



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Fakultät für Klinische Medizin Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Präsentation bakterieller T-Zellepitope durch professionelle
antigenpräsentierende Zellen in vitro**

Autor: Petra Schöneberger
Institut / Klinik: Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. G. Geginat

In der vorliegenden Arbeit wurde ein in vitro Modellsystem entwickelt, dass die Analyse der indirekten MHC-Klasse-I-restringierten „Kreuzpräsentation“ durch DC von T-Zellantigenen von *L. monocytogenes* erlaubte. Für die Untersuchung der Kreuzpräsentation wurden allogene Antigen donorzellen mit *L. monocytogenes DactA* infiziert, einem Listerienstamm der durch die Deletion des *actA* Gens die Fähigkeit zur interzellulären Ausbreitung verloren hat. Um die direkte Antigenpräsentation durch DC nach der Aufnahme lebender Bakterien von infizierten Antigen donorzellen sicher auszuschließen, wurden DC mit einem intrazellulär akkumulierenden Antibiotikum beladen. Antibiotisch beladene APC präsentierten selbst nach direkter Infektion keine Listerienantigene im Kontext von MHC-Klasse-I-Molekülen. Durch diese Maßnahmen konnte die direkte Antigenpräsentation ausgeschlossen werden. Bei der Untersuchung der Kreuzpräsentation zeigte sich, dass diese die andauernde bakterielle *de novo* Proteinsynthese in Antigen donorzellen erfordert. Dies ist ein klarer Unterschied zur Kreuzpräsentation von CD4-T-Zellantigenen, die keine bakterielle Proteinbiosynthese erfordert. Die in dem hier etablierten Kreuzpräsentationssystem durchgeführten Untersuchungen lassen erstmals vermuten, dass bei der indirekten Antigenpräsentation bakterieller Antigene instabile bakterielle Translationsprodukte eine wichtige Rolle spielen.

Das zweite Ziel der Arbeit war die Identifikation eines unbekanntes Kb-restringierten CD8-T-Zellepitops von *L. monocytogenes*. Da von dem unbekanntes Epitop nur die MHC-Restriktion (Kb) und der Ursprungsorganismus (*L. monocytogenes*) bekannt waren, sollten Kb-gebundene antigene Peptide direkt massenspektrometrisch analysiert werden. Da das unbekanntes Epitop nur in vivo, in infizierte Organen vorhanden war, wurde Kb direkt aus infizierten Organen isoliert. Die Identifikation des unbekanntes Kb-restringierten CD8-T-Zellepitops von *L. monocytogenes* gelang aber nicht da keine CD8-T-Zellen mit ausreichend hoher Sensitivität verfügbar waren um nach Immunpräzipitation von Kb und wiederholter HPLC-Fraktionierung des Kb-gebundenen Materials antigene Fraktionen zu identifizieren. Dies war ausschließlich mit einem antigenen Modellpeptid von Ovalbumin, OVA 257-264, nach Infektion mit Ovalbumin-exprimierenden *L. monocytogenes ova* möglich. Die Untersuchung dieses Modellantigens zeigte aber die grundsätzliche Praktikabilität des Ansatzes, indem nur ex vivo isolierte CD8 T-Zellen sowie ex vivo aus infizierten Organen isolierte antigene Peptide verwendet wurden.