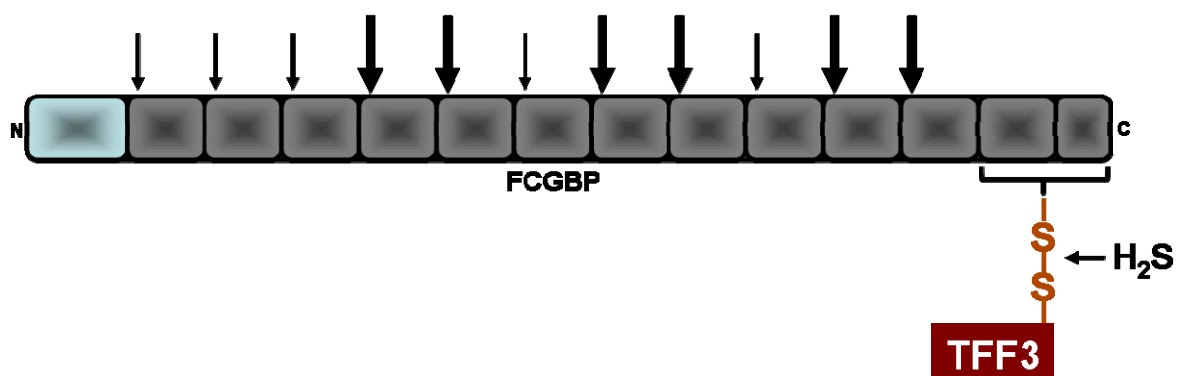


## Zusammenfassung

Humanes TFF3, ein Vertreter der „trefoil factor family“ (TFF), stellt ein sezerniertes, 59 Aminosäurereste langes Polypeptid dar, welches über sieben Cysteinreste verfügt. Es wird vorwiegend in intestinalen Becherzellen synthetisiert, ist an unterschiedlichen mukosalen Schutz- und Reparaturprozessen beteiligt und spielt eine wichtige Rolle für die Integrität muköser Epithelien. Im Verlauf dieser Arbeit konnte humanes TFF3 hauptsächlich als hochmolekulares Heteromer nachgewiesen werden. Die Reinigung und anschließende LC-ESI-MS/MS-Analyse, sowie Immundetektionen, identifizierten *IgG Fc binding protein* (FCGBP) als Disulfid-verknüpftes Partnerprotein von TFF3. FCGBP wird in intestinalen Becherzellen synthetisiert und ist Bestandteil des intestinalen Mukus. Zudem konnten auch geringe Mengen niedermolekularer TFF3-Formen nachgewiesen werden (TFF3-Monomer sowie TFF3-Dimer). Diese niedermolekularen Formen konnten auch durch Reduktion mit  $H_2S$  aus dem TFF3-FCGBP-Heteromer freigesetzt werden. Dieser Mechanismus ist in Anbetracht der hohen exogenen  $H_2S$ -Konzentrationen im Lumen des Kolons auch *in vivo* vorstellbar. So könnte der intestinale Mukus ein Reservoir für biologisch aktives TFF3 darstellen. Außerdem konnten proteolytische Spaltungen von FCGBP beobachtet werden, die in Übereinstimmung mit den bereits von Johansson *et al.* (2009) postulierten multiplen autokatalytischen Spaltstellen stehen. Bei der Untersuchung von Kolonkarzinomproben konnte kein TFF3-FCGBP-Heteromer nachgewiesen werden, aber dafür ein relativ vermehrtes Auftreten niedermolekularer TFF3-Formen. Außerdem ergaben sich erste Hinweise auf mögliche posttranslationale Modifikationen der niedermolekularen TFF3-Formen. Dies könnte neue Aspekte zur physiologischen und pathologischen Funktion von TFF3 eröffnen.



## Abstract

Human TFF3 is a secretory peptide belonging to the trefoil factor family with a predicted size of 59 amino acid residues including seven cysteine residues. It is predominantly expressed in intestinal goblet cells where it plays a key role in mucosal regeneration and repair processes. Thus, TFF3 is an important factor for the maintenance of the surface integrity of mucous epithelia. In the course of these studies, it was demonstrated that human colonic TFF3 exists mainly as a high molecular weight heteromer. Purification of this heteromer and characterization by LC-ESI-MS/MS analysis identified the *IgG Fc binding protein* (FCGBP) as the partner of TFF3. TFF3 and FCGBP are covalently linked via disulfide bridges. FCGBP is a constituent of intestinal mucus secreted by goblet cells. Furthermore, low amounts of TFF3/monomer and only little TFF3/dimer were detected in human colonic extracts. These TFF3 forms could also be released *in vitro* from the purified TFF3-FCGBP heteromer by reduction with hydrogen sulfide ( $H_2S$ ). Such a mechanism would be in line with the high  $H_2S$  concentrations reported to be present in the lumen of the colon. Consequently, these findings suggest the intestinal mucus to be a reservoir for biologically active TFF3. Furthermore, proteolytic processing of FCGBP was observed which is in line with multiple autocatalytic cleavages as proposed previously by Johansson et al. (*J. Proteome Res.* 2009;8:3549-3557). Of special note, the TFF3-FCGBP heteromer was absent in colon carcinoma samples, where mainly low molecular weight forms of TFF3 were detected. There are further indications for posttranslational modifications of these forms which open up new aspects concerning the physiological as well as pathological function of TFF3.

