

Warum Zellen manchmal an der Nadel hängen

Täglich sind wir mit pathogenen Bakterien konfrontiert, die versuchen unserem Immunsystem zu entgehen, um sich in unserem Körper einzunisten. Dabei verfügen sie über ein Arsenal an Waffen, die zum Teil erst im Wirt produziert werden und entscheidend für das Überleben der Eindringlinge sind – ein Einblick in die Pathogenitätsmechanismen eines Krankheitserregers.

Von Philipp Oberhettinger

Trinken auch Sie morgens ihr Fläschchen Actimel, während Sie dabei genüsslich in ihr Käsebrod beißen? Wahrscheinlich wissen Sie dann auch, dass Sie Ihren Käse vermutlich mikroskopisch kleinen Lebewesen verdanken, von denen es auch in Ihrem „probiotischen Cocktail“ nur so wimmelt: den Bakterien. Nicht nur in der Lebensmittelindustrie sind diese für das bloße Auge unsichtbaren Alleskönner von herausragender Bedeutung. Auch im Bereich der Landwirtschaft versorgen sie bspw. einige Hülsenfrüchte mit lebensnotwendigem Stickstoff, den die Pflanze zum Wachstum benötigt. Nicht zuletzt sind sie natürlich aus der modernen Biotechnologie nicht mehr wegzudenken, wo durch sie in industriellem Maßstab menschliches Insulin produziert wird, ein Hormon, das Diabetes-Kranken jeden Tag neu das Leben rettet.

Die meisten Menschen bringen Bakterien jedoch mit Krankheiten in Verbindung, die von harmlosen Mandelentzündungen über Magen-Darm-Grippe bis hin zu lebensbedrohlichen Cholera- und Tuberkulosefällen reichen. Während in Industrienationen wie Deutschland Infektionskrankheiten als Todesursache Nummer eins längst von Herz-Kreislaufkrankungen abgelöst wurden, gehen in vielen Ländern der Dritten Welt unzählige Todesfälle auch heute noch auf bakterielle Rechnung. Aber was unterscheidet eigentlich „nützlich“ von „verzichtbar“ oder „gut“ von „böse“?

Die Pathogenitätsfaktoren machen den Unterschied

Die Unterschiede sind vielfältig, sodass hier nur auf einige wenige sogenannte Pathogenitätsfaktoren eingegangen werden kann. Dabei handelt es sich um Proteine, die Bakterien, aber auch Viren, Pilze und Parasiten befähigen, ein Erreger-spezifisches Krankheitsbild innerhalb eines Wirtes zu etablieren. Die Produktion solcher Faktoren findet im Innern der Bakterien statt, dem Cytosol. Dort befindet sich die chromosomal organisierte Desoxyribonukleinsäure (DNS). Wie bei allen Lebewesen sind dort die überlebensnotwendigen Informationen verankert, die einen Menschen befähigen, einen Artikel für „Faktor 14“ zu schreiben oder einen Einzeller zu einem bedrohlichen Keim machen. Auf dem Chromosom krankmachender Bakterien befinden sich nicht selten als Pathogenitätsinseln bezeichnete Regionen, die aus „guten“ Bakterien „böse“ machen. Alternativ können solche Elemente auch außerhalb des Chromosoms auf Virulenzplasmiden hinterlegt sein.

Am Institut für Medizinische Mikrobiologie arbeiten wir in unserer Arbeitsgruppe an einem besseren Verständnis solcher Pathogenitätsfaktoren am Modell des Durchfallerregers *Yersinia enterocolitica*, der über ein solches Virulenzplasmid verfügt. Mein Ziel besteht unter anderem darin, den Weg von der Synthese bis zum Einbau des Pathogenitätsfaktors an seinem Bestimmungsort genau zu erfassen (Biogenese). Ein detailliertes Aufzeichnen dieser Prozesse kann später genutzt werden, um mit neuen antibakteriellen Wirkstoffen Vorgänge der Biogenese zu stören und so die Pathogenität der Mikroorganismen entscheidend zu stören.

Gerade im Zeitalter multiresistenter Keime ist es von zunehmender Bedeutung, neue antibakterielle Wirkstoffe zu entwickeln. Der Weg von der Laborbank zum wirkungsvollen und vor allem für den Menschen verträglichen Antibiotikum ist jedoch sehr lang, exakte Grundlagenforschung gerade deshalb so wichtig.

Unser Modellorganismus *Yersinia enterocolitica* gehört als einer der drei humanpathogenen Arten zur selben Gattung wie der wohl prominenteste Vertreter *Yersinia pestis*, der als Erreger der Pest im 14. Jahrhundert über ein Drittel der europäischen Bevölkerung das Leben kostete. Infektionen mit *Yersinia enterocolitica* kommen vor allem durch Aufnahme kontaminierter Nahrungsmittel zustande, bspw. durch Milchprodukte oder nicht durcherhitztes Schweinefleisch. Sind die Erreger erst mal in ihrem Wirt angekommen, so beginnt sich ihr gesamter Stoffwechsel schlagartig umzustellen. Zunächst detektieren die Bakterien, dass sich ihre Umgebungstemperatur verändert und auf ca. 37 °C erhöht hat. Dies setzt den Startschuss für eine ganze Kaskade an Veränderungen, die eine spezifische Anpassung auf die neue Umgebung ermöglichen und vor allem die Herstellung von Pathogenitätsfaktoren in Gang setzen, die zweierlei Aufgaben haben: zum einen den Erreger vor Angriffen des menschlichen Immunsystems zu schützen und zum anderen die spezifische Attacke auf menschliche Zellen zu ermöglichen.

Eine Infektion wird etabliert

Im Dünndarm erreichen die Yersinien ihr eigentliches Ziel, die M-Zellen. Dort gilt es zunächst, sich an deren Oberfläche anzuheften. Natürlich versucht der Körper die bakteriellen Eindringlinge auf schnellstem Wege wieder loszuwerden, was vor allem mit Diarrhoe einhergeht, einem klassischen Symptom einer *Yersinien*-Infektion. Um diesem Abwehrmechanismus jedoch zu entgehen, nutzen die Bakterien bestimmte Oberflächenstrukturen der M-Zellen, die Integrine. Diese dienen eigentlich der Verankerung menschlicher Zellen an extrazelluläre Matrixproteine (ECM). Um nun selbst an die Integrine der M-Zellen zu binden, bedienen sich die Yersinien eines einfachen Tricks: sie verankern an ihrer Oberfläche einen zentralen Pathogenitätsfaktor, das Invasin.

Invasin besitzt spezielle Motive, die denen in extrazellulären Matrixproteinen stark ähneln. Somit gelingt es den Bakterien, anstelle der ECM an Integrine zu binden und das mit erstaunlicher Effizienz. Aufgrund der Eigenschaft von Invasin, die Bindung an tierische Zellen zu vermitteln, wird es auch allgemein als Adhäsın bezeichnet. Das bloße Anheften an M-Zellen ist den Eindringlingen jedoch noch lange nicht genug. Normalerweise sind M-Zellen im Dünndarm darauf spezialisiert, Antigene, also Fremdkörper, aufzunehmen und an darunterliegende Zellen des Immunsystems weiterzureichen. Die Bakterien machen sich diese Aufnahmefähigkeit zunutze und lassen sich so in tiefer liegende Zellschichten tragen.

In unserem Labor versuchen wir im Detail zu verstehen, wie Invasin überhaupt erst an die bakterielle Oberfläche gelangt. Hierzu muss nach der Herstellung des Invasins im Cytosol zunächst die innere Membran überwunden und das gesamte Periplasma durchquert werden. Abschließend muss Invasin in die äußere Membran verankert werden, ein Prozess, an dem intensiv geforscht wird und der bis heute noch nicht genau verstanden wird. Würde es gelingen, den Transportweg oder den Einbau in die Membran zu stören oder sogar gänzlich zu inhibieren, wären die *Yersinien* eines ihrer bedeutendsten Pathogenitätsfaktoren beraubt. Deshalb versuchen wir herauszufinden, welche Komponenten im Periplasma sowie in der äußeren Membran der Bakterien von Bedeutung sind, um Invasin unbeschadet an seinen Bestimmungsort zu geleiten. Durch zahlreiche Experimente konnten wir bereits Bereiche bzw. einzelne Aminosäuren (Bausteine eines Proteins) innerhalb des Invasins identifizieren, die für den Einbau in die Membran von entscheidender Bedeutung sind. Verändert man nun diese Aminosäuren gezielt, ist der

Einbau in die Membran gestört. Um dies nachzuweisen, werden die Bakterien mit Antikörpern behandelt, die spezifisch nur an Invasin binden.

Die Besonderheit dieser Antikörper liegt nun darin, dass sie an ein Fluorophor gekoppelt sind. Wird das Fluorophor mit Licht einer bestimmten Wellenlänge angeregt, sendet dieses wiederum Licht aus, das mit Hilfe eines Fluoreszenzmikroskops sichtbar gemacht werden kann. Somit lassen sich leicht verringerte Mengen an Invasin an der bakteriellen Oberfläche nachweisen, was mit einer abgeschwächten Fluoreszenz einhergeht.

Nun zurück zum Infektionsweg unserer *Yersinien*: diese haben mittlerweile die M-Zellen passiert und vermehren sich zwischen den darunterliegenden Zellschichten. Dort befinden sie sich jedoch in feindlichem Gebiet, wo es von Immunzellen wimmelt, die nur darauf warten, sich über die Bakterien herzumachen. Ohne einen weiteren, den wohl bedeutsamsten Pathogenitätsfaktor der *Yersinien*, wäre ein Überleben im menschlichen Körper nicht möglich. Es handelt sich neben dem bereits erwähnten Invasin um ein zweites Adhäsion in der äußeren Membran: das *Yersinia* Adhäsion A, kurz auch YadA genannt. Dieses Protein besitzt eine ganze Reihe von Eigenschaften, die *Yersinien* zu einem unangenehmen Gegner des Immunsystems machen. So sind die Bakterien mithilfe von YadA in der Lage, Faktoren des Immunsystems zu binden, gezielt zu inaktivieren und somit dem Abwehrsystem des Wirtes geschickt aus dem Weg zu gehen.

Immunzellen werden gezielt attackiert

Damit aber noch lange nicht genug: YadA kann nicht nur Faktoren des Immunsystems binden, sondern vermittelt außerdem, ähnlich wie das bereits beschriebene Adhäsion Invasin, eine Anheftung der Bakterien an Immunzellen. Und dies macht den Einsatz einer weiteren Waffe erst möglich: die aktive Attacke auf Immunzellen mit mikroskopisch kleinen Injektionsnadeln, dem sogenannten Sekretionssystem. Mit Hilfe dieser Sekretionsnadeln, die wie die Adhäsine an der Oberfläche der Bakterien lokalisiert sind, ist es möglich, die Hülle der Immunzellen zu durchstechen, woraufhin ein ganzer Cocktail an *Yersinia*-Proteinen (Yops) in deren Inneres injiziert wird. Dies stellt den gesamten Stoffwechsel der Immunzelle auf den Kopf, führt zu einer Zerstörung von Strukturelementen, die der Zelle Form und Stabilität verleihen, und kann diese sogar in den Selbstmord treiben.

In unserem Labor versuchen wir daher außerdem zu analysieren, wie eine Anheftung der *Yersinie* an die Zelle mit der Injektion von Proteinen im Zusammenhang steht. Um sichtbar zu machen, ob in eine Zelle bakterielle Proteine injiziert wurden, bedient man sich einer eleganten Methode: die *Yersinien* werden zunächst genetisch so verändert, dass sie bestimmte Yops nur mit angehefteter β -Lactamase produzieren, die dann durch die Injektionsnadel in die Zielzelle transportiert werden. β -Lactamasen sind Enzyme, die in der Lage sind β -Lactam-Ringe, wie sie bspw. in Penicillin vorkommen, zu spalten. Die mit *Yersinien* infizierten Zellen werden im Anschluss isoliert und mit einem Farbstoff behandelt, der einen β -Lactam-Ring enthält. Zellen, die keine Yops und somit keine β -Lactamase abbekommen haben, zeigen im Fluoreszenzmikroskop eine grüne Färbung. Handelt es sich jedoch um eine Zelle, in die Yops injiziert wurden, wird der Farbstoff durch die β -Lactamase gespalten, die Zelle erscheint blau. Somit können wir herausfinden, wie viele Zellen infiziert wurden und welchen Zelltyp die *Yersinien* bevorzugt infizieren. Somit lassen sich Rückschlüsse auf die Strategie der *Yersinien* ziehen und darauf, welcher Zelltyp zu welchem Zeitpunkt attackiert wird, um ein Überleben der Bakterien im Körper sicherzustellen.

Nicht nur *Yersinien* verfügen über ein Arsenal von Pathogenitätsfaktoren, zahlreiche weitere Gram-negative Erreger wie bspw. Salmonellen, mit denen Sie vielleicht auch schon Bekanntschaft machen mussten, warten mit Adhäsinen und Sekretionssystemen auf, um unsere Zellen zu manipulieren. Da viele der beschriebenen Pathogenitätsfaktoren in der

äußeren Membran der Bakterien platziert sind, um schnellen Kontakt mit ihrer Wirtszelle aufzunehmen, ist die bakterielle Zellhülle ein so interessantes und vielversprechendes Ziel für die Erforschung antibakterieller Wirkstoffe. Auch wenn mit Sekretionsnadeln bestückte Bakterien, die nur darauf warten in Ihrem Inneren ein neues Reservoir zu beziehen, gespenstisch klingen mögen, können Sie Ihren morgendlichen Probiotik-Drink sowie Ihr Käsebrot weiterhin genießen. Vielleicht sollten Sie sich zuvor jedoch die Hände waschen?!