6 Zusammenfassung

Nachdem es im Vorfeld dieser Arbeit gelungen war, mittels Datenbankrecherchen zwei humane Homologe zu den bis dahin bekannten mono-ADP-Ribosyltransferasen zu identifizieren und sequenzieren, war es Ziel dieser Arbeit die humanen Homologen als rekombinante Fusionsproteine verfügbar zu machen, um so hART3 bzw. hART4 näher charakterisieren zu können.

Es gelang ein stabiles Expressions- und Aufreinigungssystem für hART3 als rekombinantes Fusionsprotein (Nativprotein+FLAG-His-Tag) im prokaryontischen E. coli System zu etablieren. Hierbei wird das hART3 als Nativprotein in den periplasmatischen Spalt der Bakterien sezerniert, mittels Periplasmalysat gewonnen und aufgrund der Affinität des His-Tags des Epitopmarkers zu Talon über eine entsprechende Matrix aufgereinigt.

Die Etablierung eines ähnlichen Expressionssystems für hART4 als rekombinantes Fusionsprotein gelang im prokaryontischen E. coli System nicht. Allerdings wurde hierbei ein anderer Epitopmarker (Nativprotein+Strep-Tag) verwendet. Erfolgreich war hingegen die Klonierung und Expression des hART4 (Nativprotein-GPI-Anker-FLAG-Tag) im eukaryontischen COS-Zell-System. Es wurde so die Voraussetzung zur Isolation einer das rekombinante Fusionsprotein stabil exprimierenden Zellinie geschaffen.

Durch die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen wurden die Voraussetzungen für die Produktion größerer Proteinmengen geschaffen, die im weiteren für Immunisierungen sowie Funktionsuntersuchungen genutzt werden können.

Im Rahmen der Suche nach weiteren Familienmitgliedern der mADP-Ribosyltransferasen gelang die Sequenzierung sowie die nähere Charakterisierung von *mArt4*. Es ergaben sich Hinweise, dass es sich hierbei ebenfalls um ein GPI-verankertes Membranprotein handelt, dessen Genexpressionsmuster dem des *hART4* sehr ähnlich ist. Im Unterschied zu anderen mono-ADP-Ribosyltransferasen enthalten hART4 und mART4 nicht die für Argingin-spezifische ADP-Ribosyltransferasen typischen Aminosäuren

im katalytischen Zentrum, so dass die Frage über eine potentielle andersartige Enzymfunktion offen bleibt. Auch hier wäre ein möglicher nächster Schritt die Etablierung eines stabilen Expressions- und Aufreinigungssystems.