

Simon Kracht
Dr. med.

Charakterisierung von Doppel- und Dreifach-Knockouts von Adhesinen der TRAP-Familie in *P. berghei* Sporozoiten

Fach/Einrichtung: Hygiene

Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. Friedrich Frischknecht

Sporozoiten der *Plasmodium spp.* müssen auf ihrer Reise vom Mitteldarm des Moskito bis zur Leber des Wirbeltiers eine Vielzahl unterschiedlicher Wirtsgewebe durchwandern. Dazu bedient sich der Parasit einer besonderen Form der Fortbewegung, Gleiten genannt. Nach aktuellem Stand der Wissenschaft liegt die molekulare Grundlage des Gleitens in einem Aktin-Myosin-Motorkomplex, welcher über Adhäsine der TRAP-Familie mit dem Substrat verbunden ist. Drei von ihnen, TRAP, TREP und TLP, spielen im Sporozoitenstadium eine Rolle. Das während des gesamten Sporozoitenstadiums exprimierte TRAP ist sowohl für das Gleiten als auch die Zellinvasion in Moskito und Wirbeltierwirt essenziell. TREP dagegen wird hauptsächlich zur Invasion der Moskito-Speicheldrüsen und TLP zur Zelldurchwanderung im Wirbeltierwirt benötigt. Alle drei Proteine sind bereits einzeln charakterisiert worden, jedoch ist über ihr Zusammenspiel noch recht wenig bekannt.

In meiner Arbeit befasse ich mich daher mit Doppel- und Dreifach-Knockouts dieser drei Adhäsine und untersuche diese auf ihren Effekt auf Motilität, Lebenszyklus und Infektiosität des Parasiten hin. Zunächst kreierte ich dazu eine *trap(-)/tlp(-)* Parasitenlinie von *P. berghei* mittels doppelt homologer Rekombination auf dem Boden einer TLP-Knockoutlinie, welche mir ebenso wie der TRAP/TREP-, TLP/TREP- und der Dreifach-Knockout freundlicherweise von Konrad Beyer zur Verfügung gestellt wurden. Daraufhin untersuchte ich die einzelnen Parasitenlinien auf ihren Progress im Lebenszyklus im Moskito, führte Gliding Assays auf Glas mit Hämolymphe- und Speicheldrüsen-Sporozoiten durch und überprüfte die Infektiosität des TLP/TREP-Knockouts. Dabei zeigte sich, dass der Phänotyp des jeweiligen Doppel- oder Dreifach-Knockouts dem des jeweils dominanten Einzel-Knockouts gleicht, wobei der TRAP-Knockout der dominanteste und der TLP-Knockout der am wenigsten dominante ist. So waren alle *trap(-)* Parasitenlinien nicht mehr in der Lage, Moskito- Speicheldrüsen zu invadieren und zeigten kein produktives zirkuläres Gleiten. Sporozoiten des TLP/TREP-Knockouts wiederum waren zwar zu beidem fähig, jedoch im Vergleich zum Wildtyp nur in reduziertem Maße. Interessanterweise zeigten jedoch alle Knockout- Parasitenlinien, sogar der Dreifach-Knockout, mit „patch gliding“ eine Art unproduktive Motilität. Aufgrund der bei den *trap(-)* Mutanten fehlenden Speicheldrüseninvasion wurde nur der TLP/TREP-Knockout auf seine Infektiosität hin überprüft. Dabei war sowohl bei intravenös injizierten

tlp(-)/trep(-) Hämolymp- als auch Speicheldrüsen-Sporoziten keine verringerte Infektiosität im Vergleich zum Wildtyp festzustellen. Bei der natürlichen Übertragung per Moskitostich entwickelte jedoch keine der gestochenen Mäuse eine Blutinfektion. Dieses auffällige Ergebnis mag aber nicht nur auf eine verringerte Infektiosität der Knockout-Parasiten zurückzuführen sein. Möglicherweise spielt die beim TLP/TREP-Knockout verringerte Anzahl an Parasiten in der Speicheldrüse des Moskitos dabei ebenfalls eine Rolle. Insgesamt lässt sich festhalten, dass die drei im Sporozitenstadium exprimierten Adhäsine der TRAP-Familie weitestgehend unabhängige Rollen in der Fortbewegung des Parasiten einnehmen. Da jedoch auch Parasiten, denen alle drei Adhäsine fehlen, mit „patch gliding“ ungerichtete Motilität zeigen, ist zu vermuten, dass noch weitere Proteine an der Fortbewegung der Sporoziten beteiligt sind.