

Zusammenfassung

Das Enzym Inositolhexakisphosphat-Kinase 2 (IP6K-2) pyrophosphoryliert Inositolhexakisphosphat (InsP_6) zu Diphosphoinositolpentakisphosphat (PP- InsP_5) und Inositol-1,3,4,5,6-pentakisphosphat ($\text{Ins}(1,3,4,5,6)\text{P}_5$) zu Diphosphoinosiltetrakisphosphat (PP- InsP_4) und stellt damit eine metabolische Schaltstelle im Inositolphosphatstoffwechsel zwischen einfach phosphorylierten Inositolphosphaten (InsP) und pyrophosphorylierten Inositolphosphaten (PP- InsP) dar. Über die genaue Funktion der PP- InsP ist bis heute wenig bekannt. Besonders PP- InsP_5 wird bereits mit verschiedenen zellulären Prozessen, wie z.B. der Endozytose und dem zellulären Vesikel-Transport in Verbindung gebracht. Außerdem gibt es verschiedene Hinweise, dass PP- InsP_5 in die Steuerung apoptotischer Prozesse und die Regulation des Zellzyklus involviert ist.

Ein Ziel dieser Arbeit war es, die humane IP6K-2 eingehend enzymatisch zu untersuchen. Ein Schwerpunkt wurde dabei auf die Erkennung verschiedener InsP -Substrate durch das Enzym gelegt. Anhand von Substrat-Produkt-Analysen, die mit *metal-dye-detection* (MDD)-HPC durchgeführt wurden, konnte eine spezifische Substraterkennung für eine ganze Reihe hochphosphorylierter Inositolphosphate (InsP_4 und höher) ermittelt werden. Demzufolge kann die IP6K-2 verschiedene InsP_4 - und InsP_5 -Isomere sowohl phosphorylieren als auch die meisten InsP_5 -Isomere pyrophosphorylieren. Es wurde ein Muster entwickelt, durch das Phosphorylierungs- und Pyrophosphorylierungsstellen verschiedener InsP -Isomere vorhergesagt werden können. Aufgrund der gefundenen alternativen Substrate der IP6K-2 war es möglich, im *Mammalia*- InsP -Metabolismus einen putativen zusätzlichen Syntheseweg zum InsP_6 aufzuzeigen.

Ein weiterer Schwerpunkt dieser Arbeit lag in der Identifizierung eines potenten und spezifischen Inhibitors der IP6K-2. Die durchgeführten Inhibitorstudien zeigten, dass die IP6K-2 in Folge ihrer Hemmstoffsensitivität ein potentiell zelluläres Ziel für verschiedene polyphenolische Substanzen ist. Dabei wies die IP6K-2 ein eigenes spezifisches Hemmstoffprofil im Vergleich zu anderen Inositolphosphat-Kinasen der PDKG-Familie auf, wodurch eine selektive pharmakologische Inhibierung einzelner Inositolphosphat-Kinasen *in vivo* möglich wäre.

In einem weiteren Teil dieser Arbeit wurden neue zelluläre Funktionen des pyrophosphorylierten IP6K-2-Produkts PP- InsP_5 aufgeklärt. Hierbei wurde speziell geprüft, ob die Funktion von PP- InsP_5 über eine posttranslationalen Modifikation von Proteinen z.B. durch einen Inositolphosphatrest ausgeübt wird. Es konnte gezeigt werden, dass ein InsP_6 /PP- InsP_5 -Gemisch spezifisch an Ferritin bindet. Umgekehrt konnten verschiedene, wahrscheinlich kovalent gebundene, hochphosphorylierte Inositolphosphate aus HoloFerritin extrahiert werden.

Diese Ergebnisse deuten daraufhin, dass InsP_6 und/oder PP-InsP_5 eine Funktion im zellulären Eisenhaushalt innehaben. Diese könnte sowohl im zellulären zytosolischen Eisentransport als auch in einer posttranslationalen Modifikation des Ferritins liegen, wobei letztere die Eisenaufnahme durch Ferritin bzw. die Eisennukleation beeinflussen könnte.