

Subgelphasenstruktur in Monoschichten von Glycosylphosphatidyl-inositol-Glycolipiden**

Cristina Stefaniu,* Ivan Vilotijevic, Mark Santer, Daniel Varón Silva, Gerald Brezesinski und Peter H. Seeberger*

Glycosylphosphatidylinositol (GPIs) sind komplexe Glycolipide, die häufig in eukaryotischen Zellen als eine posttranslationale Proteinmodifikation oder als freie GPIs auf der Zelloberfläche gefunden werden.^[1] Obwohl ihre Hauptfunktion die Verankerung von Proteinen (AP) an die Zellmembran ist,^[2] weist die konservierte Natur der komplexen Pseudopentasaccharid-Kernstruktur der GPIs (Abbildung 1A) auf eine biologische Rolle hin, die über eine einfache physikalische Verankerung hinausgeht.

Die GPI-APs und freien GPIs zeigen nicht-Brownsche Dichtefluktuationen auf der Zelloberfläche^[3] und assoziieren mit Membranmikrodomänen, die als „Lipid Rafts“ bekannt sind.^[4] Während Protein-Protein-Wechselwirkungen zur beobachteten Zusammenlagerung der GPI-APs auf den Zellmembranen beitragen können,^[5] sind solche Wechselwirkungen nicht für die Zusammenlagerung der freien GPIs und deren Verbindung mit Lipid Rafts verantwortlich. Es ist daher vorstellbar, dass die Wechselwirkungen zwischen den GPI-Molekülen sowie deren Wechselwirkung mit anderen membranassoziierten Spezies eine Rolle bei der heterogenen Verteilung der GPIs in Zellmembranen spielen. Einige Proteine, die keine Cluster im Zytosol bilden, formen diese aber auf der Zelloberfläche wenn sie als GPI-AP Konstrukt exprimiert werden.^[6] Clusterbildung der freien GPIs wurde auch auf der Zelloberfläche einiger parasitärer Protozoen beobachtet.^[3c]

GPIs und GPI-APs sind an einer Vielzahl biologischer Prozesse wie Signalübertragung,^[7] Proteinsortierung und intrazellulärer Proteintransport,^[8] Intermembran-Übertragung,^[9] parasitäre Infektionen^[10] und Pathophysiologie von Prionkrankheiten beteiligt.^[11] Erkenntnisse zum Verhalten

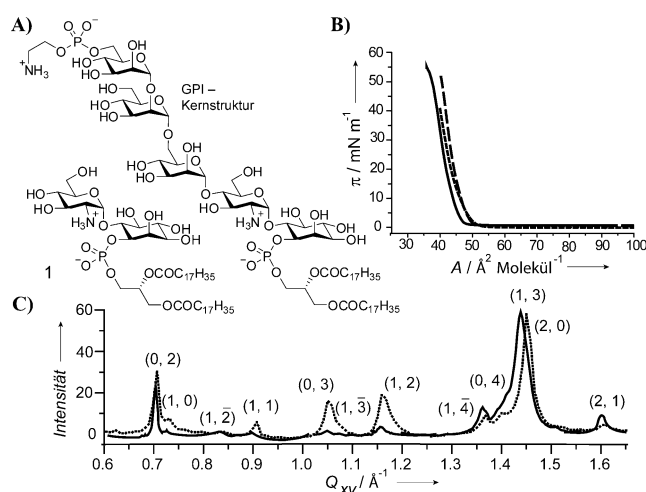


Abbildung 1. A) Konservierte GPI-Struktur und die Struktur des GlcNAc1→6myoIno-1-phosphodistearoylglycerol-Fragments **1**. B) Oberflächendruck (π)-Molekülfläche (A)-Isothermen auf der Oberfläche von Wasser (durchgezogene Linie), PBS (10 mM, pH 7.4, 150 mM NaCl; gepunktete Linie) und einer Lösung mit pH 2 (0.01 M HCl; gestrichelte Linie). C) Diffraktogramme von Monoschichten der Verbindung **1** auf PBS bei 20 °C (2 mN m⁻¹ – durchgezogene Linie und 30 mN m⁻¹ – gepunktete Linie).

von GPIs und GPI-APs in Zellmembranen könnten zum Verständnis der Rolle, die GPIs in diesen Prozessen spielen, beitragen.^[12]

GPI-AP-Monoschichten wurden bereits untersucht,^[13] wobei aber der begrenzte Rahmen der Untersuchungen keine fundamentalen Erkenntnisse zum Verhalten der GPIs in Zellmembranen zuließ. Wir zielen darauf ab, die strukturellen Charakteristika und das Konformationsverhalten von GPIs in definierten Membranmodellen aufzuklären. Hier berichten wir über eine noch nie zuvor beobachtete Ordnung in zweidimensionalen Monoschichten eines GlcNAc1→6myoIno-1-phosphodistearoylglycerol-Fragments von GPIs (**1**, Abbildung 1A) gemessen mit Röntgenbeugung bei streifendem Einfall (GIXD).

Das synthetische GPI-Imitat **1** repräsentiert das minimale Fragment, das das GPI-Verhalten angemessen nachahmen kann. Während bei **1** der Trimannose-Anteil, der in allen bekannten GPIs vorhanden ist, fehlt, trägt der Glucosaminphosphoinositol-Rest sowohl die Amino- als auch die Phosphatgruppe, die als bestimmende Faktoren für das Verhalten der geladenen Kopfgruppen angesehen werden.

Verbindung **1** wurde in 2D-Filmen an der Grenzfläche Luft/Flüssigkeit, die handliche Modellsysteme einer Membranhälfte sind, untersucht (Abbildung 1A). Die reduzierte

[*] Dr. C. Stefaniu, Dr. I. Vilotijevic, Dr. M. Santer, Dr. D. Varón Silva, Prof. Dr. G. Brezesinski, Prof. Dr. P. H. Seeberger
Max-Planck-Institut für Kolloid- und Grenzflächenforschung
Am Mühlenberg 1, 14424 Potsdam (Deutschland)
E-Mail: stefaniu@mpikg.mpg.de
seeberger@mpikg.mpg.de

Prof. Dr. P. H. Seeberger
Institut für Chemie und Biochemie, Freie Universität Berlin
Arnimallee 22, 14195 Berlin (Deutschland)

[**] Wir danken Prof. Dr. Helmuth Möhwald für hilfreiche Diskussionen und Sebastian Götze für die Bereitstellung eines Bausteines für die Synthese von **1**. Wir danken HASYLAB am DESY, Hamburg (Deutschland), für Messzeit und ausgezeichnete Unterstützung. Diese Arbeit wurde finanziell von der Max-Planck-Gesellschaft und über das 7. Forschungsrahmenprogramm (FP7/2007-2013) der EU (Postdoktoranden-Stipendium an I.V.) unterstützt.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201205825> zu finden.

Dimensionalität des Systems ist vorteilhaft, um die Rolle der verschiedenen Wechselwirkungen für die Strukturbildung besser verstehen zu können. Um erste Erkenntnisse über molekulare Wechselwirkungen und mögliche Phasenumwandlungen von Verbindung **1** in Monoschichten zu erlangen, wurden Druck-Flächen-Isothermen auf verschiedenen Subphasen gemessen (Abbildung 1B). Wasser wurde als Subphase in An- und Abwesenheit von Ca^{2+} -Ionen genutzt, um Unterschiede, die durch die Bildung von Calciumphosphat-Brücken zwischen den Glycophospholipidmolekülen hervorgerufen werden können, zu prüfen.^[14] Phosphatpuffer (PBS; 10 mM, pH 7.4, 150 mM NaCl) und eine Subphase mit pH 2 (0.01M HCl) wurden eingesetzt, um Unterschiede, die von unterschiedlichen Ionisationsgraden der Phosphatgruppe herrühren können, aufzudecken. Außer einer leichten Verschiebung weisen die Kompressionsisothermen keine weiteren Besonderheiten auf (Abbildung 1B), was zeigt, dass die Monoschichten nicht merklich durch die unterschiedlichen Subphasenzusammensetzungen beeinflusst sind. In allen Fällen steigt der Oberflächendruck bei molekularen Flächen unterhalb 48 \AA^2 pro Molekül steil an, was eine Umwandlung von einer 2D-Gasphase in eine 2D-flüssig-kondensierte Phase bei Oberflächendrücken nahe Null anzeigt.

Um weitere Strukturinformationen über diese Phasenumwandlung zu erhalten, wurden die Monoschichten von Verbindung **1** mit GIXD auf den verschiedenen Subphasen analysiert. Monoschichten von Acylglycerinen, Diacyl-*sn*-glycerinen und Diacyl-*sn*-phosphatidylionositolen weisen nur Bragg-Reflexe eines Gitters der hydrophoben Ketten im Weitwinkelbereich auf.^[15] Dagegen zeigt das GIXD-Diffraktogramm der Monoschichten von **1**, gemessen auf den verschiedenen Subphasen, weitere Bragg-Reflexe im mittleren bis Weitwinkelbereich (Abbildung 1C). Diese zusätzlichen Reflexe weisen auf eine Kopfgruppen-Ordnung hin, die niemals zuvor in Studien über doppelkettige Phospholipide beobachtet wurde. Dies gilt auch für Phospholipide mit Kopfgruppen, die an der Bildung von Wasserstoffbrücken beteiligt sein könnten. Die Positionen der Bragg-Reflexe für die Monoschichten von **1** sind nicht von der Subphasenzusammensetzung in diesen Experimenten beeinflusst und verändern sich auch nur leicht bei Kompression von 2 mNm^{-1} auf 30 mNm^{-1} (Abbildung 1C).

Die Weitwinkelreflexe, die charakteristisch für geordnete Alkylketten sind, wurden detailliert analysiert. Ausgewählte Höhenlinienprofile (Abbildung 2A) zeigen, dass die Monoschichtstruktur durch ein schiefwinkliges (triklin oder monoklin) Kettengitter (schematisch durch das schwarze Punktgitter in Abbildung 2B dargestellt) charakterisiert ist.^[16] Die Bragg-Stäbe sind durch eine Halbhöhenbreite (fwhm) von 0.26 \AA^{-1} charakterisiert. Die damit bestimmte Streuerlänge L ($\text{fwhm}(Q_z) \approx 0.9(2\pi)/L$)^[17] beträgt 21.7 \AA . Dieser Wert stimmt gut mit der Länge einer gestreckten C_{18} -Alkylkette in all-*trans*-Konformation überein. Dieser Befund zeigt, dass die Grenzschicht sowohl bei kleinen als auch hohen lateralen Drücken eine Monoschicht ist. Multischichten könnten auch zusätzliche Bragg-Reflexe zur Folge haben, die fwhm der Bragg-Stäbe wäre dann aber signifikant kleiner.^[18]

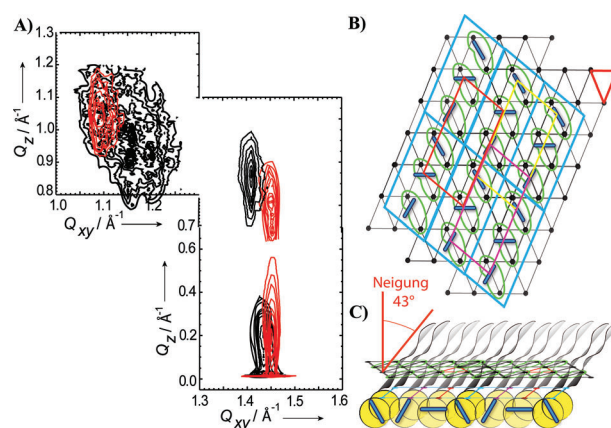


Abbildung 2. A) Höhenlinienprofile der korrigierten Röntgenintensitäten als Funktion der Streuvektorkomponenten in der Ebene (Q_{xy}) und senkrecht zur Ebene (Q_z) von Monoschichten von **1** auf PBS (2 mNm^{-1} – schwarz und 30 mNm^{-1} – rot). B) Schematische Darstellung der kommensurablen Gitter, die die laterale Ordnung der Alkylketten (schwarze Punkte, Wiederholeinheit – rotes Dreieck) und der Moleküle (Wiederholeinheit – blaues Parallelogramm); Wiederholeinheiten (rot, gelb und pink), die Moleküle mit gleicher Kopfgruppenorientierung verbinden; schematische Abgrenzung der Moleküle in der Gitterebene – grüne Linie. C) Schematische Darstellung der Moleküle an der Luft/Wasser-Grenzfläche; Seitenansicht.

Die Indizierung der zusätzlichen Bragg-Reflexe (Abbildung 1C) zeigt die Existenz eines Übergitters, das durch die Orientierung ganzer Moleküle hervorgerufen wird. Diese Orientierung ist höchstwahrscheinlich das Ergebnis starker Wechselwirkungen zwischen den Kopfgruppen. Die numerische Analyse^[19] zeigt, dass die Lipide (grüne Linien) wie in Abbildung 2B dargestellt angeordnet sind. Das Übergitter (blaues Parallelogramm) ist durch die Gitterparameter $a_s = 9.06 \text{ \AA}$, $b_s = 18.68 \text{ \AA}$, und den Winkel $\gamma = 107.4^\circ$ definiert und hat eine Fläche von 161.6 \AA^2 , was drei Molekülen von **1** entspricht. Die Monoschichtstruktur ist damit durch die Orientierung ganzer Moleküle und eine größere Wiederholeinheit, die aus drei Lipidmolekülen besteht, charakterisiert. Dieser Befund zeigt, dass sich die drei Moleküle in der Wiederholeinheit durch z.B. verschiedene Kopfgruppenorientierungen und/oder unterschiedliche Konformationen der Pseudodisaccharide unterscheiden. Es ist plausibel, dass die Kopfgruppen von **1** sich umorientieren müssen, um in starke intermolekulare Wechselwirkungen eingebunden zu werden. Damit kann das Übergitter durch eine Wiederholeinheit von identisch orientierten Molekülen (Abbildung 2B – drei unterschiedlich gefärbte Darstellungen der gleichen Überzelle, die vier Moleküle identischer Kopfgruppenorientierung verknüpft) beschrieben werden.

Die starre und hochgeordnete Anordnung der Pseudodisaccharid-Kopfgruppen passt sehr gut zum Fehlen von merklichen Änderungen in der Monoschichtstruktur bei lateraler Kompression und zum gemessenen Neigungswinkel der Alkylketten (43° bezüglich der Oberflächennormalen, Abbildung 2C). Die starken Wechselwirkungen zwischen den Kopfgruppen kontrollieren die Molekülpackung in einer unveränderlich starren Monoschicht von **1**. Der Platzbedarf der Kopfgruppe ist viel größer als der der beiden Alkylketten, die

sich stark neigen müssen, um ihre Van-der-Waals-Wechselwirkungen zu maximieren.

Die Ähnlichkeit der Diffraktogramme von Monoschichten von Verbindung **1** auf Subphasen mit unterschiedlichen pH-Werten (2, 6 und 7.4) und unterschiedlicher Ionenstärke (reines Wasser, 2 mM CaCl_2 oder 150 mM NaCl) zeigt, dass die Wechselwirkungen zwischen den Kopfgruppen nicht einfach elektrostatische Wechselwirkungen der Ammonium- und/oder Phosphatgruppen innerhalb der Glucosamine und Phosphodiester sind (Abbildung 3A). In diesem Fall müsste

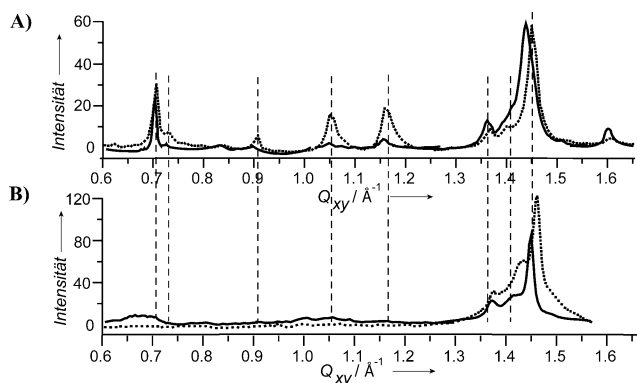


Abbildung 3. Diffraktogramme für **1** auf der Oberfläche von: A) PBS (10 mM, pH 7.4, 150 mM NaCl) bei 20 °C (2 mN m⁻¹ – durchgezogene Linie und 30 mN m⁻¹ – gepunktete Linie) und B) 5 M Harnstofflösung bei 20 °C (2 mN m⁻¹ – durchgezogene Linie und 30 mN m⁻¹ – gepunktete Linie).

die Monoschicht von **1** klare Unterschiede auf den verschiedenen Subphasen infolge unterschiedlicher Ionisationsgrade der Kopfgruppen oder infolge elektrostatischer Wechselwirkungen mit gegensätzlich geladenen Ionen aufweisen, die sogar die Phosphate in der Kopfgruppenregion verknüpfen könnten, was zu einer dichteren Packung führen würde, wie für zweiwertige Kationen gezeigt.^[20]

Nach Ausschluss einfacher elektrostatischer Wechselwirkungen als Ursache der Kopfgruppenordnung haben wir angenommen, dass ein komplexes und definiertes Wasserstoffbrückennetzwerk zwischen den Kopfgruppen von **1** für die Bildung eines Molekülgitters in den Monoschichten verantwortlich sein sollte. Um diese Hypothese zu überprüfen, wurden Monoschichten von **1** auf einer 5 M Harnstofflösung, die inter- und intramolekulare Wasserstoffbrücken brechen kann,^[21] mit GIXD untersucht. Da Harnstoff selbst nicht oberflächenaktiv ist, erlaubt der Vergleich der Monoschichten auf einer konzentrierten Harnstofflösung und auf Wasser eine Bewertung der Beiträge der Wasserstoffbrücken zu den Wechselwirkungen zwischen den Kopfgruppen. Das Diffraktogramm von **1** ändert sich drastisch auf der Harnstofflösung (Abbildung 3). Die Bragg-Reflexe, die charakteristisch für den kondensierten Zustand der Alkylketten sind, verschieben sich, während die Bragg-Reflexe, die das Übergitter definiert haben, bei kleinen Oberflächendrücken (2 mN m⁻¹ – Abbildung 3B) sehr schwach und relativ breit sind und bei hohen lateralen Packungsdichten (30 mN m⁻¹ – Abbildung 3B) sogar völlig verschwinden. Die Bildung eines Übergitters von

1 ist auf der Harnstofflösung unterdrückt, was zeigt, dass die Wasserstoffbrücken tatsächlich für die Bildung eines Kopfgruppennetzwerks verantwortlich sind. Dieses Wasserstoffbrückennetzwerk könnte entweder durch Wechselwirkungen zwischen den Phosphat- und den Hydroxygruppen der Zucker,^[22] durch Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Wechselwirkungen zwischen den Pseudodisacchariden von **1**^[23] oder durch eine Kombination der beiden entstehen. Etliche Veröffentlichungen beschreiben Effekte von Harnstoff auf das Verhalten von Monoschichten, die wahrscheinlich vom Aufbrechen der Wasserstoffbrücken zwischen den Kopfgruppen herrühren.^[24] Unsere Ergebnisse liefern den ersten direkten röntgenographischen Beweis für durch Harnstoff hervorgerufene Änderungen der Monoschichtstruktur.

Harnstoff agiert als chaotrope Verbindung, die Rotationsunordnung zwischen den Kopfgruppen bewirkt. Infolgedessen weist die Monoschicht von Verbindung **1** auf der 5 M Harnstofflösung nur ein für Gelphasen von Lipiden typisches Kettengitter auf. In Abwesenheit des starken ordnenden Effekts des Kopfgruppennetzwerks auf der Harnstofflösung können die Moleküle eine dichtere Packung bilden, was zu einem modifizierten Kettengitter führt (Abbildung 4).^[25] Dieses Gitter ist durch Bragg-Reflexe bei im Vergleich zur PBS-Subphase unterschiedlichen Q_{xy} - und Q_z -Werten charakterisiert. Damit wird klar gezeigt, dass die Unterdrückung des Kopfgruppennetzwerks zu einem kleineren Neigungswinkel der Alkylketten führt (38°, Abbildung 4C).

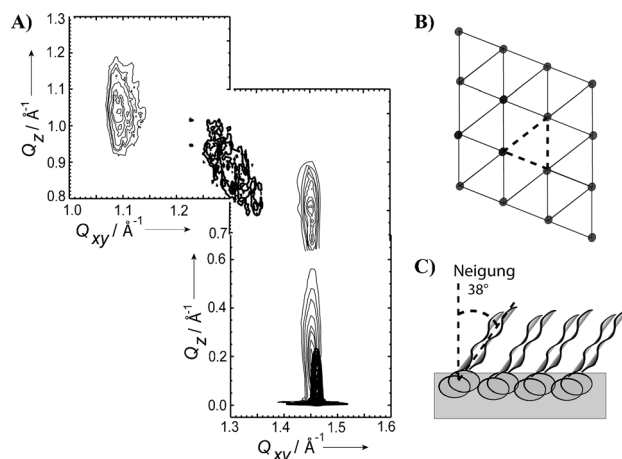


Abbildung 4. A) Höhenlinienprofile der korrigierten Röntgenintensitäten als Funktion der Streuvektorkomponenten in der Ebene (Q_{xy}) und senkrecht zur Ebene (Q_z) von Monoschichten von **1** auf PBS (10 mM, pH 7.4, 150 mM NaCl) (30 mN m⁻¹ – dünne Linien) verglichen mit denen erhalten auf 5 M Harnstofflösung bei 20 °C (30 mN m⁻¹ – dicke Linien). B) Schematische Darstellung des Gitters (Ketten – schwarze Punkte, Wiederholeinheit – gestricheltes Dreieck), das die Monoschichtstruktur auf einer 5 M Harnstofflösung beschreibt. C) Schematische Darstellung der Moleküle an der Luft/Wasser Grenzfläche; Seitenansicht.

Um die Fähigkeit von Verbindung **1** zur Clusterbildung zu prüfen, wurde ihre Mischbarkeit mit POPC (1-Palmitoyl-2-oleoyl-phosphatidylcholin) untersucht. POPC ist ein Modell-Lipid mit niedriger Umwandlungstemperatur, einem hydro-

phoben Kettenmuster, das in natürlichen Phospholipiden häufig zu finden ist,^[26] und bildet bei 20°C Monoschichten im flüssig-ungeordneten Zustand. Die Experimente wurden mit äquimolaren Mischungen von **1** und POPC durchgeführt. Neben den Reflexen, die bereits für die reine Verbindung **1** gefunden wurden (Abbildung 1C), treten im Diffraktogramm der Mischung drei zusätzliche Bragg-Reflexe auf (Abbildung 5 – dicke Linien). Das Auftreten von nur drei

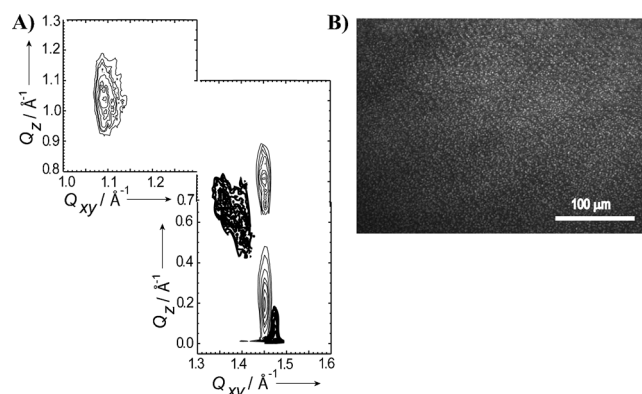


Abbildung 5. A) GIXD-Höhenlinienprofile im Bereich des Kettengitters, die die Koexistenz von zwei geordneten Phasen zeigen: die feste Phase der reinen Verbindung **1** (dünne Linien) und die flüssig-geordnete Phase der Mischung **1**/POPC (dicke Linien) in Monoschichten gemischt-gespreiteter Mischungen von **1** und POPC (im molaren Verhältnis 1:1) bei 30 mN m⁻¹ auf PBS (10 mM, pH 7.4, 150 mM NaCl), 20°C; B) Brewster-Winkel-Mikroskopieaufnahme der gemischten Monoschicht. Die feste Phase der reinen Verbindung **1** ist in Form kleiner hellerer Domänen, umgeben von der gemischten flüssig-geordneten Phase, zu sehen.

zusätzlichen Reflexen zeigt, dass diese Phase durch ein Kettenmuster mit kleinen Korrelationslängen charakterisiert ist und nicht durch ein Molekülgitter, wie es in Monoschichten von **1** gefunden wird. Diese Ergebnisse weisen auf eine Koexistenz von zwei geordneten Phasen – die feste Phase der reinen Verbindung **1** (Abbildung 5 A, dünne Linien) und eine flüssig-geordnete Phase der **1**/POPC-Mischung (Abbildung 5 A, dicke Linien).^[16] Brewster-Winkel-Mikroskopie bestätigt die Koexistenz von zwei Phasen (Abbildung 5 B).

Basierend auf der GIXD-Analyse wurde gezeigt, dass die phasengetrenten kristallinen Domänen nur Verbindung **1** enthalten und dieselbe Kristallstruktur wie im Einkomponentensystem haben. Das bedeutet, dass die starken Kopfgruppenwechselwirkungen eine Einlagerung der Membrankomponente, die die ungeordnete Phase bildet, verhindern. In Mischungen mit POPC induziert Verbindung **1** Ordnung in der flüssig-ungeordneten POPC-Phase in einer kooperativen Art und Weise wie bereits in Sphingomyelin-POPC-Mischungen beobachtet, die als repräsentative Modell-Rafts beschrieben wurden.^[27]

Diese biophysikalische Studie zeigt die Existenz einer noch nie zuvor beschriebenen kristallinen zweidimensionalen Struktur in Monoschichten von GlcNa1→6myoIno-1-phosphodistearoylglycerol. Diese Monoschichten sind durch zwei kommensurable Gitter charakterisiert: ein schiefwinkliges

Gitter der Alkylketten und ein molekulares Gitter, das aufgrund hochgeordneter Kopfgruppen gebildet wird. Die Struktur erinnert an die von Subgelphasen^[28] in Lipid-Dispersionen nach langer Inkubationszeit bei tiefen Temperaturen.^[29] Hier wird die Kopfgruppenordnung ohne jegliche Inkubationszeit aufgrund eines Wasserstoffbrückennetzwerkes, das die Monoschichtstruktur versteift, gebildet. GIXD-Experimente zeigen, dass das Wasserstoffbrückennetzwerk auf hochkonzentrierten Harnstofflösungen zerstört wird, was gleichzeitig zum Verlust des Molekülgitters und zur Umstrukturierung der Monoschicht führt.

Studien mit gemischten Monoschichten aus **1** und POPC zeigen, dass oberhalb eines bestimmten Konzentrationsschwellwertes von Verbindung **1** Phasenseparation aufgrund starker Kopfgruppenwechselwirkungen auftritt. Unterhalb dieses Schwellwertes mischt Verbindung **1** mit dem flüssig-ungeordneten POPC und induziert Ordnung in einer kooperativen Art und Weise. Somit ist das GPI Fragment **1** in der Lage, geordnete Phasen zu kreieren indem es entweder seine eigene hochkristalline Struktur ausbildet oder flüssig-geordnete Domänen (Rafts) in Mischungen induziert. Diese Befähigung könnte entscheidende Auswirkungen für die Wechselwirkungen von GPI-APs und GPIs in Zellmembranen haben.

Eingegangen am 23. Juli 2012,
veränderte Fassung am 17. September 2012
Online veröffentlicht am 7. November 2012

Stichwörter: Glycosylphosphatidylinositol · Membranmikrodomänen (Lipid Rafts) · Molekülgitter · Monoschichten · Wasserstoffbrücken

- [1] a) M. G. Paulick, C. R. Bertozzi, *Biochemistry* **2008**, 47, 6991; b) M. A. Ferguson, *J. Cell Sci.* **1999**, 112, 2799.
- [2] M. Low, A. Saltiel, *Science* **1988**, 239, 268.
- [3] a) T. Friedrichson, T. V. Kurzchalia, *Nature* **1998**, 394, 802; b) R. Varma, S. Mayor, *Nature* **1998**, 394, 798; c) N. Azzouz, H. Shams-Eldin, S. Niehus, F. Debierre-Grockiego, U. Bieker, J. Schmidt, C. Mercier, M.-F. Delauw, J.-F. Dubremetz, T. K. Smith, R. T. Schwarz, *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **2006**, 38, 1914.
- [4] a) K. Simons, E. Ikonen, *Nature* **1997**, 387, 569; b) I. Levental, M. Grzybek, K. Simons, *Biochemistry* **2010**, 49, 6305; c) C. Eggeling, C. Ringemann, R. Medda, G. Schwarzmann, K. Sandhoff, S. Polyakova, V. N. Belov, B. Hein, C. von Middendorff, A. Schönl, S. W. Hell, *Nature* **2009**, 457, 1159.
- [5] S. Paladino, D. Sarnataro, R. Pillich, S. Tivodar, L. Nitsch, C. Zurzolo, *J. Cell Biol.* **2004**, 167, 699.
- [6] P. Sharma, R. Varma, R. C. Sarasij, I. K. Gousset, G. Krishnamoorthy, M. Rao, S. Mayor, *Cell* **2004**, 116, 577.
- [7] K. Simons, D. Toomre, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2000**, 1, 31.
- [8] a) M. Fujita, T. Kinoshita, *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Biol. Lipids* **2012**, 1821, 1050; b) S. Mayor, H. Riezman, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2004**, 5, 110; c) S. Schuck, K. Simons, *J. Cell Biol.* **2006**, 172, 963.
- [9] D. Kooyman, G. Byrne, S. McClellan, D. Nielsen, M. Tone, H. Waldmann, T. Coffman, K. McCurry, J. Platt, J. Logan, *Science* **1995**, 269, 89.
- [10] a) L. Schofield, M. C. Hewitt, K. Evans, M.-A. Siomos, P. H. Seeberger, *Nature* **2002**, 418, 785; b) N. W. Brattig, K. Kowalsky, X. Liu, G. D. Burchard, F. Kamena, P. H. Seeberger, *Microbes*

- Infect.* **2008**, *10*, 885; c) N. Azzouz, F. Kamena, P. H. Seeberger, *OMICS* **2010**, *14*, 445.
- [11] a) B. Chesebro, M. Trifilo, R. Race, K. Meade-White, C. Teng, R. LaCasse, L. Raymond, C. Favara, G. Baron, S. Priola, B. Caughey, E. Masliah, M. Oldstone, *Science* **2005**, *308*, 1435; b) S. P. Mahal, J. Jablonski, I. Suponitsky-Kroyter, A. M. Oelschlegel, M. E. Herva, M. Oldstone, C. Weissmann, *PLoS Pathog.* **2012**, *8*, e1002746; c) M. Klingeborn, B. Race, K. D. Meade-White, R. Rosenke, J. F. Striebel, B. Chesebro, *J. Virol.* **2011**, *85*, 1484.
- [12] M. G. Paulick, M. B. Forstner, J. T. Groves, C. R. Bertozzi, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 20332.
- [13] a) F. Ronzon, B. Desbat, T. Buffeteau, C. Mingotaud, J.-P. Chauvet, B. Roux, *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 3307; b) L. Caseli, D. C. Masui, R. P. M. Furriel, F. A. Leone, M. E. D. Zaniquelli, *Colloids Surf. B* **2005**, *46*, 248; c) F. Ronzon, J.-P. Rieu, J.-P. Chauvet, B. Roux, *J. Colloid Interface Sci.* **2006**, *301*, 493.
- [14] W. G. Ellenbroek, Y.-H. Wang, D. A. Christian, D. E. Discher, P. A. Janmey, A. J. Liu, *Biophys. J.* **2011**, *101*, 2178.
- [15] a) G. Brezesinski, K. de Meijere, H. Möhwald, E. Scalas, W. G. Bouwman, K. Kjaer, *Prog. Colloid Polym. Sci.* **1996**, *100*, 351; b) U. Gehler, D. Vollhardt, G. Brezesinski, H. Möhwald, *Langmuir* **1996**, *12*, 4892; c) G. H. Peters, S. Toxvaerd, N. B. Larsen, T. Bjørnholm, K. Schaumburg, K. Kjaer, *Nat. Struct. Biol.* **1995**, *2*, 395; d) K. Wagner, G. Brezesinski, *Chem. Phys. Lipids* **2007**, *145*, 119.
- [16] Details zu den Gitterparametern liefern Tabelle S1 und S2 in den Hintergrundinformationen.
- [17] a) K. Kjaer, *Phys. B* **1994**, *198*, 100; b) D. Vollhardt, G. Brezesinski, S. Siegel, G. Emrich, *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*, 12061.
- [18] a) I. Kuzmenko, M. Kindermann, K. Kjaer, P. B. Howes, J. Als-Nielsen, R. Granek, G. von Kiedrowski, L. Leiserowitz, M. Lahav, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 3771; b) H. Rapaport, I. Kuzmenko, S. Lafont, K. Kjaer, P. B. Howes, J. Als-Nielsen, M. Lahav, L. Leiserowitz, *Biophys. J.* **2001**, *81*, 2729.
- [19] Eine detaillierte Beschreibung des Peakindizierungsverfahrens geben die Hintergrundinformationen.
- [20] E. Maltseva, V. L. Shapovalov, H. Möhwald, G. Brezesinski, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 919.
- [21] a) G. E. Hibberd, A. E. Alexander, *J. Phys. Chem.* **1962**, *66*, 1854; b) R. B. Simpson, W. Kauzmann, *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, *75*, 5139.
- [22] a) G. Das, A. D. Hamilton, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 11139; b) G. Das, A. D. Hamilton, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 3675.
- [23] a) I. Bucior, M. M. Burger, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2004**, *14*, 631; b) J. M. de La Fuente, S. Penadés, *Glycoconjugate J.* **2004**, *21*, 149; c) S. Hakomori, *Pure Appl. Chem.* **1991**, *63*, 473; d) N. Seah, A. Basu, *Carbohydrate—Carbohydrate Interactions. Wiley Encyclopedia of Chemical Biology*, Wiley, Hoboken, **2008**, S. 1–7.
- [24] a) I. Levental, A. Cejbers, P. A. Janmey, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 9025; b) S. M. B. Souza, H. Chaimovich, M. J. Politi, *Langmuir* **1995**, *11*, 1715; c) P. Lo Nostro, G. Gabrielli, *Langmuir* **1993**, *9*, 3132.
- [25] Tabelle S1 und S2 in den Hintergrundinformationen.
- [26] D. Marsh, *Handbook of Lipid Bilayers*, CRC, Boca Raton, **1990**.
- [27] R. F. M. deAlmeida, A. Fedorov, M. Prieto, *Biophys. J.* **2003**, *85*, 2406.
- [28] a) J. Katsaras, V. A. Raghunathan, E. J. Dufourc, J. Dufourcq, *Biochemistry* **1995**, *34*, 4684; b) D. Marsh, *Chem. Phys. Lipids* **2012**, *165*, 59.
- [29] N. Albon, *J. Chem. Phys.* **1983**, *79*, 469.