

Zusammenfassung

M.Sc. Małgorzata Krause-Gruszczyńska

Titel of PhD thesis:

„Pathogenicity mechanisms of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter fetus*: characterization of pathogenicity factors and signaling in host cell invasion”

Campylobacter jejuni zählt zu den weltweit häufigsten lebensmittelbedingten Erregern der bakteriellen Enteritis und kann das Guillain-Barré Syndrom als eine mögliche Spätfolge verursachen. Die infektiöse Enteritis kann in Einzelfällen, zum Beispiel bei immunsupprimierten Menschen und Kleinkindern tödlich verlaufen. Desweiteren ist sie von hoher volkswirtschaftlicher Bedeutung. Die Invasion des Pathogens *C. jejuni* in die epithelialen Zellen wird als wichtigste Ursache für die Gewebeschädigung beschrieben, über die molekularen Mechanismen war zu Beginn der Dissertation jedoch noch wenig bekannt.

In der vorliegenden Arbeit, konnte zunächst das Fibronektin-bindende Protein CadF als ein wichtiger Pathogenitätsfaktor charakterisiert werden. CadF wird in allen bisher getesteten *C. jejuni* und *C. coli* Stämme exprimiert. Es ist nicht nur an der Adhäsion beteiligt, sondern auch für eine maximale Invasion von *Campylobacter* notwendig. Die beobachteten Unterschiede in Molekulargröße und Nukleotidensequenzen zwischen den CadF-Proteinen aus *C. jejuni* und *C. coli* könnten zur Etablierung eines neuen Assays für die Identifizierung und Diskriminierung von CadF-exprimierenden *C. jejuni* und *C. coli* in Lebensmitteln sowie in klinischen Proben genutzt werden. Weiterhin konnten wichtige neue Erkenntnisse über die *C. jejuni*-induzierten Signalwege mit dieser Arbeit dargestellt werden. Es wurde gezeigt, dass die Bakterien die Kräuselung der Zellmembran verursachen und in die Zelle mit ihrer Spitze, folgend durch ein flagellares Ende eindringen. Um die durch *C. jejuni*-induzierten Signalwege während der Invasion im Detail zu untersuchen, wurde zunächst die Rolle der kleinen Rho-GTPasen, welche wichtige Schaltstellen für die Signaltransduktion zum Aktin-Zytoskelett sind, näher untersucht. Durch die Verwendung von spezifischen GTPase-modifizierende-Toxinen, Inhibitoren, siRNA, dominant-negativen und konstitutiv-aktiven Rho-GTPase-Konstrukten, sowie spezifischen „Pull-Down“-Assays mit anschließender Western-Blot-Analyse, war es möglich Rac1 und Cdc42, aber nicht RhoA, als an der *C. jejuni* Invasion beteiligte GTPasen zu identifizieren. Übereinstimmend mit diesen Daten konnte gezeigt werden, dass eine Internalisierung von *C. jejuni* durch eine zeitabhängige Aktivierung von Rac1 und Cdc42 begleitet ist. Darüber hinaus, konnte unter Verwendung von β 1- und FAK-knockout Zellen, verschiedenen Expressions-Konstrukten, siRNA und Inhibitoren die Beteiligung von Integrine, EGFR, PDGFR, FAK, DOCK180, Vav-2, α -PIX und Tiam1

bei der *C. jejuni* Invasion dargestellt werden. Diese Daten münden in einem neuen Modell zur *C. jejuni* Invasion. Dabei interagieren die aktivierten Integrine und EGFR/PDGFR während *C. jejuni* Infektion um die Bildung von verschiedenen Signalkomplexen, einschließlich FAK, DOCK180, Vav-2, α -PIX und Tiam1, auszulösen was zu einer Aktivierung von Rac1 und Cdc42, Stimulierung von gemeinsamen Downstream-Signalwegen und zu Aktin-Zytoskelettalen Veränderungen führt. So ist eine effiziente Internalisierung von *C. jejuni* möglich. Weiterhin wurde gezeigt, dass an der Aktivierung von Rac1 und Cdc42 CadF und der flagellare Apparat involviert sind. CadF scheint somit ein bi-funktionales Protein zu sein, das zum einen an der Adhäsion beteiligt ist und zum anderen die Integrine stimuliert und dadurch die GTPasen aktiviert. Zusammengefasst, weisen die in dieser Arbeit dargestellten Ergebnisse darauf hin, dass *C. jejuni* durch einen einzigartigen Mechanismus in die Zielzellen eindringt, und die Aktivierung von Integrinen, FAK, der Rho GTPasen Rac1 und Cdc42, allerdings nicht RhoA, eine entscheidende Rolle bei der *C. jejuni* Invasion spielen.

Schließlich wurde im Rahmen dieser Arbeit die Rolle des Surface-array-Proteins SapA während der Infektion mit *Campylobacter fetus* dargestellt. Mittels SapA-Klonierung, sowie der Reinigung und zahlreichen *in vitro* Untersuchungen, aber auch durch die Verwendung von SapA-negativen Stämmen konnte gezeigt werden, dass die Src-Kinase die SapA-Phosphorylierung vermittelt. Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Phosphorylierung von SapA eine wichtige Rolle während der *C. fetus* Infektion spielt.