

Darius Alexander Klaschka

Dr. med.

## **Entwicklung von Methoden zur gezielten Untersuchung der Abläufe und der Regulation des Schizogonieprozesses in Blutstadien des Malariaerregers *Plasmodium falciparum***

Fach: Parasitologie

Doktorvater: Prof. Dr. Friedrich Frischknecht

*Plasmodium falciparum*, der Erreger der Erkrankung *Malaria tropica*, durchläuft einen komplexen Lebenszyklus, während dem er zu verschiedenen Zeitpunkten außerordentliche Vermehrungsprozesse absolviert. Hierbei ist - auch von einem klinischen Standpunkt aus betrachtet - insbesondere der asexuelle Blutzyklus hervorzuheben, da während diesem die Hauptsymptome der *Malaria tropica*-Infektion auftreten. Die Vervielfältigung der Parasiten im Blutzyklus ist von wiederholt ablaufenden DNA-Replikationen und Kernteilungen geprägt, was in der Gesamtheit des Prozesses als Schizogonie bezeichnet wird. Die Regulationsmechanismen, welchen die Schizogonie unterliegt, sowie der genaue Ablauf dieses einmaligen Prozesses, sind bislang jedoch nur unzureichend verstanden.

Diese Arbeit fokussierte sich einerseits auf das Protein *PfCRK4*, welchem eine entscheidende Rolle in der Initiation mehrerer, aufeinanderfolgender DNA-Replikationsschritte zugeschrieben wird. Es wurde bereits mithilfe einer Phosphoproteomanalyse eine Liste an potenziell durch *PfCRK4* regulierten Proteinen identifiziert. Mit dem Ziel, das Feld an möglichen Interaktionspartnern einzugrenzen und somit einen Beitrag zur Decodierung der Signalkaskade von *PfCRK4* zu leisten, klonierte ich das Plasmid *PfCRK4*-BirA und erhielt mittels erfolgreicher Transfektion die Zelllinie *Pf3D7*-CRK4-BirA. Mithilfe dieser Zelllinie kann, aufbauend auf meiner Arbeit, unter Anwendung von BioID einerseits die Liste an Kandidaten für durch *PfCRK4*-regulierte Proteine verringert werden, andererseits sollen darüber hinaus auch potenzielle Regulatoren der Aktivität von *PfCRK4* selbst entdeckt werden. Somit wurde mit der von mir klonierten und transfizierten Zelllinie eine Grundlage zur weiteren Erforschung der Signalkaskade von *PfCRK4* geschaffen.

Des Weiteren erhielt ich durch Transfektion eines Plasmides, welches das fluoreszierende Protein mCherry, gekoppelt an drei nukleäre Lokalisierungssignale, enthält, die Zelllinie *Pf3D7*-NLS-mCherry. Mit deren Hilfe kann die Dynamik der Vorgänge während der

Schizogonie mittels *live-cell*-Mikroskopie visualisiert und quantifiziert werden. Erste Ergebnisse, welche mit dieser Zelllinie erzielt wurden, erwiesen sich bereits als sehr vielversprechend. Somit stellt diese Zelllinie in Zukunft ein wichtiges Werkzeug zur Erforschung der komplexen und biologisch einzigartigen Vorgänge während der Schizogonie dar. Hier schließt sich auch der Kreis zur Kinase *PfCRK4*, welche einen höchst potenten Regulator im Rahmen dieses Prozesses darstellt. Somit bieten die in dieser Arbeit beschriebenen Methoden und Techniken die Möglichkeit für eine Analyse der Vorgänge auf zellulärer Ebene und gleichzeitig die Dechiffrierung der molekularen Regulationsmechanismen. Hierdurch besteht langfristig die Aussicht auf ein immer besseres Verständnis der gesamten erythrozytären Schizogonie. Dies bietet wiederum die Möglichkeit, Medikamente, welche in diesen vulnerablen Prozess eingreifen und diesen gezielt inhibieren können, zu entwickeln und somit zur weiteren Bekämpfung der auch heute noch mit einer hohen Morbidität und Mortalität einhergehenden Erkrankung *Malaria tropica* beizutragen.