

6. ZUSAMMENFASSUNG

Isolierung und Charakterisierung eines eisenreduzierenden Enzyms bei *Mycobacterium paratuberculosis*

Matthias Homuth

Im Rahmen dieser Arbeit gelang der erstmalige Nachweis eines extrazellulären eisenreduzierenden Enzyms bei Mykobakterien. Die gereinigte Reduktase hat ein relatives Molekulargewicht von ca. 17 kDa, ist empfindlich gegenüber Proteinase K und hat ihren isoelektrischen Punkt bei pH 9. Die Analyse der Aminosäurezusammensetzung ergab Glycin, Serin, Asparagin (-säure) und Glutamin (-säure) als vorherrschende Komponenten. Die enzymatische Aktivität war am größten bei 37°C und unempfindlich gegenüber pH- Werten zwischen 5,0 und 10,0.

Das Enzym war in der Lage, Eisen aus verschiedenen Substraten wie Eisenammoniumzitat, Rinder- und Pferdeferritin, Rinderlaktoferrin und humanem, porzinem und bovinem Transferrin durch Reduktion von Fe^{3+} zu Fe^{2+} zu mobilisieren. Dabei war die Umsetzung von bovinen Substraten deutlich höher als bei Substraten von anderen Tierarten. Die Reduktase konnte darüber hinaus immunelektronenmikroskopisch in Geweben paratuberkuloseinfizierter Rinder assoziiert mit intrazellulären Mykobakterien nachgewiesen werden.

Die Möglichkeit, daß diese Reduktase eine alternative Strategie von Mykobakterien zur Eisenmobilisierung und Eisenakquirierung und eine potentielle Rolle im intrazellulären Überleben des Erregers darstellt, wurde diskutiert.

6.1 SUMMARY

Isolation and characterization of a ferric reductase from *Mycobacterium paratuberculosis*

Matthias Homuth

A novel extracellular mycobacterial enzyme was identified in the ruminant pathogen *Mycobacterium paratuberculosis*. The enzyme was capable of mobilizing iron from different sources such as ferric ammonium citrate, bovine and equine ferritin, lactoferrin, and human, porcine and bovine transferrin by reduction of the metal. The purified reductase had a calculated M_r of 17 kDa, was sensitive to proteinase K treatment and had an isoelectric point of pH 9. Analysis of the amino acid composition revealed glycine, serine, asparagine (aspartic acid), and glutamine (glutamic acid) as the most frequently residues. Enzymatic activity was highest at 37°C and resistant to pH values between 5.0 and 10.0.

Using a specific anti-reductase-antibody in immunoelectron microscopy the enzyme was detected associated with intracellular mycobacteria in naturally *M. paratuberculosis*-infected bovine tissue.

It was proposed, that the described reductase represents an alternative strategy of mycobacteria to mobilize ferric iron and its potential role in bacterial evasion of intracellular defense mechanisms has been discussed.