



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

***Chlamydia trachomatis* benötigt TLR3 der Wirtszelle für eine
erfolgreiche Replikation**

Autor: Lina Kellner
Institut / Klinik: Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene
Doktorvater: Prof. Dr. T. Miethke

Das obligat intrazelluläre Bakterium *Chlamydia trachomatis* Serovar D ist der Erreger einer der häufigsten Geschlechtskrankheiten weltweit und kann bei Frauen zu Infertilität führen. Inwieweit *Chlamydia trachomatis* mit dem intrazellulären Pattern Recognition Receptor (PRR) Toll-like-Rezeptor 3 (TLR3) interagiert, ist noch nicht hinreichend untersucht.

Diese Arbeit weist das Rekrutieren von TLR3 und seinem intrazellulären Adapterprotein TIR-domain-containing adapter-inducing interferon- β (TRIF) zu Inklusionen von *Chlamydia trachomatis* in der Zervixkarzinomzelllinie HeLa und der Blasenkarzinomzelllinie T24/83 mittels Immunfluoreszenzmikroskopie nach.

Als Anhaltspunkt für eine Signalwegaktivierung dient die Phosphorylierung von interferon regulatory factor 3 (IRF3), sichtbar im Western Blot, und die Produktion von Interferon beta (IFN- β), nachgewiesen im ELISA.

HeLa-Zellen zeigten einen defekten TLR3-Signalweg, der nach Stimulation mit dem selektiven TLR3-Agonisten Poly-(I:C) nicht aktiviert werden konnte.

T24/83-Zellen hingegen wiesen einen TLR3-Signalweg auf, der auf beiden Ebenen eine Aktivierung durch Poly-(I:C) zeigte.

Auf eine Infektion mit *Chlamydia trachomatis* folgte in keiner der beiden Zelllinien eine adäquate Signalwegaktivierung durch TLR3, weder im Western Blot (phospho-IRF3-Detektion und Rekrutierung in den Zellkern) noch im ELISA (IFN- β -Produktion). Zwar konnte eine RNA-Analyse nach 24-stündiger Infektion eine gesteigerte Transkription IFN-verwandter und -induzierter Gene belegen, allerdings traf das für das IFN β 1-Gen selbst nicht zu.

Der Einsatz des TLR3/dsRNA-Komplex Inhibitors Thiophenecarboxamido-Propionat führte bei simultaner Stimulation durch Poly-(I:C) zu einer selektiven Blockade des TLR3-Signalwegs in T24/83-Zellen. Bei der Untersuchung von *Chlamydia trachomatis* unter TLR3-Inhibition konnte ein verlangsamtes Inklusionswachstum festgestellt werden. Die Bildung infektiöser Nachkommen war unter TLR3-Inhibition gestört. Schließlich zeigte die Darstellung des chlamydialen Erbmaterials innerhalb der Inklusionen durch Immunfluoreszenzmikroskopie unter TLR3-Inhibition Veränderungen in Form und Struktur.

In der Analyse zellulärer RNA-Expressionsintensitäten konnten intrazelluläre Veränderungen während einer Infektion dargestellt werden. Zudem konnte die Gentranskription infizierter Zellen mit derjenigen in infizierten und zeitgleich inhibierten Zellen verglichen werden.

Bei der Auswertung des RNA-Arrays konnten TLR3-abhängige Expressionsänderungen einzelner Gene des Lipidmetabolismus sowie des kompletten Steroidbiosynthesewegs identifiziert werden. In der Literatur bereits mehrfach beschrieben ist die Versorgung von *Chlamydia trachomatis* Inklusionen mit zelleigenen Lipiden, die eine erfolgreiche Replikation gewährleistet.

Ob ein kausaler Zusammenhang zwischen den Entwicklungsdefiziten der Inklusionen unter TLR3-Inhibition und den TLR3-Inhibitor-bedingten Veränderungen im Lipidmetabolismus besteht, muss durch weitere Experimente überprüft werden. Insbesondere die Verwendung alternativer Methoden wie beispielsweise die Infektion TLR3-defizitärer Zellen oder der Knockdown einzelner Metabolismus-Gene spielen eine wichtige Rolle dabei, unspezifische Nebenwirkungen des verwendeten TLR3-Inhibitors auszuschließen.