

## Zusammenfassung

Transglutaminasen (TGasen) repräsentieren eine Familie von Enzymen, die funktionell und strukturell sehr homolog sind. Sie katalysieren in einer kalziumabhängigen Reaktion die posttranslationale Ausbildung intra- und intermolekularer  $\epsilon$ -( $\gamma$ -Glutamyl)lysin-Bindungen zwischen Proteinseitenketten. Durch diese kovalente Isopeptidbindung fungieren TGasen als eine Art biologischer Klebstoff zwischen Proteinen und tragen so zum Aufbau und zur Stabilisierung von Zellen und Geweben bei. Man vermutet das TG3 eine der am Aufbau des *cornified envelope* beteiligten Transglutaminasen in der Haut ist. Anhand des Mausmodells konnte keine essentielle Rolle von TG3 bei der Ausbildung des *cornified envelope* bestätigt werden, sondern zeigt einen erkennbaren Effekt auf die Haarmorphogenese.

Ziel dieser Arbeit war es die Funktion von TG3 in der Haut mithilfe des bestehenden TG3 Knockoutmodells weiter zu charakterisieren und mögliche Auswirkungen des Verlustes auf die Wundheilung zu untersuchen. Wir konnten zeigen, dass TG3 die hauptsächliche, vermutlich einzige lösliche TGase der Haut ist und trotz des vollständigen Verlustes nur eine limitierte Wirkung in der intrafollikulären Haut besitzt.

Weitere Untersuchungen zur Aktivität von TG3 in der Haut und der Zunge konnten bestätigen, dass neben Kalzium die proteolytische Aktivierung des Zymogens essentiell ist, welche *in vitro* selektiv durch Dispase vermittelt wird. Aufgrund der gezeigten Veränderung der Wundheilung in TG3-defizienten Tieren vermuten wir eine Aktivierung von TG3 unter pathologischen Bedingungen. Neben einer veränderten Lokalisation von Keratin 14 während der Reepithelisierung ist TG3 offenbar auch an der Wundkontraktion beteiligt, wo es in anfänglichen Prozessen der Wundheilung eine Funktion erfüllt.

Um weitere Informationen über die Funktion von TG6, der zu TG3 homologsten Transglutaminase, zu erhalten konnte eine aussichtsreiche Strategie zur Deletion des TGM6 Gens in der Maus präsentiert werden. Zum ersten Mal konnte mit Hilfe eines selbst hergestellten, gegen die  $\beta$ -Fass Domänen gerichteten, Antikörpers die Lokalisation von TG6 in basalen und suprabasalen Keratinozyten der Haut nachgewiesen werden. *In vitro* Untersuchungen bewiesen, dass TG6, ebenso wie andere TGasen, kalziumabhängig aktiviert und durch die Bindung von GTP und ATP reguliert wird und eine duale Aktivität besitzt.

## Abstract

Transglutaminases (TGases) represent a family of functionally and structurally homologous enzymes with a widespread tissue distribution. They catalyse the posttranslational modification of proteins in a calcium-dependent manner by the formation of intra- and inter-molecular crosslinks between a glutamine and primary amine of a substrate protein, typically this leads to the formation of an  $\epsilon$ -( $\gamma$ -glutamyl)-lysine isopeptide bond. These covalent bonds act as biological glues between proteins and are required for the formation and stabilisation of different cells and tissues. It is assumed that TG3, among other TGases is essential for the formation of the cornified envelope in the epidermis. The loss of TG3 in a mouse model could not confirm a crucial role of TG3 in CE formation, but showed a discernable effect on hair morphogenesis.

The aim of this study was to characterise the role of TG3 in the skin and possible implications during wound healing. We could show that TG3 is the main, possible only soluble TGase in the skin despite the limited effect upon intrafollicular skin when deleted. Our experiments to further elucidate the enzymatic activity of TG3 illustrate that a calcium-dependent, limited proteolysis of the zymogen is essential for activation of the enzyme. This process is selectively mediated by dispase *in vitro*. On the basis of observed changes in the wound healing of TG3-deficient mice we assume that TG3 becomes activated under pathological conditions. While the expression of loricrin was not altered in TG3 knockout mice during re-epithelisation keratin 14 localisation was altered and it seems that the loss of TG3 affects wound contraction suggesting TG3 may have a role in the initial events in wound healing.

To investigate the function of TG6, the most homologous isoform to TG3, we developed a promising strategy to generate TG6-deficient mice. We recombinantly expressed the last  $\beta$ -barrel domains of the protein. Our rabbit TG6 antiserum raised against these domains demonstrated TG6 is located in the basal and suprabasal keratinocytes. *In vitro* studies demonstrated that the transamidating activity of TG6 requires calcium and is inhibited by GTP and ATP, which suggests that TG6 like other TGases possesses a dual activity