

Julia-Elisabeth Aktories  
Dr. med.

## **The Contribution of Actin Subdomain 4 Amino Acids to Efficient Motility of *Plasmodium berghei***

Fach/Einrichtung: Infektiologie

Doktorvater: Herr Prof. Dr. rer. nat. Friedrich Frischknecht

Einzellige Parasiten der Gattung *Plasmodium* sind die Erreger der Erkrankung Malaria. Ihr komplexer Lebenszyklus ist auf Moskitos als Transport- und Endwirt sowie Wirbeltiere als Zwischenwirt angewiesen und erfordert in mehreren Phasen eine aktive Bewegung der Parasiten. Nachdem *Plasmodium*-Sporozoiten von einer infizierten *Anopheles*-Mücke in die Haut injiziert wurden, zeigen sie bei der schnellen Durchquerung des Gewebes eine ungewöhnliche Form der Fortbewegung, die sich „Gliding Motility“ („gleitende Bewegung“) nennt. Die molekulare Grundlage für das Gleiten sowie das Eindringen in Wirtszellen stellt das „Glideosom“ dar, ein Proteinkomplex mit einem zentralen Aktin-Myosin-Motor. Myosin wird von mehreren Verbindungsproteinen fest in der parasitären Zelle verankert, während Adhäsine Aktin mit der Umgebung verknüpfen. Hierdurch wird die Energie des Kraftschlages des Myosins in eine Vorwärtsbewegung der Zelle umgewandelt. Aktin, ein Schlüsselprotein dieses Apparates, ist ein wichtiges Strukturprotein aller eukaryotischen Zellen. *Plasmodium* exprimiert zwei Isoformen, Aktin I und II. In höheren Eukaryoten polymerisiert Aktin normalerweise in lange, stabile Filamente, um seine vielfältigen Funktionen zu erfüllen. *Plasmodium*-Aktin-I bildet jedoch ausschließlich kurze, intrinsisch instabile Filamente. Seine Aminosäuresequenz ist auffällig divergent zu typischen Aktinen, welche im Allgemeinen stark konserviert sind. Die meisten veränderten Aminosäuren liegen an der Oberfläche eines Aktinmonomers und finden sich gehäuft an vermutlichen Kontaktstellen innerhalb des Filaments. Die vorliegende Arbeit untersuchte daher die Hypothese, dass divergente Aminosäuren, welche wichtig für die Interaktion zwischen einzelnen Protomeren sind, die besonderen Eigenschaften der Aktinfilamente in *Plasmodium* begründen.

Die Studie identifizierte die Positionen H195, G200 und E232 in Subdomäne 4 von *Plasmodium*-Aktin-I, die zu seiner ungewöhnlichen Dynamik beitragen. Die Aminosäuren wurden durch ihre jeweiligen Gegenstücke T, S und A aus Säugetieraktin ersetzt, welche das Potenzial haben, neue intra- und intermolekulare Interaktionen zu ermöglichen. Vermutlich führte dieses Verfahren zu einer Filamentstabilisierung durch die Verstärkung von Protomer-Protomer-Kontakten oder durch Beeinflussung der Bindung von regulatorischen Proteinen. Untersucht wurden eine Aktinmutante, welche alle drei Austausche enthält, sowie drei Einzelmutanten. Die genetisch veränderten Parasiten wiesen im Blutstadium und in frühen Stadien im Moskito keine Beeinträchtigungen auf. Die Dreifachmutante zeigte allerdings, im Gegensatz zu den Einzelmutanten, eine verminderte Fähigkeit, die Speicheldrüsen der Mücken zu invadieren und *in vitro* kontinuierlich zu gleiten. Die Bewegung der Parasiten wies häufige Pausen auf. Darüber hinaus war die Präpatenz der Linie nach Übertragung durch Mücken leicht verlängert, nicht jedoch nach direkter intravenöser Injektion.

Der beobachtete Phänotyp im Gleiten kann als Verschiebung des zellulären Aktungleichgewichts in Richtung zahlreicherer und längerer Aktinfilamente und daraus resultierend einem geringeren Vorrat an Aktinmonomeren interpretiert werden. Das scheint den Umsatz von Aktinfilamenten zu behindern, der für die zellulären Funktionen notwendig ist. Eine Störung der Aktindynamik beeinflusst verschiedene Phasen des Lebenszyklus offenbar

unterschiedlich. Besonders sensibel gegenüber Manipulationen an Aktin scheinen die Invasion der Speicheldrüsen von Stechmücken und das Gleiten zu sein. Vermutlich erfordern diese Prozesse einen schnellen Auf- und Abbau von Aktinfilamenten. Desweiteren betont die Arbeit die Wichtigkeit von kontinuierlichem Gleiten als Voraussetzung für das Eindringen in die Speicheldrüsen der Mücke und die Durchquerung der Haut. Die Ergebnisse unterstreichen die zentrale Rolle von Aktin für die gleitende Bewegung von *Plasmodium*. Mehrere Unterschiede der Aminosäuresequenz zwischen *Plasmodium* und typischen Aktinen wirken zusammen, um die ungewöhnliche Dynamik zu unterhalten. Durch Untersuchung der tatsächlichen Dynamik *in vivo* ergänzt die Studie statische Strukturmodelle eines der wichtigsten und reichlich vorhandenen Proteine eukaryotischer Zellen.