

Friedrich Harald Bernhard Braumann  
Dr. med.

## **Disulfide trapping of the adhesin Thrombospondin Related Anonymous Protein**

Fach/Einrichtung: Hygiene

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

Malaria ist eine durch Mücken übertragene Krankheit, die durch *Plasmodium spp.* verursacht wird. Bis heute stellt Malaria eine enorme Belastung für die Gesellschaft dar. Jährlich werden etwa 600.000 Todesfälle verzeichnet.

Der *Plasmodium*-Sporozoit ist das übertragbare Stadium des Parasiten. Um die verschiedenen Stufen seines Lebenszyklus zu durchlaufen, zeigen *Plasmodium*-Sporozoiten aktive Beweglichkeit. Diese ist notwendig, um in die Speicheldrüsen der Stechmücke einzudringen, aber auch um im Anfangsstadium der Infektion in Blutgefäße und Hepatozyten des Säugerwirtes zu gelangen. Die bei *Plasmodium* beobachtete Form der aktiven Bewegung wird als „gliding“ bezeichnet. „Gliding“ beruht auf adhäsiven Proteinen, die an die Parasitenoberfläche abgesondert werden. Eines dieser Adhäsine ist TRAP, das „Thrombospondin-related anonymous protein“. TRAP wird im Sporozoitenstadium exprimiert und ist für die Übertragung von Malaria unabdingbar. TRAP „Knock-Out“ Sporozoiten weisen schwere Defekte bei der Invasion der Speicheldrüsen von Moskitos auf und sind nicht infektiös. TRAP besteht aus einer extrazellulären N-terminalen (von Willebrand Factor-like)

I Domäne, einer „thrombospondin-repeat region“, einer Transmembrandomäne und einer zytoplasmatischen Taildomäne. Bei menschlichen Integrinen ändern I Domänen ihre Form zwischen einer offenen Konformation mit hoher Affinität und einer geschlossenen Konformation. Ähnliche Beobachtungen wurden auch für die

I Domäne von TRAP gemacht. Es ist zu erwarten, dass TRAP durch eine Konformationsänderung eben dieser Domäne mit extrazellulären Liganden interagiert.

Dennis Klug, ein ehemaliger PhD Student aus dem Frischknecht-Labor („Center for Integrative Infectious Disease Research“, Universität Heidelberg), generierte verschiedene mutierte Parasitenlinien, um die Konformationszustände isoliert zu untersuchen. In Zusammenarbeit mit dem Labor von Timothy A. Springer der Harvard Medical School wurden spezifische Punktmutationen in die I Domäne von TRAP aus *P. berghei* eingebracht. Diese Mutationen resultieren in definierten Disulfidbindungen, die die I Domäne entweder in der offenen oder geschlossenen Konformation fixieren. Insgesamt wurden drei verschiedene Parasitenlinien generiert. Zwei Doppelmutanten, bei denen TRAP entweder in der geschlossenen oder in der offenen Konformation fixiert ist, und eine Kontrolllinie mit einer einzigen Mutation. Diese reicht nicht aus, um eine Disulfidbindung zu bilden - entsprechend bleibt bei der Kontrolllinie die Fähigkeit der Konformationsänderung erhalten.

In dieser Arbeit habe ich die Bedeutung der Konformationsänderung der TRAP

I Domäne für das „gliding“ von Sporozoiten und aber auch die Übertragung von Malaria per se untersucht. Ich habe die Charakterisierung der Mutanten vervollständigt und erweitert. Beide TRAP Mutanten mit fixierter Konformation sind in ihrer Motilität und der Fähigkeit in die Speicheldrüsen der Moskitos einzudringen, stark eingeschränkt. Die Infektivität war bei beiden Doppelmutanten reduziert.

Des Weiteren konnte ich zeigen, dass sich die Motilität einer geringen Anzahl von Sporozoiten durch Behandlung mit einem Reduktionsmittel vor den Experimenten wiederherstellen lässt. Ich habe verschiedene Theorien über die Rolle von TRAP bei der Aktivierung des „gliding“ und der Bindung von spezifischen Liganden für die Speicheldrüsen- und Hepatozyteninvasion

vorgelegt. Die genauen Mechanismen sowie das Zusammenspiel von TRAP mit anderen Adhäsinen bleiben jedoch unklar. Eine Konformationsänderung in der TRAP I Domäne scheint essenziell zu sein, damit der Parasit die verschiedenen Stufen seines Lebenszyklus durchlaufen kann.