

Zusammenfassung der Dissertation

Diplom-Biochemikerin **Brandt Sabine**

„Untersuchungen zu CagA-induzierten Signalkaskaden während der Infektion mit *Helicobacter pylori*“

Helicobacter pylori ist ein vorwiegend extrazelluläres Pathogen mit einer bedeutenden Rolle in der Entstehung von chronischer Gastritis, Magen- und Zwölffingerdarmgeschwüren oder der Ausbildung maligner Tumore des Magens. Die Pathogenese der *H. pylori*-assoziierten Erkrankungen ist von einem funktionellen Type-IV-Sekretionssystem und dem Effektorprotein CagA abhängig. Ziel meiner Arbeiten war die Aufklärung neuer Interaktionspartner von CagA und deren Signalkaskaden während der Infektion von gastrischen Epithelzellen *in vitro*. Die Verwendung der gastrischen Epithelzelllinie AGS als Infektionsmodell und die Anwendung von molekularbiologischen, biochemischen und zellbiologischen Methoden, führten zu wichtigen neuen Erkenntnissen der CagA-induzierten Signalwege.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden folgende wichtige Ergebnisse erzielt:

- I. Ein neuer CagA-induzierter Signalweg wurde beschrieben. Unabhängig von der Phosphorylierung kann CagA den Transkriptionsfaktor NF- κ B über den Ras>Raf>Mek>Erk Signalweg aktivieren. Die CagA-induzierte IL-8-Sekretion ist zeit- und stammabhängig. Es konnten hoch- und niedriginduzierende-Stämme identifiziert werden, die durch genetischen Austausch des *cagA*-Gens ineinander umgewandelt werden können.
- II. Eine weitere CagA-phosphorylierende Kinase wurde identifiziert. Die Verwendung von spezifischen Abl-Kinase-Inhibitoren und der *knockdown* von Abl und Arg durch sh/siRNA führte zu einer Blockierung der CagA-Phosphorylierung und der Aktin-zytoskelettalen Veränderungen. Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass die Abl-Kinase im Laufe einer *H. pylori*-Infektion schnell und kontinuierlich tyrosinphosphoryliert (Y412) und aktiviert wird. Die bisher als Substrate der Src-Kinase bekannten Tyrosin-Phosphorylierungsstellen in den EPIYA-Motiven im CagA-Protein (Y899; Y918 und Y972) konnten auch als Substrate der Abl-Kinase identifiziert werden.
- III. Das Adapterprotein CrkII wurde als eine wichtige Komponente des CagA-induzierten Signalweges dargestellt. CrkII ist ein Substrat der Abl-Kinase und wird durch *H. pylori*-aktiviertes Abl am Tyrosin 221 (Y221) *in vivo* phosphoryliert. *In vivo* Untersuchungen konnten zeigen, dass phosphoryliertes CagA einen Komplex mit Abl und aktiviertem (phosphoryliertem) CrkII bildet. Auch die Expression von phosphorylierungsdefizienten CrkII führt zur Blockierung des *H. pylori*-induzierten Phänotyps. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die ADP-Ribosylierung von CrkII durch ExoT die Phosphorylierung von CrkII blockiert.
- IV. Die kleinen Rho-GTPasen Rac und H-Ras sind als essentielle Bestandteile des *H. pylori*-induzierten Phänotyps identifiziert worden.