



Fingerabdrücke für Glykane durch Spektroskopie kalter Ionen

Eike Mucha, Ana Isabel González Flórez, Mateusz Marianski, Daniel A. Thomas, Waldemar Hoffmann, Weston B. Struwe, Heung S. Hahm, Sandy Gewinner, Wieland Schöllkopf, Peter H. Seeberger,* Gert von Helden* und Kevin Pagel*

Abstract: Die Vielfalt der in Glykanen und ihren Konjugaten vorhandenen stereochemischen Isomere stellt eine Herausforderung für ihre Strukturanalyse dar. Üblicherweise wird Massenspektrometrie (MS) in Kombination mit Flüssigchromatographie oder Ionenmobilitätstrennung verwendet. Allerdings machen strukturell ähnliche Isomere, die häufig koexistieren, eine eindeutige Identifizierung unmöglich. Andere Methoden wie Gasphasen-Infrarot-Spektroskopie waren bisweilen auf kleinere Glykane beschränkt, da die räumliche Flexibilität und die thermische Aktivierung während der Messung eine mangelnde spektrale Auflösung verursachen. Dieses Defizit kann durch Kaltionen-Spektroskopie überwunden werden. Die spektralen Fingerabdrücke kalter Oligosaccharid-Ionen weisen eine beträchtliche Anzahl hochaufgelöster Absorptionsbanden auf, die selbst minimale Strukturvariationen anzeigen. Kaltionen-Spektroskopie könnte sich in Verbindung mit sequenzieller MS als Schlüsseltechnologie zur Strukturbestimmung komplexer Glykome erweisen.

Kohlenhydrate sind in der Natur allgegenwärtig und werden historisch bedingt mit ihren bedeutenden Funktionen als Energiespeicher oder als biologisches Baumaterial assoziiert. Kurzkettige Kohlenhydrate, die oft als Oligosaccharide oder Glykane bezeichnet werden, sind hingegen in einer Vielzahl biologischer Signalprozesse von enormer Bedeutung.^[1] Der Bereich der Glykomik umfasst die ausführliche Aufklärung

der Struktur und Funktion von Glykanen und profitiert derzeit von technischen Fortschritten in der Analytik und der automatisierten chemischen Synthese. Im Vergleich zu den Gebieten der Genomik und Proteomik bleibt sie jedoch weitestgehend unterentwickelt. Die inhärente strukturelle Vielfalt von Oligosacchariden stellt die Glykobiologie vor enorme Herausforderungen. Während Proteine und DNA ausschließlich linear und Templat-gesteuert aufgebaut werden, sind Glykane hingegen nicht von einem Templat abgeleitet, verzweigt und weisen eine komplexe Stereo- und Regiochemie auf. Die Aufklärung von Struktur, Form und den daraus resultierenden Funktionen von Glykanen ist daher äußerst schwierig.

Zur detaillierten Strukturaufklärung von Glykanen werden häufig Methoden der Flüssigchromatographie und/oder Massenspektrometrie (MS) herangezogen, die nur geringe Probenmengen benötigen.^[2] Neben der molekularen Summenformel können durch aufwendigere Methoden, wie sequenzielle Massenspektrometrie (MSⁿ) oder chemische Derivatisierung, auch Informationen über die Sequenz oder die Konnektivität einzelner Monosaccharidbausteine gewonnen werden.^[3] Weiterhin hat sich die Ionenmobilitäts-Massenspektrometrie (IM-MS) als leistungsstarke Methode zur schnellen Trennung und Identifizierung von Konnektivitäts- und Konfigurationsisomeren von Kohlenhydraten etabliert.^[4]

Die Kombination aus MS und Infrarot(IR)-Spektroskopie bietet eine sehr empfindliche Alternative, bei der die Schwingungen isolierter Moleküle in der kontrollierten Umgebung der Gasphase erforscht werden. Charakteristische Absorptionsbanden werden hierbei routinemäßig untersucht, um Strukturinformationen, etwa über funktionelle Gruppen, Wasserstoffbrücken-Netzwerke oder bevorzugte Molekülkonformationen, abzuleiten. Aufgrund dieser Vorteile ist die Gasphasen-IR-Spektroskopie eine weitverbreitete Methode zur Strukturanalyse von Peptiden, Proteinen und kleinen Molekülen.

Die Grundlagen der Gasphasen-IR-Spektroskopie zur Strukturaufklärung von Glykanen wurden während der vergangenen zwanzig Jahre entwickelt. Insbesondere für größere Glykane war jedoch die spektrale Überlappung durch Bandenverbreiterung ein maßgebliches Problem, das den Informationsgehalt der resultierenden IR-Signaturen begrenzte. Die spektrale Auflösung in IR-Multiphotonenionisations-Experimenten (IRMPD) bei etwa 300 K ist bereits für Mono-^[5] und Disaccharid-Ionen^[6] stark eingeschränkt (siehe Abbildung S1). Ursächlich für die Bandenverbreiterung sind vermutlich zwei Faktoren. Zunächst scheint die räumliche Flexibilität von Oligosaccharid-Ionen bei Raumtemperatur

[*] E. Mucha, Dr. A. I. González Flórez, Dr. M. Marianski, Dr. D. A. Thomas, W. Hoffmann, S. Gewinner, Dr. W. Schöllkopf, Prof. Dr. G. von Helden, Prof. Dr. K. Pagel
Fritz-Haber-Institut der Max-Planck-Gesellschaft
Faradayweg 4–6, 14195 Berlin (Deutschland)
E-Mail: helden@fhi-berlin.mpg.de

E. Mucha, W. Hoffmann, Prof. Dr. K. Pagel
Institut für Chemie und Biochemie der Freien Universität Berlin
Takustraße 3, 14195 Berlin (Deutschland)
E-Mail: kevin.pagel@fu-berlin.de

Dr. H. S. Hahm, Prof. Dr. P. H. Seeberger
Max-Planck-Institut für Kolloid- und Grenzflächenforschung
Am Mühlenberg 1, 14476 Potsdam (Deutschland)
E-Mail: peter.seeberger@mpikg.mpg.de

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

Dr. W. B. Struwe
Oxford Glycobiology Institute
Department of Biochemistry, University of Oxford
Oxford OX1 3QU (Großbritannien)

Hintergrundinformationen und die Identifikationsnummern
 (ORCID) einiger Autoren sind unter:
<https://doi.org/10.1002/ange.201702896> zu finden.

allgemein hoch zu sein. Viel wichtiger allerdings ist die sequenzielle Absorption von mehreren Photonen im IRMPD-Prozess, welche die Ionen thermisch erheblich aktiviert und dazu führt, dass Spektren von heißen Molekülen erhalten werden.^[7] Um diese Einschränkung experimentell zu überwinden, wurden kleinere Kohlenhydrate bei den tiefen Temperaturen einer Molekularstrahl-Expansion untersucht. In Kombination mit UV-IR-Doppelresonanzspektroskopie lieferten die IR-Spektren mit verbesserter Auflösung wichtige Informationen über die bevorzugten Strukturen isolierter Mono- und Disaccharide sowie deren Neigung zur Bildung intramolekularer Wasserstoffbrücken-Netzwerke.^[8] In diesen Studien wurden Oligosaccharide allerdings hauptsächlich durch thermisches Verdampfen in die Gasphase überführt, wodurch diese Methode – neben anderen technischen Schwierigkeiten – auf kleinere Moleküle begrenzt ist. Diese Herausforderung bewältigen wir durch die Kombination von Nanoelektrospray-Ionisation (nESI), Massenspektrometrie und ultrakalter Gasphasen-IR-Spektroskopie, die zu diagnostischen Fingerabdrücken mit außergewöhnlich hoher Auflösung und hohem Informationsgehalt führt.

Der experimentelle Aufbau (Abbildung 1a) besteht aus einem Massenspektrometer, das mit dem IR-Freie-Elektronen-Laser des Fritz-Haber-Instituts (FHI-FEL^[9]) verbunden ist und über eine Quelle für suprafluide Heliumtröpfchen verfügt (für Details siehe die Hintergrundinformationen). Isolierte molekulare Ionen werden durch Nanoelektrospray-Ionisation in die Gasphase überführt, wodurch auch die Ionisation größerer Moleküle möglich ist. Diese Ionen werden nach ihrem Masse-zu-Ladungs-Verhältnis selektiert und in

einer linearen Ionenfalle gespeichert. Suprafluide Heliumtröpfchen mit einer durchschnittlichen Größe von 10^5 Heliumatomen durchqueren anschließend die Ionenfalle, nehmen dort einzelne Ionen auf und kühlen diese rasch auf die Gleichgewichtstemperatur des Tröpfchens von 0.37 K ab. Während das Heliumtröpfchen selbst optisch transparent ist, kann die intensive, schmalbandige IR-Strahlung dazu führen, dass das eingebettete Ion nach Absorption resonanter Photonen aus dem Tröpfchen ausgeworfen wird. Als Folge kann ein höchst reproduzierbares IR-Spektrum (siehe Abbildung S2) von ultrakalten molekularen Ionen erhalten werden, indem die gemessene Intensität der ausgeworfenen Ionen als Funktion der Wellenlänge aufgetragen wird.

Um das Potenzial der Kaltionen-Spektroskopie zur Aufklärung struktureller Details komplexer Oligosaccharide systematisch zu beurteilen, wurde eine Reihe wohldefinierter, aminoalkylgebundener Standards mittels automatisierter Glykansynthese hergestellt (für Details siehe die Hintergrundinformationen). Monosaccharide sind die einfachsten Zucker und stellen die grundlegenden Bausteine für Oligosaccharide dar. Verschiedene Monosaccharide weisen oft die gleiche Masse auf und unterscheiden sich lediglich in der stereochemischen Konfiguration einzelner Kohlenstoffatome (wie etwa Glucose und Galactose, Abbildung 1b). Unter Verwendung der Kaltionen-Spektroskopie wurden IR-Spektren der protonierten, aminopentylgebundenen Monosaccharide α - und β -Galactose **1** und **2** sowie β -Glucose **3** aufgezeichnet (Abbildung 1c). Jedes Spektrum zeigt ein einzigartiges Absorptionsmuster mit einer Vielzahl gut aufgelöster Banden, die für jedes Monosaccharid charakteristisch sind. In

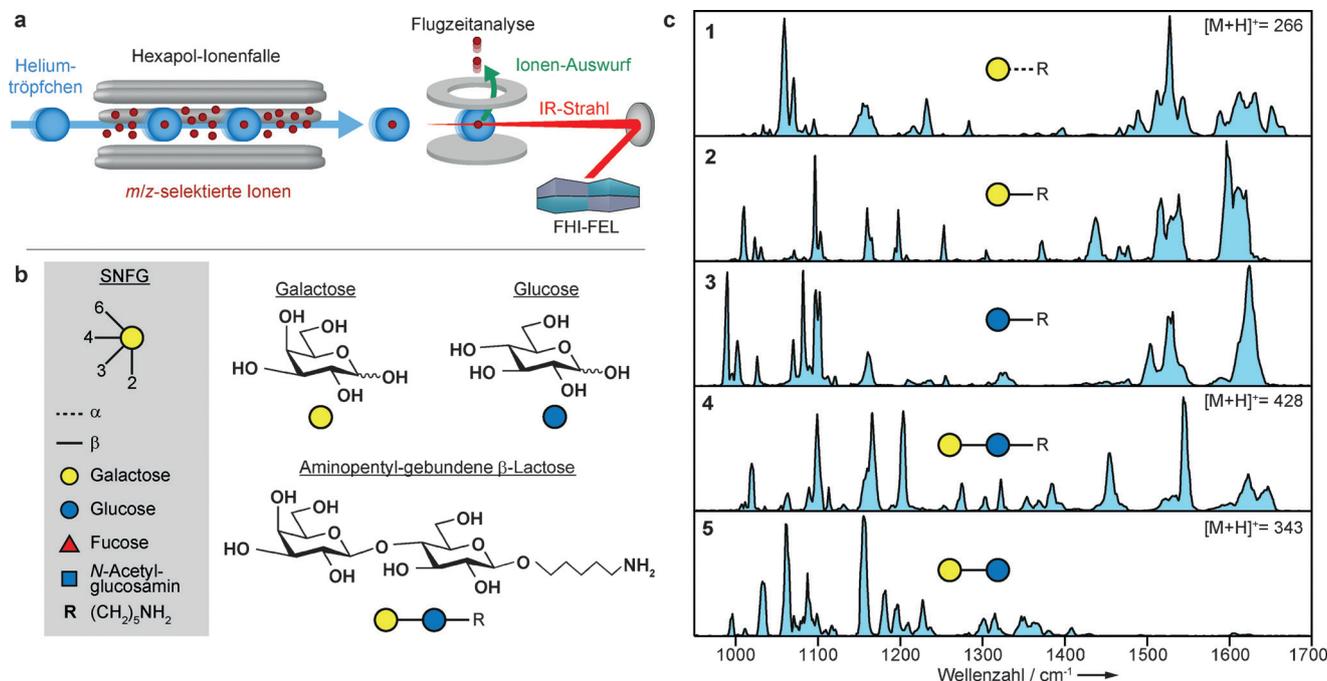


Abbildung 1. a) Experimenteller Aufbau (schematisch). Ionen in der Gasphase werden nach ihrem Masse-zu-Ladungs-Verhältnis selektiert und anschließend in einer Ionenfalle gespeichert. Heliumtröpfchen können diese Ionen aufnehmen, wodurch sie unmittelbar auf 0.37 K abgekühlt werden. Anschließend werden diese mit dem Freie-Elektronen-Laser untersucht. b) Strukturen einiger Kohlenhydrate, die in dieser Arbeit untersucht wurden, sowie die zugehörige Symbolnomenklatur für Glykane (SNFG^[11]). c) IR-Spektren der aminoalkylgebundenen Mono- und Disaccharide α -Galactose **1**, β -Galactose **2**, β -Glucose **3**, β -Lactose **4** sowie freie Lactose **5**, die als $[\text{M}+\text{H}]^+$ -Ionen untersucht wurden.

einigen Fällen gleicht die Linienbreite sogar der entsprechenden Bandbreite der Laserstrahlung ($\text{FWHM} \approx 4 \text{ cm}^{-1}$). Diese beispiellose Auflösung offenbart bemerkenswerte Unterschiede der jeweiligen Spektren und ermöglicht eine einfache Unterscheidung der isomeren Monosaccharide **1**, **2** und **3** auf der Grundlage ihrer spektralen Fingerabdrücke.

Geht man zu Disacchariden über, in denen zwei Bausteine über eine glykosidische Bindung verknüpft sind, nimmt die strukturelle Komplexität enorm zu. Einzelne Monosaccharide können über verschiedene Hydroxygruppen (Konnektivitätsisomere) und mit unterschiedlicher Stereochemie (Konfigurationsisomere) verknüpft werden, woraus eine Vielzahl an isomeren Disacchariden resultiert. Die zunehmende Größe des Systems und die Torsionswinkel der glykosidischen Bindung erzeugen zusätzlich eine weitere Dimension der konformativen Komplexität, also der räumlichen Orientierung einzelner Isomere. Obwohl ein zusätzlicher Baustein vorhanden ist, weist das IR-Spektrum des Lactose-Derivats **4** (Abbildung 1c) ähnlich wie die Monosaccharid-Spektren ein diagnostisches Muster hochaufgelöster Absorptionsbanden auf. Zum Vergleich wurde das IR-Spektrum freier Lactose **5** aufgenommen, das zwischen 950 cm^{-1} und 1450 cm^{-1} ebenfalls ein hochaufgelöstes Absorptionsmuster aufweist. Obwohl freie Lactose sowohl als α - als auch als β -Anomer vorliegen kann und die Protonierungsstelle unklar ist, ähneln manche Banden denen des Lactose-Derivats **4**. Die beobachteten feinen Unterschiede können sich sowohl durch die Wechselwirkungen des geladenen Linkers in **4** als auch durch eine bestimmte Ladungsverteilung in **5** ergeben. Das Fehlen charakteristischer Absorptionsbanden oberhalb 1450 cm^{-1} für **5** zeigt außerdem an, dass Absorptionen in diesem Bereich überwiegend durch den Aminoalkyl-Linker hervorgerufen werden.

Als nächstes wurden sechs Trisaccharide **6–11** untersucht, die das gleiche Aminopentyl-verknüpfte β -Lactose-Gerüst teilen und sich lediglich in der Konnektivität (Regiochemie der glykosidischen Bindung), Konfiguration (Stereochemie der glykosidischen Bindung) oder der Komposition (Art des Monosaccharids) des letzten Bausteins unterscheiden.^[4a] Diese Moleküle stellen einen Extremfall struktureller Isomere dar; da sie sich nicht durch herkömmliche LC-MS-Methoden unterscheiden lassen, können sie als Maßstab für die systematische Beurteilung dieser Methode dienen. Die Strukturen der Trisaccharide **6–11** sowie deren IR-Spektren sind in Abbildung 2 dargestellt. Generell weist jedes Spektrum eine große Zahl hochaufgelöster Absorptionsbanden und keine Form signifikanter spektraler Überlappung auf. Die Glykanpaare **7/8** und **9/10** haben dieselbe Komposition und Konnektivität, unterscheiden sich jedoch in der Stereochemie der terminalen glykosidischen Bindung (α oder β). Anhand deutlicher Unterschiede in ihren Absorptionsmustern lassen sich diese Konfigurationsisomere leicht voneinander unterscheiden. Ähnliche Ergebnisse liegen für die Konnektivitätsisomere **6/11**, **7/10** sowie **8/9** vor, bei denen der letzte Baustein entweder eine 1 \rightarrow 3- oder eine 1 \rightarrow 4-Glykosidbindung aufweist. Die Feinstrukturen, die in den jeweiligen IR-Spektren vorliegen, ermöglichen erneut eine eindeutige Identifizierung dieser Konnektivitätsisomere. Am eindrucksvollsten sind jedoch die Beobachtungen der Kompo-

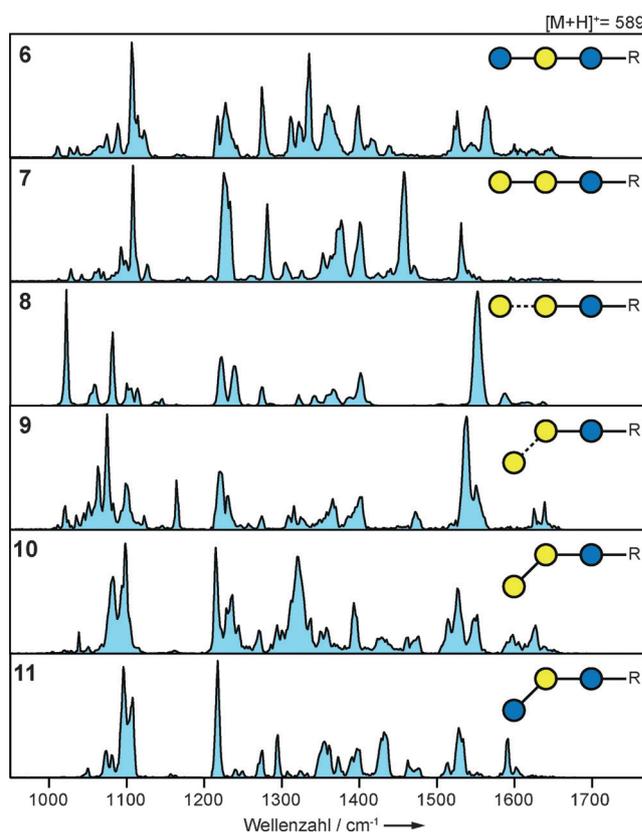


Abbildung 2. Die synthetischen Trisaccharide **6–11** unterscheiden sich lediglich in der Konnektivität (1 \rightarrow 3 oder 1 \rightarrow 4), Konfiguration (α oder β) oder Komposition (Glucose oder Galactose) des terminalen Bausteins. Trotz der marginalen Strukturunterschiede zwischen diesen Spezies kann jedes Trisaccharid leicht durch sein einzigartiges Absorptionsmuster unterschieden werden, da es eine Vielzahl aufgelöster Absorptionsbanden enthält. Die Strukturen sind nach der in Abbildung 1 b gezeigten SNFG-Nomenklatur^[11] dargestellt.

sitionsisomere **6/7** und **10/11**, welche dieselbe Konnektivität und Konfiguration aufweisen, aber entweder eine Glucose- oder Galactoseeinheit als terminalen Baustein enthalten. Jedes Trisaccharidpaar unterscheidet sich somit lediglich in der stereochemischen Orientierung einer einzigen Hydroxygruppe. Dieser kleine Strukturunterschied lässt sich mit herkömmlichen Methoden nur schwer nachweisen. Überraschenderweise bringt die Kaltionen-Spektroskopie deutliche Unterschiede in den Schwingungsmustern, insbesondere oberhalb von 1300 cm^{-1} , hervor. Eine charakteristische Bande hoher Intensität findet sich zum Beispiel bei 1450 cm^{-1} im Spektrum von Trisaccharid **7**, sie fehlt jedoch für das zugehörige Kompositionsisomer **6**. Zusammengefasst zeigt jedes der sechs Trisaccharid-Isomere **6–11** eine einzigartige IR-Signatur, die eine eindeutige Identifizierung ermöglicht. In Anbetracht der marginalen Unterschiede zwischen diesen Isomeren und der im Allgemeinen flexiblen Konformation von Kohlenhydraten verdeutlichen diese Ergebnisse das außergewöhnliche Auflösungsvermögen des vorgestellten experimentellen Ansatzes.

Um den Anwendungsbereich der Methode von synthetischen Standards auf natürliche Glykane zu erweitern, wurden die verwandten der Blutgruppen-Antigene Lewis b (Le^b , **12**)

und Lewis y (Le^y , **13**) als Natriumaddukte untersucht. Diese isomeren Tetrasaccharide bestehen jeweils aus einer *N*-Acetylglucosamin-, einer Galactose- sowie zwei Fucose-Einheiten und unterscheiden sich in ihren glykosidischen Bindungen. Durch die Abwesenheit eines Linkers ist das anomere Zentrum nicht definiert und kann sowohl eine α - als auch eine β -Konfiguration annehmen. Während die Anzahl der zu erwartenden Absorptionsbanden für Moleküle dieser Größe enorm ist, zeigen die gemessenen IR-Spektren in Abbildung 3

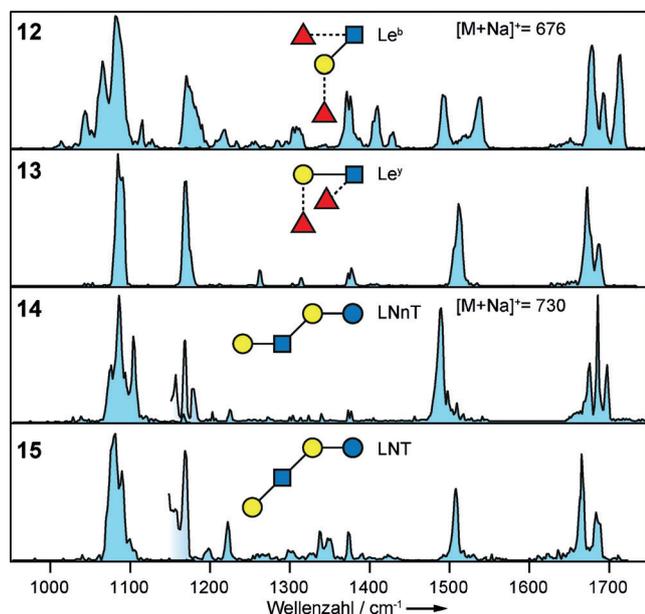


Abbildung 3. Als Stellvertreter für biologisch relevante Glykane wurden die verwandten der Blutgruppen-Antigene Le^b (**12**) und Le^y (**13**) sowie die Milchzucker-Tetrasaccharide Lacto-*N*-neotetraose (**14**) und Lacto-*N*-tetraose (**15**) als $[M+Na]^+$ -Ionen untersucht. Die charakteristischen Absorptionsmuster ermöglichen eine eindeutige Unterscheidung der jeweiligen Isomere. Die Strukturen sind nach der in Abbildung 1b gezeigten SNFG-Nomenklatur^[11] dargestellt. Der Sprung um 1150 cm^{-1} ist durch zwei leicht angepasste experimentelle Bedingungen bedingt (für Details siehe die Hintergrundinformationen).

nur eine auffallend kleine Anzahl hoch aufgelöster Banden, die eine eindeutige Unterscheidung der beiden isomeren Spezies zulassen. Das Gleiche trifft auf die beiden ausgiebig charakterisierten Milchzucker Lacto-*N*-neotetraose **14** und Lacto-*N*-tetraose **15** zu, die sich lediglich in der Konnektivität der terminalen Galactoseeinheit unterscheiden. Beide Tetrasaccharide lassen sich anhand ihrer eindeutigen und hoch aufgelösten Absorptionsbanden leicht voneinander unterscheiden.

Zusammengefasst hat Kaltionen-Spektroskopie das Potenzial, alle bisher dagewesenen Probleme der Oligosaccharidanalyse zu überwinden. Das beispiellose Auflösungsvermögen liefert höchst diagnostische Absorptionsmuster – ein spektraler Fingerabdruck der für jedes Oligosaccharid einzigartig ist. Für größere Glykane können durch die Vielzahl an Fragmenten in sequenzieller MS auch Fragment-basierte Fingerabdrücke erhalten werden. Diese Spektren ließen sich in Datenbanken hinterlegen, um beispielsweise Referenzda-

ten für die Qualitätskontrolle bereitzustellen oder als Inkremente für die Identifizierung unbekannter Proben zu dienen. Der hier vorgestellte aufwändige Versuchsaufbau wird in der Glykoanalytik wohl keine kommerzielle Anwendung finden. Allerdings liegt es nahe, dass ähnliche Ergebnisse mit weiter verbreiteten Instrumenten erzielt werden können, bei denen Kaltionen-Spektroskopie unter Verwendung von kalten Ionenfallen und handelsüblichen Labor-Lasersystemen durchgeführt wird.^[10] Obwohl es sehr anspruchsvoll ist, können auch theoretische Spektren berechnet werden (siehe Details in den Hintergrundinformationen). Von daher hat die Kaltionen-Spektroskopie das Potenzial, als ultimative analytische Methode zur vollständigen Entschlüsselung der komplexen Strukturen von Oligosacchariden zu dienen und sich als wegweisende Technologie auf dem Gebiet der Glykomik zu entwickeln.

Danksagung

Wir danken Prof. Gerard Meijer für fortwährende Unterstützung. P.H.S. dankt dem Europäischen Forschungsrat (ERC Advanced Grant AUTOHEPARIN) für großzügige finanzielle Unterstützung.

Interessenkonflikt

Die Autoren erklären, dass keine Interessenkonflikte vorliegen.

Stichwörter: Glykane · IR-Spektroskopie · Kohlenhydrate · Massenspektrometrie · Oligosaccharide

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 11248–11251
Angew. Chem. **2017**, *129*, 11400–11404

- [1] a) A. Varki, *Glycobiology* **1993**, *3*, 97–130; b) R. A. Dwek, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 683–720.
- [2] a) K. Mariño, J. Bones, J. J. Kattla, P. M. Rudd, *Nat. Chem. Biol.* **2010**, *6*, 713–723; b) L. Veillon, Y. Huang, W. Peng, X. Dong, B. G. Cho, Y. Mechref, *Electrophoresis* **2017**, <https://doi.org/10.1002/elps.201700042>.
- [3] a) N. Viseux, E. de Hoffmann, B. Domon, *Anal. Chem.* **1997**, *69*, 3193–3198; b) A. Dell, H. R. Morris, *Science* **2001**, *291*, 2351–2356; c) L. R. Ruhaak, A. M. Deelder, M. Wuhrer, *Anal. Bioanal. Chem.* **2009**, *394*, 163–174.
- [4] a) J. Hofmann, H. S. Hahm, P. H. Seeberger, K. Pagel, *Nature* **2015**, *526*, 241–244; b) P. Both, A. P. Green, C. J. Gray, R. Sardzik, J. Voglmeir, C. Fontana, M. Austeri, M. Rejzek, D. Richardson, R. A. Field, G. Widmalm, S. L. Flitsch, C. E. Eyers, *Nat. Chem.* **2014**, *6*, 65–74; c) H. Hinneburg, J. Hofmann, W. B. Struwe, A. Thader, F. Altmann, D. Varon Silva, P. H. Seeberger, K. Pagel, D. Kolarich, *Chem. Commun.* **2016**, *52*, 4381–4384; d) C. J. Gray, B. Thomas, R. Upton, L. G. Migas, C. E. Eyers, P. E. Barran, S. L. Flitsch, *Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj.* **2016**, *1860*, 1688–1709.
- [5] a) S. Rudić, H.-b. Xie, R. B. Gerber, J. P. Simons, *Mol. Phys.* **2012**, *110*, 1609–1615; b) R. Sagar, S. Rudić, D. P. Gamblin, E. M. Scanlan, T. D. Vaden, B. Odell, T. D. W. Claridge, J. P. Simons, B. G. Davis, *Chem. Sci.* **2012**, *3*, 2307–2313.

- [6] N. C. Polfer, J. J. Valle, D. T. Moore, J. Oomens, J. R. Eyler, B. Bendiak, *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 670–679.
- [7] J. Oomens, B. G. Sartakov, G. Meijer, G. von Helden, *Int. J. Mass Spectrom.* **2006**, *254*, 1–19.
- [8] a) R. A. Jockusch, R. T. Kroemer, F. O. Talbot, L. C. Snoek, P. Carcabal, J. P. Simons, M. Havenith, J. M. Bakker, I. Compagnon, G. Meijer, G. von Helden, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 5709–5714; b) F. O. Talbot, J. P. Simons, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2002**, *4*, 3562–3565; c) B. Brauer, M. Pincu, V. Buch, I. Bar, J. P. Simons, R. B. Gerber, *J. Phys. Chem. A* **2011**, *115*, 5859–5872.
- [9] W. Schöllkopf, S. Gewinner, H. Junkes, A. Paarmann, G. von Helden, H. Bluem, A. M. M. Todd, *Proc. SPIE-Int. Soc. Opt. Eng.* **2015**, *9512*, 95121L.
- [10] a) N. Heine, K. R. Asmis, *Int. Rev. Phys. Chem.* **2015**, *34*, 1–34; b) J. Roithová, A. Gray, E. Andris, J. Jašík, D. Gerlich, *Acc. Chem. Res.* **2016**, *49*, 223–230; c) L. Voronina, A. Masson, M. Kamrath, F. Schubert, D. Clemmer, C. Baldauf, T. Rizzo, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 9224–9233; d) C. T. Wolke, J. A. Fournier, E. Miliordos, S. M. Kathmann, S. S. Xantheas, M. A. Johnson, *J. Chem. Phys.* **2016**, *144*, 074305.
- [11] A. Varki, R. D. Cummings, M. Aebi, N. H. Packer, P. H. Seeberger, J. D. Esko, P. Stanley, G. Hart, A. Darvill, T. Kinoshita, J. J. Prestegard, R. L. Schnaar, H. H. Freeze, J. D. Marth, C. R. Bertozzi, M. E. Etzler, M. Frank, J. F. Vliegthart, T. Lutteke, S. Perez, E. Bolton, P. Rudd, J. Paulson, M. Kanehisa, P. Toukach, K. F. Aoki-Kinoshita, A. Dell, H. Narimatsu, W. York, N. Taniguchi, S. Kornfeld, *Glycobiology* **2015**, *25*, 1323–1324.

Manuskript erhalten: 20. März 2017

Akzeptierte Fassung online: 17. Mai 2017

Endgültige Fassung online: 8. Juni 2017