

Zusammenfassung

Lena Maria Brenner

Dr. med. dent.

Analyse von oberflächenassoziierten Proteinen der oral pathogenen Keime *Streptococcus mutans* und *Streptococcus gordonii*

Fach/Einrichtung: Mund-Zahn-Kieferheilkunde

Doktormutter: Prof. Dr. med. dent. Diana Wolff

In der vorliegenden Arbeit wurden die oberflächenassoziierten Proteine der oral pathogenen Keime von *Streptococcus mutans* und *Streptococcus gordonii* analysiert.

Die vorliegende Arbeit bediente sich im Hauptversuch dabei der Methode des direkten Trypsinverdau an der Bakterienoberfläche, um eine Anzahl an oberflächenassoziierten Proteinen von *Streptococcus mutans* und *Streptococcus gordonii* zu gewinnen und diese im Anschluss mittels Flüssigchromatographie in Kombination mit Massenspektrometrie zu identifizieren. Dafür war ein Vorversuch zur Identifizierung des Wachstumsverhaltens der beiden Bakterien notwendig. Zusätzlich zu der proteolytischen In-vitro Analyse wurde eine genomische Analyse In-silico durchgeführt. Dafür wurden Datenbanken zur subzellulären Proteinlokalisierung verwendet.

Die durch die In-silico und In-vitro Analyse identifizierten zelloberflächenassoziierten Proteine verteilen sich über mehrere Bereiche der Zelloberfläche.

Außerdem wurden die oberflächenassoziierten Proteine aus der In-silico und In-vitro Analyse auf ihre Orthologieverhältnisse hin analysiert.

Aus der In-silico Analyse resultieren 45 für *Streptococcus mutans* und 61 für *Streptococcus gordonii* potenziell zelloberflächenassoziierte Proteine. Die Analyse der Orthologieverhältnisse der In-silico identifizierten Proteine ergab 26 orthologe Proteine bei *Streptococcus mutans* und 36 orthologe Proteine bei *Streptococcus gordonii*. Orthologe Proteine stellen einen interessanten Ansatz für die Entwicklung von Medikamenten und Impfungen dar, bei denen es aufgrund des Abzielens auf orthologe Proteine möglich ist durch nur ein Medikament zwei oder mehrere Bakterien zu beeinflussen.

Um die mutmaßlich oberflächenassoziierte Lage, der in der In-silico Analyse identifizierten Proteine zu verifizieren, wurde der direkte Trypsinverdau an ganzen *Streptococcus mutans* und *Streptococcus gordonii* Bakterien durchgeführt.

Im Hauptversuch der proteolytischen In-vitro Analyse wurden aufgrund der bekannten unterschiedlichen Proteinexpression während des Bakterienwachstums, Proteine in der frühen und späten exponentiellen Wachstumsphase analysiert, um eine umfassende Bandbreite an oberflächenassoziierten Proteinen bereit zu stellen. Hierfür wurde in einem Vorversuch das Wachstumsverhalten von *Streptococcus mutans* und *Streptococcus gordonii* genauestens analysiert.

Durch den direkten Trypsinverdau in der In-vitro Analyse an der Bakterienoberfläche wurden 83 Proteine bei *Streptococcus mutans* und 49 Proteine bei *Streptococcus gordonii* identifiziert.

Davon wurden 17 Proteine von *Streptococcus mutans*, welche in der In-silico Analyse vorhergesagt wurden, identifiziert und somit bestätigt. Für *Streptococcus gordonii* ließen sich durch den proteolytischen Ansatz 16 Proteine aus den in der In-silico Analyse vorhergesagten oberflächenassoziierten Proteinen bestätigen.

Bei *Streptococcus mutans* wurden Proteine mit zellwandständiger und extrazellulärer Lokalisation zum ersten Mal in dieser Arbeit In-vitro identifiziert, zum Beispiel eine Peptidoglykandacetylase und eine 5'-Nukleotidase, für die es aktuell keine veröffentlichte Literatur gibt. Sie stellen mit hoher Wahrscheinlichkeit wichtige Virulenzfaktoren dar.

Auch bei *Streptococcus gordonii* wurden Proteine zum ersten Mal in dieser Arbeit In-vitro identifiziert. Eine Peptidyl-prolyl cis-trans Isomerase von der es bisher keine veröffentlichte Literatur gibt. Vorhergesagt wurde sie mit mehreren Standorten. In dieser Arbeit wird sie auf Grund der Daten als membranständig postuliert. Ebenfalls wurde das LPXTG-Zellwandoberflächen-Protein der Familie der Zink- Carboxypeptidasen, welches zellwandständig ist, in der vorliegenden Arbeit zum ersten Mal In-vitro bestätigt.

Jeweils einem Protein von *Streptococcus mutans* und einem Protein von *Streptococcus gordonii* wurde ein neuer Standort auf Grund der vorliegenden Arbeit postuliert. In den In-vitro Proben von *Streptococcus mutans* und *Streptococcus gordonii* wurden außerdem zytoplasmatische Proteine, zytoplasmatische/membranständige Proteine und Proteine mit unbekannter Lokalisation gefunden, über die bisher noch nicht berichtet wurde. Darunter befinden sich Lipoproteine und penicillinbindende Proteine. Nach den Untersuchungen dieser Arbeit könnte man mutmaßen, dass für diese Proteine „neu“ eine Oberflächenassoziation identifiziert wurde. Dies könnte zur genauen Lokalisation in weiteren Studien beitragen.

Die in dieser Arbeit erhobenen Daten zeigen eine Reihe wichtiger oberflächenassoziierter Proteine von *Streptococcus mutans* und *Streptococcus gordonii*. Diese Proteine spielen eine wichtige Rolle bei der oralen Biofilmbildung und sind wichtig für deren Virulenz und Pathogenese. Das Eingreifen an den oberflächenassoziierten Proteinen und somit deren Regulierung, könnte die Zusammensetzung des mikrobiellen Biofilms auf der Zahnoberfläche beeinflussen. Oberflächenassoziierte Proteine auszuschalten oder zu verändern und somit das natürliche Quorum Sensing zu beeinflussen, könnte die Plaqueentwicklung beeinträchtigen.

Dies könnte sowohl zu einer Abschwächung der Virulenz der einzelnen Keime führen als auch die daraus entstehenden Krankheiten beeinflussen. Zusätzlich könnten die hier berichteten Daten hilfreich sein bei der Entwicklung neuer diagnostischer Möglichkeiten, neue Ansatzpunkte für Medikamente und Impfungen.