

5 Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war es, Urotensin-II-(Ull)-generierende Enzyme in Extrakten aus Schweinenieren aufzuspüren, zu reinigen, und zu identifizieren. Zur Entwicklung der Reinigungsschritte ist ein chromatographisches System (PPS-System) zur schnellen Bestimmung optimaler chromatographischer Parameter für diese Arbeit entwickelt worden. Für den Nachweis der Ull-generierenden Aktivität wurde das Massenspektrometrie-basierte Enzym-Screening-System (MES-System) genutzt. Mit der Kombination dieser beiden neuen Systeme ist es gelungen, weitgehend homogene Fraktionen mit Ull-generierender Aktivität aus Nierengewebe zu gewinnen. In einer dieser Fraktionen konnte ein Enzym durch die MALDI-Fingerprint Analyse als "Pregnancy-Associated-Glycoprotein" (PAG2) identifiziert werden. In einer zweiten Fraktion mit Ull-generierender Aktivität wurde mit der LC-ESI MS/MS Analyse eine Disulfid-Isomerase-A3 identifiziert. PAG2 zeigt im Bereich seines katalytischen Zentrums eine Sequenzhomologie mit Pepsin. Es konnte nachgewiesen werden, dass eine Pepsin-Präparation, gewonnen aus dem Magen des Schweins, Ull generiert. Daher ist die Wahrscheinlichkeit groß, dass PAG2 für die Generierung von Ull verantwortlich ist. Da die Disulfid-Isomerase-A3 durch eine einfache Punktmutation eine Serin-Protease-Aktivität zeigt und die gereinigte Ull-generierende Fraktion durch Aprotinin, einem Serin-Protease-Inhibitor, gehemmt werden konnte, ist auch in diesem Fall die Wahrscheinlichkeit hoch, dass ein Enzym, das eine hohe Sequenzübereinstimmung mit der Disulfid-Isomerase-A3 hat, Ull generiert. Inwieweit die identifizierten Enzyme die Schlüsselenzyme für die Ull-Generierung darstellen, müssen zukünftige Untersuchungen zeigen. Es konnte zum ersten mal gezeigt werden, dass Ull möglicherweise über die Peptide KPYKKR-Ull und KR-Ull aus dem Precursor generiert wird, vergleichbar der Generierung von Angiotensin-II über Angiotensin-I aus Angiotensinogen.

In dieser Arbeit ist es nicht nur gelungen, PAG2, die Disulfid-Isomerase-A3 und Pepsin A als Ull-generierende-Proteasen zu identifizieren sondern es konnte auch gezeigt werden, dass Ull über mehrere Urotensin-Peptidvorstufen generiert werden kann.