

Berichte aus der Biologie

Mark E. Hotz

**Immunologische und molekular-
biologische Untersuchungen
des *outer membrane protein A*
von *Proteus mirabilis***

Mit begleitender Technikfolgenabschätzung

D 17 (Diss. TU Darmstadt)

Shaker Verlag
Aachen 2006

Bibliografische Information der Deutschen Bibliothek

Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

Zugl.: Darmstadt, Techn. Univ., Diss., 2005

Copyright Shaker Verlag 2006

Alle Rechte, auch das des auszugsweisen Nachdruckes, der auszugsweisen oder vollständigen Wiedergabe, der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen und der Übersetzung, vorbehalten.

Printed in Germany.

ISBN 3-8322-4887-0

ISSN 0945-0688

Shaker Verlag GmbH • Postfach 101818 • 52018 Aachen

Telefon: 02407 / 95 96 - 0 • Telefax: 02407 / 95 96 - 9

Internet: www.shaker.de • eMail: info@shaker.de

In dieser Arbeit wurde der Einfluß des *outer membrane protein A* (OmpA) von *Proteus mirabilis* auf die Aktivierung von Makrophagen mit LPS untersucht. Zudem wurde die Nukleotidsequenz des *ompA*-Gens aus *Proteus mirabilis* 19 erstmalig sequenziert und sowohl das native wie auch rekombinante OmpA-Fragmente serologisch charakterisiert.

Dabei konnte gezeigt werden, daß OmpA sehr schwache aktivierende Eigenschaften besitzt. In Abhängigkeit der bakteriellen Herkunft konnten Unterschiede in ihrer Wirkungsweise der verschiedenen OmpA-Proteine beobachtet werden, was möglicherweise auf physiologisch-chemische Eigenschaften zurückzuführen ist. Untersuchungen an LPS-toleranten Makrophagen aus C3H/HeJ-Mäusen haben zusätzlich gezeigt, daß OmpA Makrophagen nicht über den *Toll-like*-Rezeptor (TLR) 4 aktiviert. Der Verlauf der Stimulierung war mit der von LPS vergleichbar, nur viel schwächer. In diesem Zusammenhang führte die Zugabe des allgemeinen Proteinkinase-Inhibitors Staurosporin bei der OmpA-induzierten Produktion von IL-1 β stets zu einer Erhöhung der IL-1 β -Menge. Dieser Effekt war ähnlich der Wirkung von Staurosporin auf LPS-aktivierte Makrophagen. Ferner konnte OmpA in Reporter-gen-Transfektionsversuchen die Aktivität eines LPS-induzierbaren IL-1 β -Promotors induzieren. Weiterhin konnte gezeigt werden, daß OmpA ein besonders effektiver Modulator der Immunantwort gegen LPS ist, wobei die Steuerung der Zytokinproduktion auf der Ebene der Promotoraktivität der Gene erfolgte.

Im Rahmen dieser Arbeit konnte das 39 kDa OmpA von *P. mirabilis* 19 erstmals vollständig entschlüsselt werden. Bestehend aus 362 Aminosäuren (aa) ist es deutlich größer als das OmpA verwandter Bakterien, wie z.B. *Escherichia coli* (346 aa). Den phylogenetischen Untersuchungen auf der Basis der abgeleiteten Aminosäuresequenzen zufolge, weist es im Vergleich mit dem OmpA von *E. coli* einen Identitätsindex von 68% und einen Ähnlichkeitsindex von 79% auf.

Auf der Grundlage der gewonnen Sequenzinformationen wurden unterschiedliche OmpA-Fragmente rekombinant hergestellt und für die serologische Charakterisierung der monoklonalen Antikörper mAk 2.14.1 und mAk 2.18.1, die gegen das OmpA aus *P. mirabilis* 19 gerichtet sind, verwendet. Diese Untersuchungen haben gezeigt, daß mAk 2.14.1 gegen ein hoch konserviertes generisches Epitop bei allen untersuchten OmpA-Proben (*P. mirabilis*, *E. coli*, *Salmonella typhimurium* und *Erwinia amylovora*) gerichtet ist, während mAk 2.18.1 gegen ein spezifisches Epitop für *P. mirabilis* gerichtet ist. Weitere Untersuchungen mit den monoklonalen Antikörpern gaben erste Hinweise darauf, daß diese zwei Epitope in unterschiedlichen Bereichen des Proteins liegen. Während das spezifische Epitop im zentralen Bereich des Proteins sitzt, konnte die Position des generischen Epitops im N-terminalen Bereich des Proteins lokalisiert werden.

Da die Arbeiten den Umgang mit Methoden der Biotechnologie bzw. Gentechnik beinhalten und auch mit der Problematik der möglichen Anwendung von Forschungsergebnissen für therapeutische Zwecke verbunden sind, wurde begleitend zu den naturwissenschaftlichen Arbeiten eine Technikfolgenabschätzung am Beispiel der Rheumatoiden Arthritis nach dem Modell der ethischen Urteilsbildung durchgeführt. Das vorrangige Ziel dieser vorliegenden Technikfolgenabschätzung war es, auf die Bedeutung der Reflexion molekularbiologischer Forschungen einzugehen, um positive und negative gesellschaftliche Folgen solcher Ansätze, sowie ethische Zusammenhänge sichtbarer zu machen. Wie die Ergebnisse gezeigt haben, können ethische Modelle sehr nützlich bei der Urteilsbildung und Reflexion über Forschungsstrategien sein und können zu einem erhöhten Bewußtsein gegenüber bestimmter beteiligter Risiken führen.