

2. Problemstellung

Um einen Beitrag zur Aufklärung der S-Acylierung, deren Mechanismus und Funktionen leisten zu können, sollten im Rahmen der vorgestellten Arbeit die Möglichkeiten neuer *in-vitro*-Tests der Palmitoylierung untersucht werden. Insbesondere als Werkzeug zur Isolation eines postulierten Enzyms mit S-Acylierungsaktivität ist ein routiniert durchführbarer, schneller und standardisierter Enzymtest von großer Bedeutung. In diesem Zusammenhang ergaben sich folgende Problemstellungen:

- 1) Inwieweit lassen sich synthetische Peptide, die an gut handhabbare Filterpapierstücke gebunden sind, als Akzeptorproteine nutzen.
- 2) Entwicklung eines Enzymtests unter Verwendung rekombinanter, in *E.coli* exprimierter Proteine als Akzeptorproteine.

Neben dieser Erprobung neuer Enzymtests wurde eine Anreicherung der Enzymaktivität mit dem Fernziel der Isolierung des Enzymproteins versucht. Dabei wurden die etablierten Methoden der Anreicherung (Schmidt und Burns, 1991) um zusätzliche chromatographische Schritte erweitert:

- 3) Anreicherung der PAT-Aktivität, welche die SFV Spikeprotein Untereinheit E1 palmitoyliert, aus humanem Plazentagewebe.

Für genauere Aussagen über die Funktion der PAT-Aktivität in der Zelle ist die subzelluläre Lokalisation des Enzyms von Interesse. Um diese zu bestimmen, wurde ein Gewebe in die Membranfraktionen Golgi-Apparat, Plasmamembran und endoplasmatisches Retikulum aufgetrennt und diese auf Enzymaktivität untersucht .

- 4) Erforschung der subzellulären Verteilung der PAT-Aktivität, welche die NRTK p59^{fyn} palmitoyliert, in Rattenlebergewebe.