffen gegen Hsp70	53
5.2	Interaktionsanalysen von HsHsp70 mit Hsp90 α	54
5.3	Einfluss der Farbstoffposition am ATP auf die Bindungsfähigkeit	55
6	Zusammenfassung und Ausblick	57
	Literaturverzeichnis.....	61
	Anhang	65