

# 1 Zusammenfassung

Streptomyceten zeigen ähnlich wie Pilze ein filamentöses Wachstum und eine komplexe Zelldifferenzierung, bestehend aus Substratmycel-, Luftmycelbildung und anschließender Sporulation. Die zelluläre Organisation der Streptomyceten ist aber eindeutig prokaryotisch.

Innerhalb der Gattung *Streptomyces* zeichnen sich einige Mitglieder unter anderem dadurch aus, dass sie ein baumwollartiges Wachstum aufweisen und eine Transglutaminase (TGase) ins umgebende Medium sekretieren. TGasen sind eine ubiquitär vorkommende Enzymfamilie, die durch posttranslationale, kovalente Verknüpfung von Lysin- und Glutamin-Seitenketten die Ausbildung von Isopeptidbindungen katalysieren und daher Proteine miteinander vernetzen können. Die Aminosäuresequenz der bakteriellen TGase von *Streptomyces mobaraensis* unterscheidet sich von allen bisher bekannten Transglutaminasen anderer Organismen. Die Synthese der bakteriellen TGase von *S. mobaraensis* erfolgt als Präproenzym. Nach der Abspaltung des Signalpeptides und der Translokation durch die Cytoplasmamembran wird die inaktive ProTGase durch eine endogene, ebenfalls sekretierte Protease aktiviert, um eine noch unbekanntes physiologische Funktion zu übernehmen.

Ziel der vorliegenden Arbeit war der Nachweis einer Protease, die durch limitierte Proteolyse ProTGase prozessiert und dadurch aktiviert. Eine TGase-aktivierende Metalloprotease (TAMEP) wurde in Extrakten von Oberflächenkulturen identifiziert, die aufgrund eines eingeschränkten Nährstoffangebots zur Sporulation befähigt waren. Außerdem wurde aus dem Kulturmedium von Submers-Kulturen ein 14 kDa-Protein (P14) isoliert, das TAMEP in äquimolarem Verhältnis inhibiert. Die DEAE- und Arg-Sepharose gereinigte P1'-spezifische TAMEP besitzt eine Molekularmasse von 66 kDa. Nach dem Sequenzvergleich gehört das Enzym zur Thermolysin- oder M4-Proteasen-Familie, wobei ein mutmaßliches, zusätzliches Propeptid am C-Terminus eine P-Domäne aufweist, die auch bei eukaryotischen Subtilisin-artigen Proprotein-Convertasen (SPC) beschrieben ist. Convertasen wiederum spielen bei der Zymogenaktivierung biologisch aktiver Proteine eine Rolle. Die TAMEP-Schnittstelle in der ProTGase-Sequenz wurde zwischen Phe(-4) und Ser (-3) ermittelt. Eine aus dem Kulturmedium isolierte und charakterisierte Peptidyl-Aminopeptidase (PAP) vervollständigte die TGase-Prozessierung durch Abspaltung des nach TAMEP-Aktivierung verbleibenden Tetrapeptids Ser-Arg-Ala-Pro ohne weitere Aktivitätssteigerung. Schließlich erlaubten polyklonale Antikörper gegen TAMEP und P14 zusammen mit vorhandenen Anti-TGase-Antikörper zum ersten Mal die Beobachtung der TGase-Aktivierung durch TAMEP in den Überständen von Flüssig- und Oberflächenkulturen, und dies in Anwesenheit von P14. Mit Aufklärung der TGase-Aktivierung und Entdeckung von P14 sind nun wesentliche Prinzipien bekannt, wie der Mikroorganismus seine extrazellulären Proteinvernetzungsaktivitäten reguliert. Die Ergebnisse stellen eine wichtige Grundlage für die Aufklärung der physiologischen Funktion bakterieller Transglutaminase von *S. mobaraensis* dar.