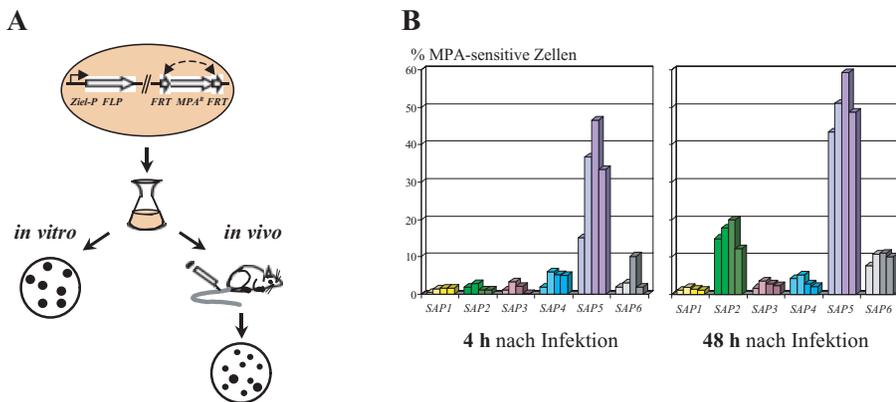


## VAAM-Promotionspreisträger 2002

Analyse der Expression einer Virulenzgenfamilie von *Candida albicans* während der Infektion

Peter Staib



**Abb. 1 A:** Aktivierung des Zielgens führt in der Pilzzelle zum Verlust des MPA-Resistenzmarkers, sodass diese nach Ausplattieren auf entsprechendem Indikatormedium kleine Kolonien bildet. Der Anteil kleiner Kolonien nach Reisolierung der Pilzzellen nach einer Infektion zeigt, wieviel Prozent der Zellen das zu überprüfende Gen signifikant aktiviert hatten.

**Abb. 1 B:** Mit verschiedenen Reporterstämmen wurde die Aktivierung der Proteasegene *SAP1-SAP6* in unterschiedlichen Stadien nach intraperitonealer Infektion von Mäusen bestimmt. Jeder Balken stellt die Ergebnisse aus einem Tier dar. Für jedes *SAP*-Gen wurden zwei Reporterstämmen unabhängig konstruiert, dargestellt in hellen bzw. dunklen Farbtönen.

► Der opportunistisch humanpathogene Hefepilz *Candida albicans* gehört bei vielen gesunden Menschen zur mikrobiellen Schleimhautflora, kann jedoch bei abwehrgeschwächten Patienten oberflächliche Infektionen sowie lebensbedrohliche tiefe Organmykosen verursachen. Obwohl der Immunstatus des Wirtes für eine Infektion mit diesem Erreger von entscheidender Bedeutung ist, tragen vermutlich auch eine Reihe von Virulenzfaktoren zur Pathogenität von *C. albicans* bei.

Eine für die Pathogenität von *C. albicans* wichtige Eigenschaft ist die Bildung sekretorischer Aspartylproteasen (SAPs), die durch eine große Familie homologer Gene codiert werden. Vermutlich erfüllen die individuellen Proteasen während der Infektion verschiedene Aufgaben oder sind optimal an unterschiedliche Wirtsnischen angepasst. Jedoch ist der Beitrag der einzelnen *SAP*-Gene zur Pathogenese noch weitgehend unverständlich. Da die wirtsinduzierte Aktivierung dieser Virulenzgene während bestimmter Infektionsstadien Hinweise auf ihre spezifische Bedeutung liefern könnte, wurde in dieser Arbeit eine Methode für *C. albicans* entwickelt, mit der die Aktivierung eines Gens während der Infektion nachgewiesen werden kann (Abb. 1A)<sup>[1]</sup>. Die Methode beruht auf einer genetischen Rekombination

als Reporter einer Genexpression, was bedeutet, dass nach Anschalten des zu untersuchenden Gens eine ortsspezifische Rekombinase spezifisch einen Resistenzmarker aus dem Genom der Zelle entfernt. Da diese Deletion ein irreversibles Ereignis darstellt, das auf die jeweiligen Nachkommen vererbt wird, kann selbst eine vorübergehende Genaktivierung während eines bestimmten Infektionsstadiums oder in einem



Peter Staib

Peter Staib (Jahrgang 1971) studierte von 1991 bis 1997 Biologie an der Universität Würzburg. Seine Diplomarbeit im Fach Mikrobiologie fertigte er bei Prof. Jörg Hacker in der

Gruppe von Dr. Joachim Morschhäuser am Zentrum für Infektionsforschung/Institut für molekulare Infektionsbiologie an. In der selben Arbeitsgruppe promovierte er 1998 bis 2001 (Leiter Prof. Hacker). Während dieser Zeit war er Promotionsstipendiat der Studienstiftung des deutschen Volkes. Seit August 2001 ist Staib Postdoc bei PD Dr. Morschhäuser.

bestimmten Organ in einzelnen Zellen nach deren Reisolierung aus infiziertem Gewebe durch Ausplattieren auf geeignetem Indikatormedium nachgewiesen werden.

Diese *in vivo*-Expressionstechnologie (IVET) wurde verwendet, um die Expression von sechs verschiedenen *SAP*-Genen von *C. albicans*, *SAP1-SAP6*, in unterschiedlichen Tiermodellen zu studieren (Abb. 1B)<sup>[2]</sup>. Dabei konnte gezeigt werden, dass die einzelnen Proteasegene abhängig von der Art der Infektion (lokal begrenzte Schleimhautinfektion oder Systeminfektion) und auch vom Infektionsstadium unterschiedlich reguliert werden. So scheint *SAP5* für die Gewebeeinvasion während der Schleimhautinfektion und auch für die ersten Schritte während einer sich ausbreitenden Infektion von Bedeutung zu sein. Dagegen wurde eine Aktivierung des *SAP2*-Gens vorwiegend im Spätstadium einer systemischen Infektion beobachtet, nachdem die Pilzzellen innere Organe befallen hatten. Darüberhinaus wurde deutlich, dass bestimmte Signalwege in *C. albicans* für die Kontrolle verschiedener zellulärer Programme während der Infektion wichtig sind und so offensichtlich die Expression von unterschiedlichen Virulenzgenen koordinieren. Eine Aktivierung des *SAP5*-Gens beispielsweise war während der Infektion von Regulatoren abhängig, die für die Ausbildung von *C. albicans*-Hyphen wichtig sind, einer Zellmorphologie, die ebenfalls für die Pathogenität dieses Erregers von besonderer Bedeutung scheint<sup>[3]</sup>. Die erzielten Erkenntnisse sollen dazu beitragen, die Pathogenität dieses wichtigen opportunistisch humanpathogenen Erregers besser verstehen zu können.

## Literatur

- [1] Staib, P., Kretschmar, M., Nichterlein, T., Köhler, G., Michel, S., Hof, H., Hacker, J., Morschhäuser, J. (1999). Host-induced, stage-specific virulence gene activation in *Candida albicans* during infection. *Mol. Microbiol.* 32: 533-546.
- [2] Staib, P., Kretschmar, M., Nichterlein, T., Hof, H., Morschhäuser, J. (2000). Differential activation of a *Candida albicans* virulence gene family during infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97: 6102-6107.
- [3] Staib, P., Kretschmar, M., Nichterlein, T., Hof, H., Morschhäuser, J. (2002). Transcriptional regulators Cph1p and Egl1p mediate activation of the *Candida albicans* virulence gene *SAP5* during infection. *Infect. Immun.* 70:921-927.

## Korrespondenzadresse

Dr. Peter Staib  
Institut für Molekulare Infektionsbiologie –  
Universität Würzburg  
Röntgenring 11  
97070 Würzburg  
e-mail: peter.staib@mail.uni-wuerzburg.de