

Kitiratschky, Veronique

Dr. med.

Charakterisierung der humoralen Immunantwort gegen Faktor H und FHL-1 bindende Lipoproteine von *Borrelia burgdorferi*, dem Erreger der Lyme Borreliose

Promotionsfach: Immunologie

Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. R. Wallich

Die vorgelegte Arbeit zur Charakterisierung der humoralen Immunantwort gegen Faktor H und FHL-1 bindende Lipoproteine von *Borrelia burgdorferi*, dem Erreger der Lyme Borreliose beschreibt die Identifizierung der crasp-1 Gene bbCRASP-1, baCRASP-1, bgCRASP-1, bgCRASP-1 und des gbb54 paralogen Genclusters von *B. burgdorferi* ZS7, *B. afzelii* MMS und *B. garinii* ZQ1, die wichtige Proteine für eine Inhibition der Komplementkaskade kodieren. Die CRASP-1 Familien sind in Clustern von Genen ähnlicher Größe (überwiegend 600-800 bp) organisiert. Alle untersuchten CRASP-1 außer BgCRASP-1 exprimiert. BbCRASP-1 und BaCRASP-1 binden die Komplementregulatoren FHL-1 und Faktor H. Die Proteine enthalten Domänen mit Übereinstimmungen von $\geq 70\%$. Insgesamt besteht jedoch eine ausgeprägte Variabilität unter allen CRASP-1 Proteinen mit einer durchschnittlichen Übereinstimmung von nur 45 bis 54%.

Für die Bindung der Komplementregulatoren Faktor H und FHL-1 spielt der C-terminus von BbCRASP-1 und BaCRASP-1 eine entscheidende Rolle, wobei die Aminosäuren Tyr239, Tyr240 und Leu246 in die Faktor H/FHL-1 Bindung durch BbCRASP-1 involviert sind. Atomstruktur und funktionelle Analysen zeigen, dass BbCRASP-1 ein Homodimer ist, wobei der C-Terminus das Bindeglied zwischen den beiden Monomeren bildet und Mutationen im bzw. Verlust des C-Terminus in einer strukturellen Destabilisierung des Proteins mit folgendem Funktionsverlust resultieren. Mit rekombinatem BbCRASP-1 konnte die räumlichen Struktur des Moleküls aufgeklärt werden.

Mittels Nachweis der CRASP-1 Serokonversion in Patientenserum konnte gezeigt werden, dass spezifische Antikörper gegen CRASP-1 Proteine im Verlauf einer Infektion gebildet werden, wobei ganz überwiegend Kreuzreaktivität zwischen den CRASP-1 Molekülen besteht. Dies könnte ein Hinweis auf gemeinsame Epitope der CRASP-1 Proteine sein. Interessanterweise konnte nur im ELISA nicht aber im Westernblot die Bindung von humanen Antikörpern in Seren von Borreliose Patienten an CRASP-1 nachgewiesen werden. Dies könnte ein Hinweis sein, dass für die Bindung eine native Konfiguration der CRASPs wichtig ist. Unter Bedingungen hoher Stringenz besteht im ELISA eine Sensitivität von 66,5% und eine Spezifität von 96,5%.

In vivo-Expression von CRASP-1 Molekülen macht diese für den Einsatz zu diagnostischen Zwecken interessant. Inwiefern CRASP-1 Proteine die Sensitivität und Spezifität des ELISA als Suchtest erhöhen und u.U. durch Optimierung dieser Parameter einen Bestätigungs-Westernblot überflüssig machen muss noch untersucht werden.