



Doctoral Thesis

Strukturelle und funktionelle Charakterisierung von Kohlenhydrat-bindenden Eigenschaften der neuronalen Zelladhäsionsmoleküle L1 und NCAM

Author(s):

Horstkorte, Rüdiger

Publication Date:

1993

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000915681> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH ex. B

Diss. ETH Nr. 10269

**Strukturelle und funktionelle Charakterisierung von
Kohlenhydrat-bindenden Eigenschaften der neuronalen
Zelladhäsionsmoleküle L1 und NCAM**

Abhandlung

zur Erlangung des Titels

Doktor der Naturwissenschaften

der

Eidgenössischen Technischen Hochschule Zürich

vorgelegt von

Rüdiger Horstkorte

Diplom Biologe, Universität Heidelberg (BRD)

geboren am 7.11.1961

von Remscheid/Deutschland

Angenommen auf Antrag von:

Prof. Dr. M. Schachner, Referentin

Prof. Dr. U. Hübscher, Koreferent

1993



CatE

2. Kurzfassung

Für die Entwicklung eines vielzelligen Organismus ist die ständige Interaktion der Zellen mit der Umgebung eine notwendige Voraussetzung. Die neuronalen Zelladhäsionsmoleküle L1 und NCAM nehmen auf diese Vorgänge durch Vermittlung von Zell-Zell Interaktionen Einfluss. Sowohl L1 wie auch NCAM sind membranständige Glykoproteine, die funktionell wichtige Kohlenhydratepitope exprimieren, wie das sulfatierte L2/HNK-1 (zur Übersicht: Schachner, 1989) oder im Fall von L1, das oligomannosidische L3 Epitop (Schmitz et al., 1993). Im Rahmen dieser Arbeit wurde auf NCAM eine Lektin-ähnliche Domäne für oligomannosidische Glykane identifiziert und es werden Hinweise vorgestellt, daß auch L1 mit einem Glykan interagiert. Aus diesem Grund postulieren wir, daß L1 und NCAM Lektine sind.

Die funktionell bedeutsame Assoziation zwischen L1 und NCAM wird durch die Interaktion eines oligomannosidischen Glykans vermittelt. Dieses Glykan ist auf L1 exprimiert und interagiert mit einer Lektin-ähnlichen Domäne von NCAM. Mit Hilfe von synthetischen Peptiden konnte die Lektindomäne in der vierten Immunglobulin-ähnlichen Domäne von NCAM lokalisiert werden. Sie hat grosse Sequenzhomologie zu tierischen C-Typ Lektinen und einigen Pflanzenlektinen der Fabaceaen. In einem in vitro Zellkultursystem mit isolierten Kleinhirnneuronen wurde ein Einfluß auf das Auswachsen von Neuriten durch die Zugabe von oligomannosidischen Glykanen und synthetischen Peptiden beobachtet, die zuvor bei Proteinbindungsstudien die Assoziation von L1 mit NCAM inhibierten.

In einem ELISA System, in dem verschiedene Oligosaccharidfraktionen auf einem L1 Substrat vorinkubiert wurden, konnte gezeigt werden, daß auch L1 mit einem Glykan interagieren kann. Versuche mit Neuraminidase ergaben, daß es sich um ein Neuraminsäurehaltiges Glykan handelt, welches auf einem noch unbekanntem Glykoprotein exprimiert wird. Die Glykane wurden nach Behandlung von membranassoziierten Glykoproteinen des Maushirns mit einer unspezifischen Protease in Form von Glykopeptiden dargestellt und durch Gelfiltration und Ionenaustausch-Chromatographie aufgereinigt. Durch die Bindung des Glykans an L1 wird die Bindung eines monoklonalen Antikörpers, der ein Proteinepitop auf L1 erkennt, an L1 behindert. Mit Hilfe von Antikörpern, die gegen das aufgereinigte Neuraminsäurehaltige Glykan gerichtet sind, sollte ein noch unbekanntes Glykoprotein identifiziert werden, welches über ein Kohlenhydratepitop an L1 bindet.

3. Summary

An essential requirement for the development of a multicellular organism is the continuous interaction of cells with their environment. The neural cell adhesion molecules L1 and NCAM are involved in this process by mediating cell-cell interactions. Both L1 and NCAM are membrane-bound glycoproteins, expressing functional important carbohydrate epitopes, such as the sulfated L2/HNK-1 (for review: Schachner, 1989), or the in the case of L1, the oligomannosidic L3 epitope (Schmitz et al., 1993). In this study we have identified a lectin-like domain on NCAM and present evidence that L1 is also capable in interacting with glycans. We therefore postulate that both L1 and NCAM are lectins.

The functional important association between L1 and NCAM is mediated by the interaction of an oligomannosidic glycan expressed by L1 with a lectin domain of NCAM. The lectin domain is located within the fourth immunoglobulin-like domain of NCAM and shares sequence homologies with animal C-type lectins and plant lectins from fabaceae. Oligomannosidic glycans and synthetic peptides comprising parts of the lectin domain of NCAM inhibit L1/NCAM association in a protein binding assay. We further have demonstrated that in an in vitro cell culture system using cerebellar neurons, peptides and glycans which prevent the association between L1 and NCAM in an ELISA system also inhibit neurite outgrowth.

By using a competition ELISA system, where a L1 substrate is preincubated with different glycan fractions, we have shown that L1 is interacting with a neuraminic acid-containing glycan. The glycan is expressed on a yet unknown glycoprotein. It is purified as glycopeptide after protease digestion of membrane associated glycoproteins by gel filtration and ion exchange chromatography. The binding of this glycan to L1 inhibits a monoclonal antibody against L1 in binding to its peptide epitope on L1. With antibodies recognizing the purified neuraminic acid-containing glycan we have attempted to identify a glycoprotein capable in binding to L1 via this carbohydrate epitope.