

2. Zielsetzung

Mit der NAD^+ -Glycohydrolase-Aktivität und der ADP-Ribosylierung sind zwei elementare Bestandteile NAD^+ -abhängiger Signalübertragung mit Mitochondrien verknüpft. Ein Ziel der hier vorgelegten Arbeit war es, die Verbindung dieser beiden Komponenten grundlegend zu hinterfragen. Deshalb war es von großer Bedeutung, mitochondriale Proteine, die an der Metabolisierung der Pyridinnukleotide beteiligt sind bzw. Akzeptoren der Modifikation darstellen, eingehend zu untersuchen. Vor allem die Abgrenzung enzymatischer ADP-Ribosylierung, katalysiert durch eine ADP-Ribosyltransferase, von einer nicht-enzymatischen Modifikation, der die Bildung freier ADP-Ribose durch eine NADase vorangeht, sollte wichtige Informationen über die eventuelle Beteiligung NAD^+ -metabolisierender Enzymaktivitäten an der Ca^{2+} -Regulation der Mitochondrien liefern. Obwohl mehrfach dokumentiert, sind bis heute nur wenige Daten über eine enzymatische ADP-Ribosylierung, insbesondere die ADPRT, bekannt. Die Identifizierung einer ADPRT in Mitochondrien einschließlich einer molekularen Charakterisierung des Enzyms und der ADP-ribosylierten Akzeptoren, sollte interessante Hinweise auf die Modulation mitochondrialer Funktionen ergeben.

Die mitochondriale NAD^+ -Glycohydrolase katalysiert die klassische Reaktion, die aus NAD^+ freie ADP-Ribose und Nikotinamid generiert. Der Nachweis zusätzlicher katalytischer Fähigkeiten, die die Synthese und den Abbau von cADP-Ribose einschließen sowie der qualitative Vergleich dieser Enzymaktivitäten, stand für die mitochondriale NADase im Vordergrund. Die Etablierung der NADase als bifunktionelles Enzym, das den Metabolismus des neuartigen Signalmoleküls cADP-Ribose katalysiert, war aus verschiedenen Gründen ein vorrangiges Ziel. Zum einen könnte erstmalig in Säugern die Synthese von cADP-Ribose durch ein intrazelluläres Enzym belegt werden. Zum anderen ist die große Potenz dieses Nukleotids den Ca^{2+} -Ausstrom intrazellulärer Speicher zu modulieren vielfach dokumentiert. Da die NAD^+ -Glycohydrolase bereits mit dem Ca^{2+} -Efflux aus Mitochondrien in Beziehung gebracht wurde, ließe sich die Funktion des mitochondrialen Ca^{2+} -Pools bei der zellulären Calcium-Regulation festigen und darüber hinaus diesbezüglich ein interessanter Mechanismus ableiten.