

1 EINLEITUNG

Proteolytische Prozesse sind von zentraler Bedeutung für essentielle Lebensfunktionen. Sie bewirken nicht nur den Proteinabbau in den Zellen und Körperflüssigkeiten, sondern sind auch für die Regulation verschiedenster biologischer Prozesse unentbehrlich.

Um die Mengen und damit auch die Aktivitäten wichtiger Enzyme rasch dem Bedarf anzupassen, findet in der Zelle ein ständiger Abbau und eine Synthese von Proteinen statt. Die konstitutiven und induzierbaren Proteine unterliegen dabei spezifischen Regulationsmechanismen, wodurch unterschiedener Halbwertzeiten verschiedener Proteine zustande kommen. Von Schlüsselenzymen des Stoffwechsels beträgt die Halbwertzeit zum Teil nur einige Stunden.

Daneben stellen proteolytische Prozesse eine Form der posttranslationalen Modifikation dar. Sie findet bei allen Proteinen statt, wenn auch nur bei der proteolytischen Entfernung des Initiations-Methionins, kurz nachdem das Protein aus dem Ribosom austritt. Viele Proteine mit unterschiedlichsten biologischen Funktionen werden als inaktive Vorstufen (Propeptide) synthetisiert, die dann unter geeigneten Bedingungen durch eine gezielte Proteolyse aktiviert werden können. Verdauungsenzyme, die exogene Proteine hydrolysieren, werden als Propeptide im Magen und Pankreas synthetisiert. Die Blutgerinnung wird durch eine Kaskade von proteolytischen Aktivierungen vermittelt, die eine schnelle und wirksame Antwort auf Verletzungen gewährleistet. Einige Protein hormone werden als inaktive Vorstufen bereitgestellt. So entsteht beispielweise das Insulin durch proteolytische Entfernung eines Peptidfragments aus Proinsulin. Das faserförmige Protein Kollagen, das in Haut und Knochen vorkommt, leitet sich vom Prokollagen, einer löslichen Vorstufe, ab.

1.1 PROTEOLYSE UND IMMUNSYSTEM

In der letzten Zeit wird der Rolle von proteolytischen Prozessen im Immunsystem große Aufmerksamkeit gewidmet. Sie sind in allen Phasen der Immunantwort involviert. Das gilt sowohl für die Erkennungsphase (Antigenprozessierung und Präsentation), die Aktivierungsphase (z.B. Prozessierung von Transkriptionsfaktoren, Aktivierung und Prozessierung von Zytokinen) sowie die Effektorphase (z.B. Aktivierung des Komplementsystems, Apoptose der Zellen).

In der Antigenprozessierung spielen die intrazellulären Proteinabbausysteme eine wesentliche Funktion. Die Generierung der Peptidliganden für MHC-Klasse II wird von Lysosomen der Antigen-präsentierenden-Zellen (APZ) übernommen. Die APZ setzen sich aus Makrophagen, Dendritischen Zellen und B-Zellen zusammen, deren Gemeinsamkeit ist, dass sie Haupthistokompatibilitätsmoleküle der Klasse II (MHC-Klasse-II-Moleküle) exprimieren. Der klassische Weg für die MHC-Klasse-II Beladung beinhaltet die Aufnahme von exogenen Proteinen durch Phagozytose, Pinozytose oder Rezeptor-vermittelte Endozytose. Die entstandenen Vesikel verschmelzen dann mit den Lysosomen, in denen die Proteolyse durch Proteasen wie z.B. Cathepsin B, D, L und S stattfindet. Die Antigenbruchstücke werden im Anschluss auf das MHC-II-Molekül geladen und auf der Zelloberfläche der APZ präsentiert. Dort werden sie dann von CD4-T-Zellen erkannt [72,64].

MHC-Klasse-I-Moleküle werden auf fast allen Zellen exprimiert. Der größte Teil der MHC-Klasse-I-Liganden stammt von endogenen Proteinen, die vom Proteasom, einen multikatalytischen Proteasekomplex, abgebaut werden. Die entstandenen Peptid-Liganden gelangen über den TAP-Transporter (Peptidtransporter) in ATP abhängiger Weise in das endoplasmatische Retikulum (ER), wo die MHC-Klasse-I Komplexe gebildet werden und wandern zur Zelloberfläche [32,43,51,45]. Dort werden die transportierten Peptide „geprüft“. Die Präsentation eines fremden z.B. viralen Peptids durch das MHC-Klasse-I Molekül gibt den CD8-Zellen ein Signal, das zur Zytolyse führt. Das Proteasom besitzt zusätzliche IFN- γ -induzierbare β -Untereinheiten, die katalytisch aktiv sind und die konstitutiven Untereinheiten

ersetzen können. Dieses 20S Proteasom mit den IFN- γ induzierbaren β -Untereinheiten wird als Immunproteasom bezeichnet [21,152,125,48]. Es wird angenommen, dass im Falle einer Infektion das von den Zellen produzierte IFN- γ den Austausch der β -Untereinheiten in neu synthetisierten Proteasomen bewirkt. Das gebildete Immunproteasom moduliert dann die Immunantwort [146,27]. Obwohl die Hauptquelle der Peptidliganden für MHC-Klasse I Moleküle zwar das Proteasom ist, wird die Generierung der Peptidliganden von zytosolisch- und ER-lokalisierten Proteasen diskutiert [92,155,8].

Peptidasen auf der Zelloberfläche von Immun- und Endothelzellen spielen eine wesentliche Rolle bei der Aktivierung, Proliferation, Differenzierung, Zell-Zell-Interaktion und Transformation der Zellen [46,110,7,77,86,80]. Manche dieser Peptidasen wurden als Differenzierungsantigene (CD-Antigene) auf der Zelloberfläche von Leukozyten identifiziert. So ist CD10 (CALLA, common acute lymphoblastic leukemia antigen) z.B. mit Neprilysin (NEP; [88]) identisch, CD13 mit der Aminopeptidase N (APN; [90]), CD26 mit der Dipeptidylpeptidase IV (DPIV; [150]), CD143 mit dem Angiotensin-konvertierenden Enzym (ACE; [30]), CD156a mit „A Disintegrin And Metalloproteinase 8“ (ADAM 8; [163]), CD156b mit ADAM 17 [24,38]. Auch andere Proteasen, wie die Carboxypeptidase M (CPM) auf der Zelloberfläche von Monocyten [120], die Aminopeptidase A (APA) auf B-Zellen (das Murine BP-1/6 C3 Antigen; [161,158]), die Aminopeptidase B auf aktivierten T-Zellen [20], die Aminopeptidase P auf Endothelzellen und aktivierten T-Zellen [78,52], werden auf Zellen des Immunsystems exprimiert.

Die Expression der Ektopeptidasen innerhalb des Immunsystems ist differenzierungs- und aktivierungsabhängig. Die Expression der APN (CD13) wurde beispielsweise auf sehr früheren Stammzellen (CD34-positiven Zellen), die sowohl Vorläuferzellen der lymphozytären als auch der myelo-monozytären Zellen sind, nachgewiesen. Im Verlauf der weiteren Zelldifferenzierung ist eine CD13-Immunreaktivität nicht nachweisbar, wird aber ab einem späteren Differenzierungsstadium auf Zellen der myelo-monozytären Linie wieder ausgebildet. Lymphozyten und von ihnen abgeleitete Zelllinien gelten als CD13 negativ [90,16,137]. Da die APN innerhalb des hämatopoetischen Systems ausschließlich in myelo-monozytären Zellen, Tumorzellen

dieser Abstammung sowie vereinzelt bei malignen Lymphozyten [90,16] nachgewiesen werden kann, dient CD13 neben anderen Markern gegen Oberflächenantigene (z.B. CD11c, CD14, CD15) als Marker zur Typisierung myelomonozytärer Zellen bzw. zur Charakterisierung maligner Erkrankungen.

Die Expression der Ektopeptidasen unterliegt einer selektiven Regulation durch Zytokine, Wachstumsfaktoren und Hormone. So induzieren beispielsweise IL-4 und IL-13 die Expression von APN und DPIV, nicht aber die Expression von APA [69,124,153]. TNF- α , ein anderer Mediator, kann die Expression der Aminopeptidase A und DPIV herabregulieren, nicht aber die Expression von APN [69]. TGF- β 1, ein multifunktionelles Zytokin, spielt eine Schlüsselrolle in der Funktion der DPIV [121,122]. Dieses Zytokin kann die Expression von DPIV herabregulieren, was zur Hemmung der DNA-Synthese, der Proliferation und der Produktion von immunostimulatorischen Zytokinen führt [6,14,67].

Die Peptidasen sind an der Modulation der Immunantwort durch proteolytische Aktivierung oder Inaktivierung von biologisch aktiven Peptiden beteiligt. Das hyper-tonisch wirkende Angiotensin II wird aus inaktivem Propeptid Angiotensin I durch ACE generiert. Auf der anderen Seite wird die chemotaktische Wirkung des Chemokins SDF-1 α nach der Prozessierung durch DPIV gehemmt [116].

In der Effektorphase der Immunantwort vermitteln Serinproteasen die zytotoxische Wirkung der aktivierten CD8 T- Lymphozyten [64]. Die aktivierten zytotoxischen T-Zellen und Killerzellen lösen in der Zielzelle Apoptose aus [72]. Dieses Apoptose-Signal aktiviert verschiedene Caspasen (Cysteinproteinasen), welche den intrazellulären Proteinabbau einleiten, ohne die zytoplasmatischen Komponenten freizusetzen [72].

Mehrere Serinproteasen gehören dem Komplementsystem an, welches an Zytolyse- und Phagozytoseprozessen mitwirkt [72].

Immer mehr Beweise sprechen dafür, dass sich die Dysregulation von proteolytischen Prozessen sich in Krankheitszuständen wie Entzündungen, Autoimmunerkrankungen, Krebserkrankungen, Blutgerinnungsstörungen, Wundheilungsstörungen und dem Bluthochdruck äußert [17,141,58,123,7,77].

Aufgrund der Vielzahl proteolytischer Prozesse innerhalb des Immunsystems ist das Ziel vieler aktueller Forschungsarbeiten die genaue Aufklärung der Funktion der zellulären Peptidasen im Immunsystem. Besondere Aufmerksamkeit wird der Interaktion proteolytischer Enzyme mit Zytokinen, Wachstumsfaktoren und innerhalb der Antigenprozessierung gewidmet. Daneben beschäftigen sich klinischen Studien mit der Rolle dieser Enzyme bei Lymphomen, Leukämien und entzündlichen Prozessen. Die Erkenntnisse über die Wirkungsweise der proteolytischen Prozesse und der daran beteiligten Enzyme bilden eine wichtige Grundlage für die Entwicklung von neuen diagnostischen [168] und therapeutischen Strategien [162,141,124,17,37].

1.2 KLASSIFIKATION VON PEPTIDASEN

Peptidasen (Proteasen) sind Enzyme, die eine hydrolytische Spaltung der Peptidbindungen in einem Protein- oder Peptid-Molekül katalysieren. Entsprechend der Nomenklatur der *International Union of Biochemistry and Molecular Biology* werden Peptidasen in die Klasse der **Hydrolasen EC 3** eingeordnet [1]. Proteasen selbst sind unter der Bezeichnung EC 3.4. zu finden, die abhängig vom Ort der Wirkung und dem Mechanismus der Spaltung nomenklatorisch erweitert wird. Nach ihrem Angriffspunkt im Substratmolekül werden die proteolytischen Enzyme dabei in Endo- und Exopeptidasen unterteilt (siehe Abbildung 1).

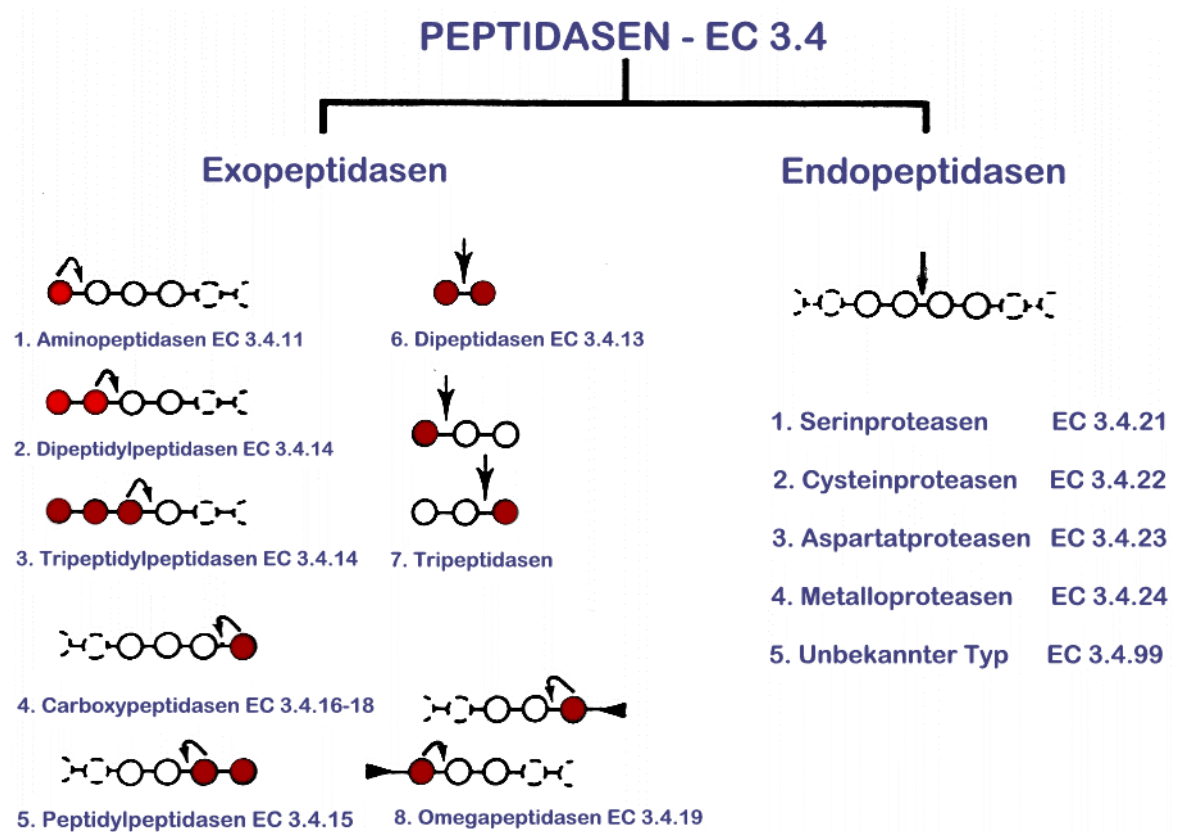


Abbildung 1: Klassifikation der Peptidasen [101].

Endopeptidasen oder Proteinasen spalten Peptidbindungen im Inneren von Proteinketten. Die Proteinasen werden weiter nach dem Bau des aktiven Zentrums in Serin-, Cystein-, Aspartat- und Metalloproteasen unterschieden.

Die Exopeptidasen hingegen greifen Peptide oder Proteine vom C- oder N-terminalen Ende der Peptidketten her an und werden nach ihren biochemischen Merkmalen wie Spaltungsort, Substrat, Reaktionsprodukt in Untergruppen (EC 3.4.11.n bis EC 3.4.19.n) geordnet. Peptidasen, die vom N-Terminus der Peptide- oder Proteinkette angreifen, nennt man Aminopeptidasen. Die Namen für Aminopeptidasen werden meistens nach der bevorzugt freigesetzten N-terminalen Aminosäure gebildet. So spaltet zum Beispiel die Leucyl-Aminopeptidase (LAP) bevorzugt Leucin und andere hydrophobe Aminosäuren von Peptiden oder anderen Substratanalogen ab. Nach

diesem Klassifikationsprinzip werden die Arginyl-, Methionyl-, Aspartyl-, Alanyl-, Glutamyl-, Prolyl- und Cysteinyl- Aminopeptidase beschrieben.

Neben dieser Klassifikation der Peptidasen existieren noch weitere, die auf der cDNA-Sequenz der Peptidasen, ihren Strukturdaten oder auf den im aktiven Zentrum befindlichen Aminosäuren basieren [119]. Entsprechend dieser Ordnung werden Peptidasen erst nach ihrem katalytischen Typ und dann in Familien von evolutionär eng verwandten Enzymen unterteilt.

- Serintyp – 22 Familien (S1-S22)
- Cysteintyp – 14 Familien (C1-C14)
- Aspartattyp – 2 Familien (A1-A2)
- Metallotyp – 25 Familien (M1-M25)
- Unbekannter Reaktionstyp – 21 Familien (U1-U21).

1.3 AMINOPEPTIDASEN

Aminopeptidasen kommen sowohl in tierischen als auch pflanzlichen Organismen vor. Man findet sie in vielen humanen Geweben auf der Zelloberfläche, in subzellulären Organellen, im Zytosol und in Körperflüssigkeiten [18,129].

Aminopeptidasen sind meistens Metallopeptidasen, die im aktiven Zentrum Zinkionen binden [147,148]. Die Zn-ligandierenden Metallopeptidasen, auch Zinkine genannt, besitzen dafür das Zn-bindende Motiv HEXXH. Die Zinkine werden weiter in Gluzincine (Clan MA) und in Metzincine (Clan MB) unterteilt [57]. Die Vertreter der Familie der Gluzincine ligandieren Zink über die zwei Histidin-Reste aus dem HEXXH-Motiv und einen Glutaminsäure-Rest, der außerhalb des Zn-bindenden Motivs verfügbar ist. Zu dieser Familie gehören u.a. die membranständige Alanyl-Aminopeptidase (APN), Arginyl-Aminopeptidase (APB) und Glutamyl-Aminopeptidase (APA).

Manche Aminopeptidasen ligandieren zwei Zinkionen im katalytischen Zentrum. Dazu gehören die Leucyl-Aminopeptidase (Clan MF, Familie M17) [18], die

Aminopeptidase P und die Methionyl-Aminopeptidase (Clan MG, Familie M24) [31,18].

1.3.1 ZYTOSOLISCHE AMINOPEPTIDASEN

Die folgenden Aminopeptidasen wurden bisher aus dem Zytosol humaner Gewebe beschrieben und charakterisiert:

- Leucyl-AP EC 3.4.11.1 [144,109,115,79,96,73,134];
- Arginyl-AP EC 3.4.11.6 [144,98,139,99,79,108];
- Alanyl-AP EC 3.4.11.14 [79,144,97,95,134,157,164];
- Aminopeptidase P EC 3.4.11.9 [31,140,154,126];
- Methionyl-Aminopeptidase EC 3.4.11.18 [13,89,91];
- Aspartyl-Aminopeptidase EC 3.4.11.21 [160].

Mantle und Mitarbeiter haben aus Niere, Gehirn und Skelettmuskeln den Menschen, zytosolische Aminopeptidasen isoliert, biochemisch charakterisiert und ihren Anteil in den Geweben bestimmt [94]. Demnach gehört der wesentliche Anteil der Amino-peptidasen-Aktivitäten der Alanyl-, Arginyl-, Leucyl- und Pyroglutamyl-Amino-peptidase (Tabelle 1).

Tabelle 1: Verteilung der löslichen Aminopeptidasen-Aktivitäten in humanen Geweben (nach Mantle [94]).

Gewebe	Gewebe Aktivität in %			
	Alanyl-AP	Arginyl-AP	Leucyl-AP	Pyroglutamyl-AP
Gehirn	80	15	1,5	3,5
Skelettmuskel	79	18	1,5	2,5
Niere	56	25	16	3

Weiterhin konnte festgestellt werden, dass die Enzyme in den drei untersuchten Geweben ähnliche Eigenschaften aufweisen. Das Auftreten eines sogenannten

gleichen „Aminopeptidasen – Musters“ mit ähnlichen Eigenschaften, spricht für eine wesentliche Funktion der zytosolischen Aminopeptidasen beim zellulären Protein-Turnover. Die Charakteristika der wichtigsten zytosolischen Aminopeptidasen sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

Tabelle 2: Vergleich der Charakteristik der zytosolischen Aminopeptidasen (nach Mantle [94]).

Eigenschaft	Alanyl-AP EC 3.4.11.14	Arginyl-AP EC 3.4.11.6	Leucyl-AP EC 3.4.11.1	Pyroglutamyl-AP EC 3.4.11.3*
pH-Optimum	7,3	6,5	9,5	8,5
Molekularmasse	100 kDa	70 kDa	270 kDa	22 kDa
Bevorzugtes Substrat	breites Spektrum; Ala-AMC am besten.	Arg-AMC und Lys-AMC	Leu-AMC und Met-AMC	Pyroglutamyl-AMC
Peptid-Substrate	Leu- und Met-Enkephalin, CCK, Somatostatin, Vasopressin, Oxytocin, Angiotensin	Bradykinin, Proangiotsin	Leu-Enkephalin, Luliberin, Proctolin	Thyroliberin, Neurotsin, Luliberin
Aktivatoren	0,5 mM Ca ⁺² ; teilweise durch andere Metallionen	0,15 M Cl ⁻ ; 5 mM Co ⁺² ;	5 mM Mg ⁺² ; 5 mM Mn ⁺² ;	1 mM DTT; keine Aktivierung durch Metallionen
Inhibitoren	IC50-Wert:	IC50-Wert:	IC50-Wert:	IC50-Wert:
Bestatin	0,1-0,2 µM	0,1-2,0 µM	0,05-0,1 µM	keine Inhibition bei 100 µM
EDTA	0,5-1 mM	nicht bestimmt	nicht bestimmt	keine Inhibition
o-Phenanthrolin	nicht bestimmt	50-100 µM	5 mM	3-5 mM
Arphamenin B	keine Inhibition	10 nM	keine Inhibition	keine Inhibition
Puromycin	10-20 µM	2-3 mM	keine Inhibition	keine Inhibition
PHMS	0,1-0,2 mM	0,03-1 µM	keine Inhibition	nicht vorhanden

* Gegenwärtig wird diese Peptidase als Omegapeptidase EC 3.4.19.3 klassifiziert [18].

In anderen Organen wurden bisher keine derartig komplexen Studien über die zytosolischen Aminopeptidasen durchgeführt. Daher ist nicht bekannt, ob das oben erwähnte Muster im Zytosol anderer Gewebe ebenfalls realisiert wird. Die grundlegenden Erkenntnisse können jedoch als Tendenz für weitere Studien dienen.

Insgesamt zeigt das ubiquitäre Vorkommen der zytosolischen Aminopeptidasen, dass diese Enzyme unentbehrlich für die Zelle sind. Die Funktion zytosolischer Aminopeptidasen wird dabei oft mit der intrazellulären Protein-Degradation und Zell-Zyklus-Kontrolle verbunden [147,148]. Die spezifischen Funktionen einzelner Aminopeptidasen sind aber meist ungeklärt. Nur für die Methionyl-Aminopeptidase konnte die wahrscheinliche, spezifische Funktion geklärt werden. Sie entfernt nach erfolgter Translation das Initiations-Methionin [147,12].

1.3.2 ZYTOSOLISCHE AMINOPEPTIDASEN UND IMMUNSYSTEM

Publikationen über Aminopeptidasen im Zytosol der Immunzellen liefern unvollständige bzw. kontroverse Informationen [73,117,118,156,47,40]. Die teilweise überlappende Substratspezifität dieser Enzyme erschwert die Abgrenzung gegenüber weiteren zellständigen Peptidasen mit ähnlichen biochemischen Eigenschaften. Aufgrund der Heterogenität des zellulären Peptidasenspektrums wird durch die Messung der Aminoacyl-Hydrolyse nicht nur eine Peptidase erfasst. Besonders bei der Anwendung von Ala- und Leu-Substraten ist die Unterscheidung von Alanyl- und Leucyl-Aminopeptidase problematisch. Nur in wenigen Fällen konnten die Enzyme definitiv identifiziert und ausreichend biochemisch charakterisiert werden.

Als erste wurden Leucyl-Aminopeptidase-Aktivitäten im Zytosol von verschiedenen Leukozyten beschrieben [115,93,73,109]. Kohno und Kanno [74] zeigten dabei eine aktivierungsabhängige Induktion der Leu-pNA-hydrolysierenden Aktivitäten als Antwort auf PHA- und Concanavalin A-Stimulation von Lymphozyten auf. Aufgrund der Substrat-Spezifität und der Aktivierung durch Mn-Ionen konnten diese

Aktivitäten der Leucyl-Amino-peptidase (LAP) zugeschrieben werden. Nagaoka und Yamashita konnten die LAP nur in der Membran von polynukleären Leukozyten finden [105,106,107]. Smith und Folds wiesen intrazellulär in diesen Zellen die Leucyl-Amino-peptidase nach, jedoch war diese mit undefinierten zytoplasmatischen Strukturen verbunden [138]. Shah und Mitarbeiter [133] hingegen konnten Leucyl-Amino-peptidase-Aktivitäten in der Membran und in Lysosomen von Lymphozyten detektieren. Lundgren hat dann drei Isoformen der LAP in polynukleären Leukozyten beschrieben [93], wovon eine im Zytosol lokalisiert wurde. Die anderen Isoformen befanden sich intrazellulär, an Granula gebunden.

Auf die Existenz anderer zytosolischen Amino-peptidasen in den Zellen des Immunsystems haben erst Grdisa und Mitarbeiter aufmerksam gemacht, indem verschiedene Aminoacyl-Derivate verwendet wurden [156,47]. So konnte im Zytosol von Lymphozyten und Monozyten die Anwesenheit von mindestens zwei Amino-peptidasen und in polynukleären Leukozyten sogar von drei festgestellt werden [47]. Die Eigenschaften eines dieser Enzyme entsprachen denen der Arginyl-Amino-peptidase, nämlich die Bevorzugung von basischen Substraten und die Aktivierung durch Chloridionen. Die anderen Amino-peptidasen konnten keinem bekannten Enzym zugeordnet werden.

Murray und Mitarbeiter [70] berichteten von zwei Amino-peptidasen in der T-Zelllinie Jurkat, wovon eine die Arginyl-Amino-peptidase zu sein scheint. Die zweite war sensitiv gegenüber Amastatin, nicht sensitiv gegenüber Metallochelatoren, ließ sich nicht durch Chloridionen aktivieren und konnte keiner bekannten Amino-peptidase zugeordnet werden. Die Anwesenheit der Arginyl-Amino-peptidase konnte von Belhacene und Mitarbeiter bestätigt werden. Sie isolierten, identifizierten und charakterisierten dieses Enzym aus T-Zellen von gesunden Spendern und aus der T-Zelllinie Jurkat [20]. Die zytosolische Arginyl-Amino-peptidase unterliegt ähnlich der Leucyl-Amino-peptidase einer stimulationsabhängigen Induktion der Aktivitäten, was auf eine Beteiligung an Immunprozessen hinweist [20].

Mittels DEAE-Chromatographie haben Rautenberg und Mitarbeiter vier zytosolische Amino-peptidasen aus „buffy coats“ präpariert [117]. Die Anwesenheit der Arginyl- und Leucyl-Amino-peptidase konnte bestätigt werden. Es war jedoch nicht möglich,

die anderen zwei Enzyme zu identifizieren [40,117,118]. Später konnte eine andere Arbeitsgruppe die zytosolische Aminopeptidase P aus „buffy coats“ isolieren und charakterisieren [126].

Zwei zytosolische Aminopeptidasen wurden in der humanen myeloischen Zelllinie U937 von Erbeznik und Hersh [41] beschrieben. Mittels eines Antiserums gegen die Puromycin-sensitive-Aminopeptidase (PSA; zAAP) konnte diese Aminopeptidase mit einer Molekularmasse von 100 kDa identifiziert werden. Die andere Aminopeptidase, mit einer Molekularmasse von 200 kDa, reagierte erst nach Ammoniumsulfat-Behandlung positiv mit dem Antiserum. Beide Enzyme bevorzugten Ala-pNA als Substrat und zeigten Unterschiede bezüglich der Sensitivität gegenüber Inhibitoren wie z.B. Puromycin und Bestatin [41]. Es fehlt jedoch für beide Aminopeptidasen eine umfassende biochemische Charakterisierung.

Wex und Mitarbeiter [85,159] beschrieben eine Ala-pNA-hydrolysierende Aktivität der T-Zelllinie H9, die zytosolisch lokalisiert war und in ihrer Substratspezifität der membranständigen Alanyl-Aminopeptidase (APN) ähnelte. Dieses unbekanntes Enzym reagierte jedoch nicht mit dem spezifischen APN-Antikörpern WM15 [159].

Vor diesem Hintergrund erscheint klar, dass es einer umfassenden und systematischen Bestimmung der biochemischen, insbesondere der enzymkinetischen Charakteristika des gereinigten Enzyms bedarf, um die Natur der Aminopeptidase aus dem Zytosol humaner T-Zellen genau zu definieren.