

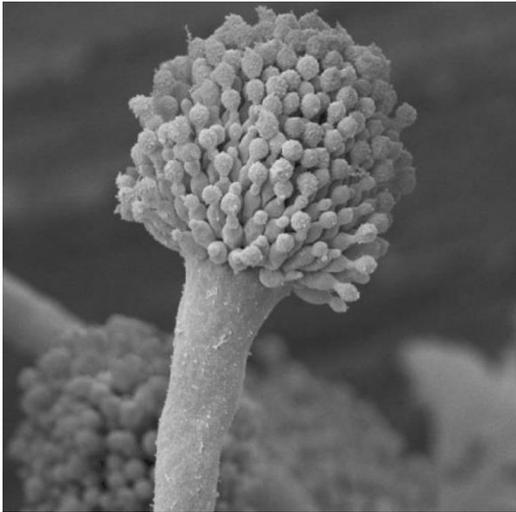
Leibniz-Institut für Naturstoff-Forschung und Infektionsbiologie – Hans-Knöll-Institut –

Thomas Krüger

Massenspektrometrische Charakterisierung der Wirt-Pilzpathogen-Interaktion

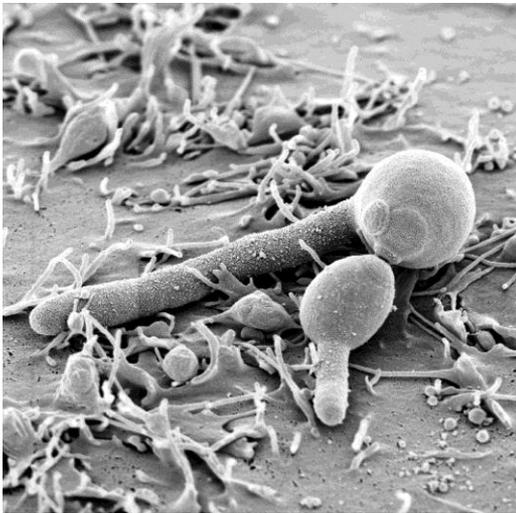


Forschungsschwerpunkt: Humanpathogene Pilze



Aspergillus fumigatus

- saprotropher Schimmelpilz (Gießkannenschimmel), d.h. als Nahrungsgrundlage dient tote organische Substanz
- *fumus* (lat.), der *Rauch*, Pigment DHN-Melanin verursacht rauchgrüne Farbe der Konidien
- weltweites Vorkommen im Boden, ~50-100 Sporen in 1 m³ Luft
- Hauptverursacher der allergischen bronchopulmonalen Aspergillose und der invasiven pulmonalen Aspergillose



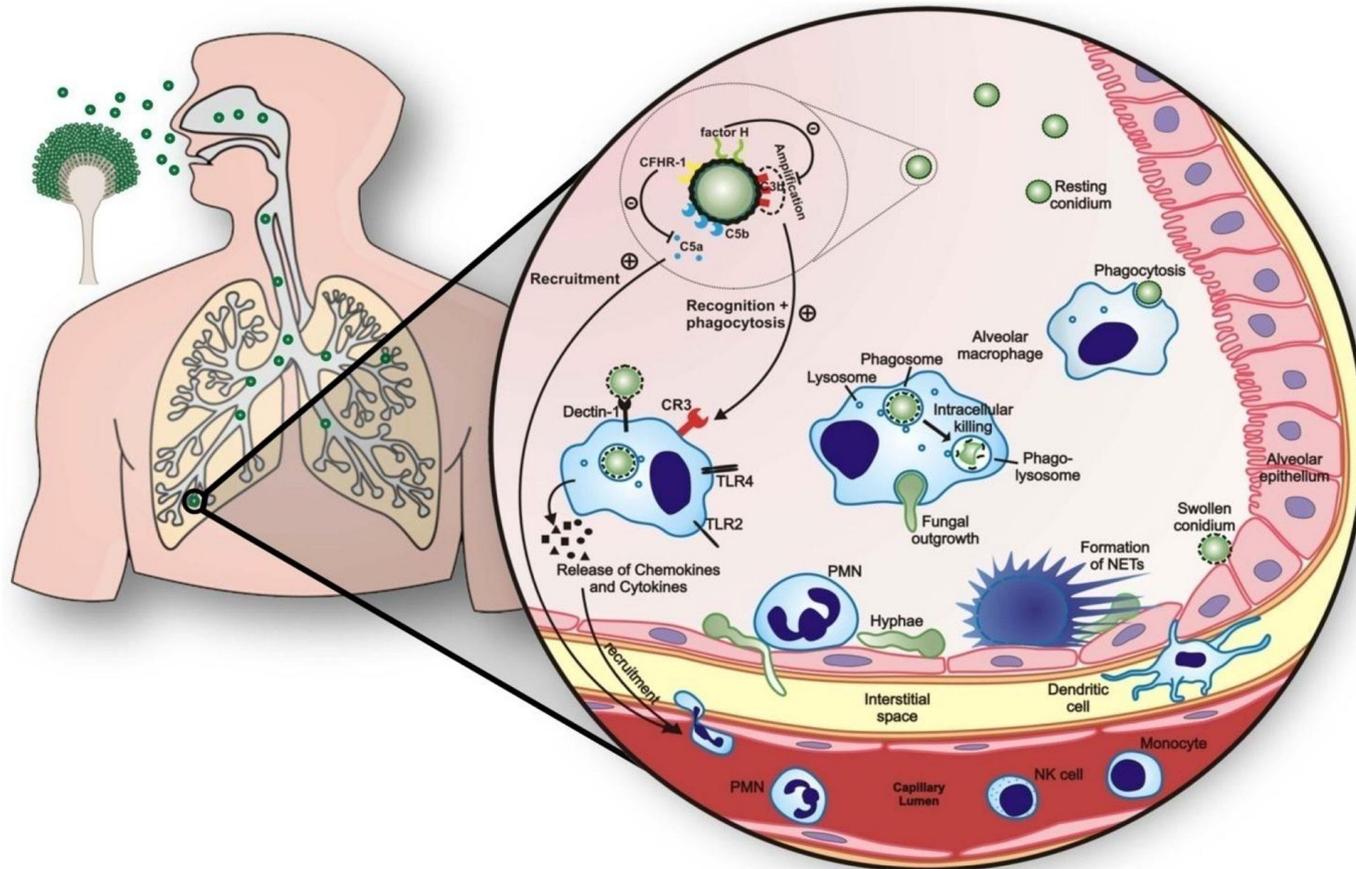
Candida albicans

- polymorpher Hefepilz
- Hefeform ist häufiger Bestandteil (~75%) der mikrobiellen Flora der Schleimhäute des Genital- und Verdauungstrakts gesunder Menschen (Kommensalismus)
- Hyphenform kann natürliche Barriere durchbrechen und eine invasive Pilzinfektion (Candidose) hervorrufen, die bei einer Translokation in die Blutbahn zur Sepsis führt
- Forschungsgegenstand sind die molekularen Ursachen der Transformation vom Kommensalismus zur Pathogenese





Invasive Mykosen (Pilzinfektionen)



Ursachen

Diagnose

Therapie

Mission

Vision

Immunschwäche bzw. -suppression

schwierig und oft zu spät

häufig unzureichend

Naturstoffforschung und Infektionsbiologie

Verbesserung von Diagnose und Therapie



Strategie: Proteomforschung

Genom (DNA)

was möglich ist

Transkriptom (mRNA)

was passieren kann

Proteom (Protein)

was tatsächlich passiert

Definition

„*The PROTEin complement of the GenOME*“ (Marc Wilkins, 1994)

Herausforderung



„Proteomik-Eisberg“

- dynamischer Bereich bis zu 10^6 (Pilz) bzw. 10^{12} (Blutplasma): ~50% des Proteingehalts in Hefezellen verteilen sich auf nur 100 Proteine (von ~6 000)
- >300 posttranslationale Proteinmodifikationen sind bekannt
- Millionen von unterschiedlichen Proteinenmolekülen müssen identifiziert und quantifiziert werden

Werkzeuge

Elektrophorese, Chromatographie, **Massenspektrometrie**



Messprinzip

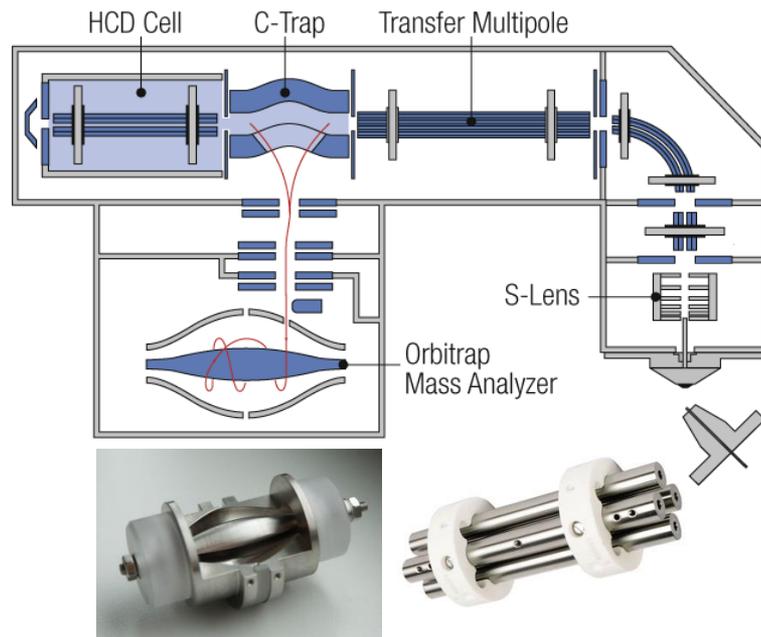
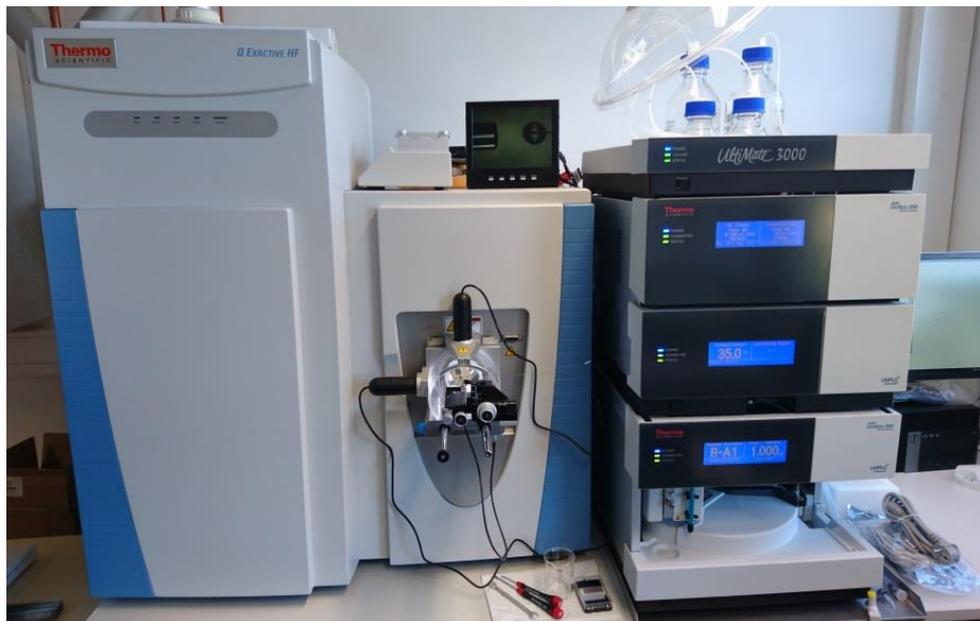
Trägheitsmoment von ionisierten Molekülen im elektrischen Feld unter Hochvakuum charakterisiert durch das Verhältnis von Masse zu Ladung (m/z)

Bestandteile

Ionenquelle (MALDI, ESI, etc.)

Massenanalysator (Ionenfalle, Quadrupol, TOF, Orbitrap, etc.)

Detektor (SEV, KEV, etc.)



LC-MS/MS: Ultimate 3000 RSLC nano und QExactive HF Q/Orbitrap-Massenspektrometer (Thermo Scientific)

Förderung durch den Freistaat Thüringen mit Mitteln des Europäischen Fonds für Regionale Entwicklung (EFRE)





Wirt-Pilzpathogen-Interaktion (WPI)

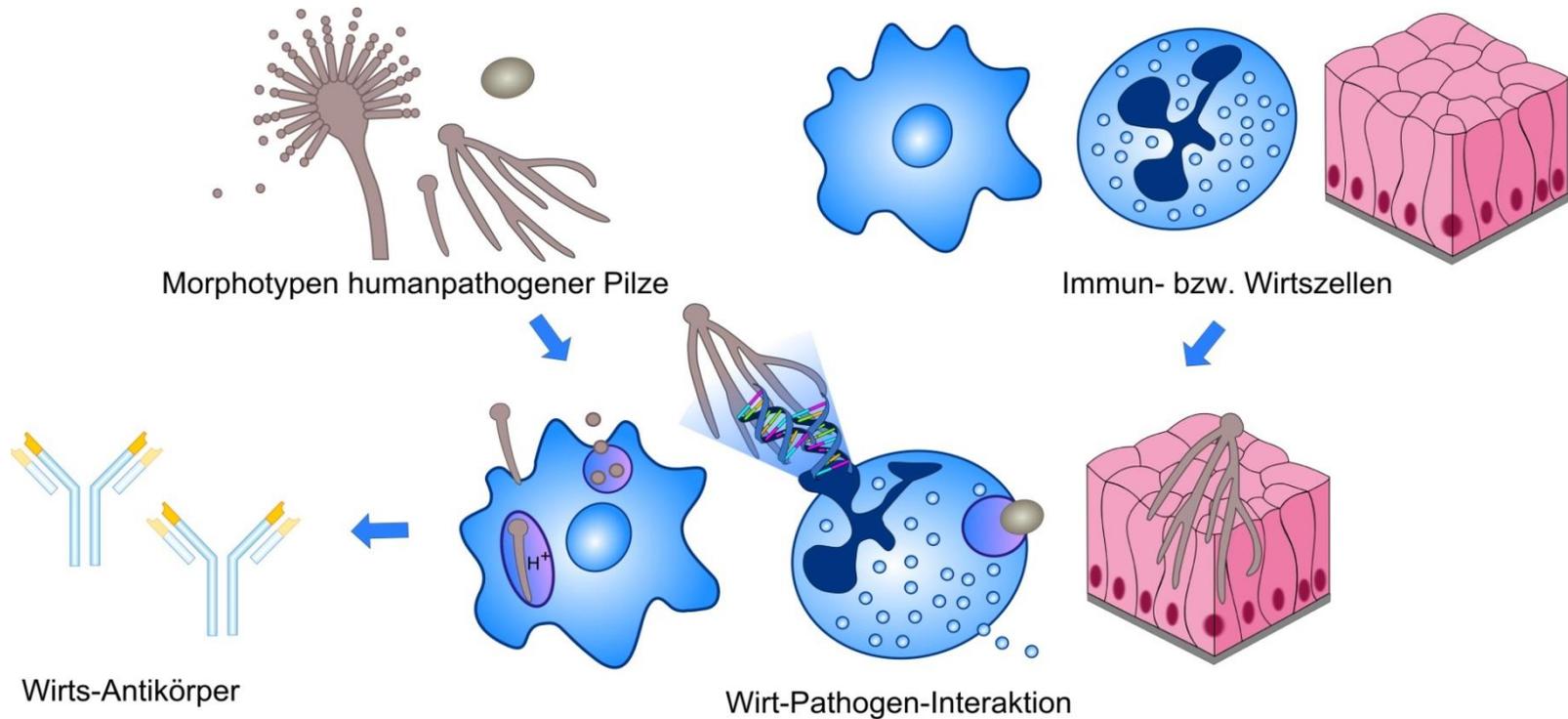
Pathogenitätsfaktoren des pilzlichen Pathogens

- Fähigkeit auf Stress und Umweltreize durch Anpassung zu reagieren
- Behinderung der Erkennung oder Bekämpfung durch das Wirts-Immunsystem (Adhäsion auf Wirtszellen, Antiphagozytose, Invasionsfaktoren (Lyse), Toxine)



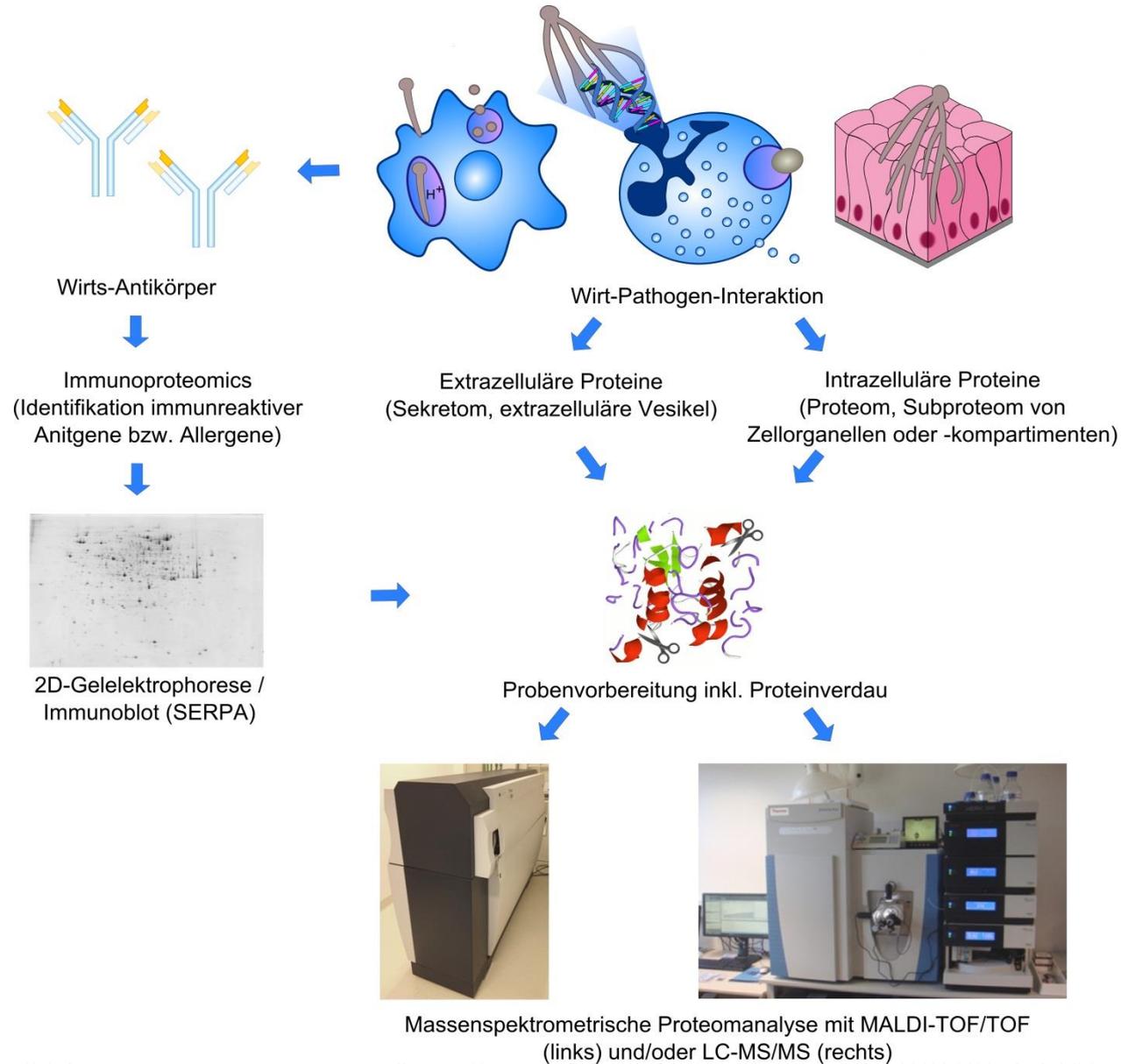
Widerstandsfaktoren des menschlichen Wirtes

- mechanische und physiologische Barrieren (Epithelien, Mucus, mikrobielle Flora, etc.)
- unspezifische angeborene und spezifische adaptive Immunabwehr (humoral und zellulär)





Massenspektrometrische Proteomanalyse der WPI

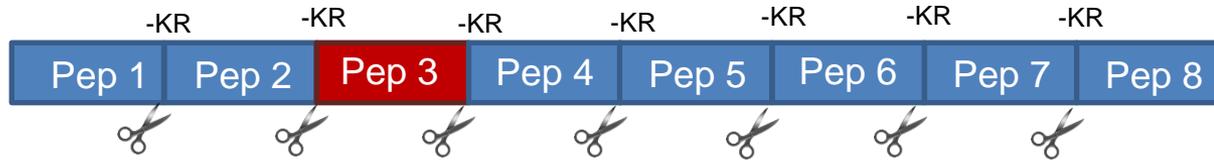




Bsp. 2: *Candida albicans* & Epithelzellen

TR146 orale Epithelzellen infiziert mit *C. albicans* (Hyphen)

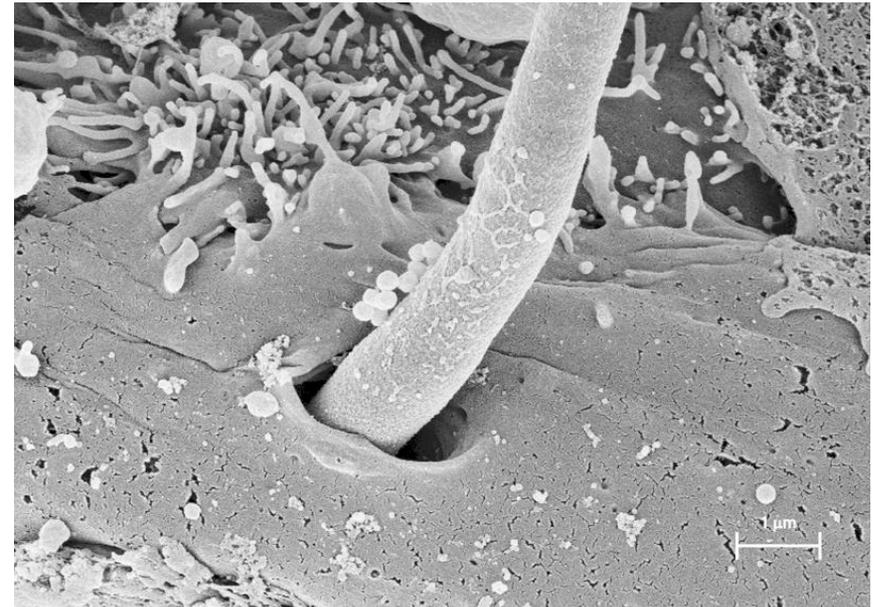
- Vergleichende Transkriptom- und Proteomanalysen zwischen Hyphen- und Hefeform zeigen, dass u.a. ECE1p in Hyphen stark exprimiert wird
- ECE1p (Extent of Cell Elongation 1) wird an einem wiederkehrenden -KR-Motiv in 8 Peptide gespalten und sekretiert



SIIGIIMGILGNIPQVIQIIMSIVKAFKGNK(R)

Candidalysin

- Bildung von Läsionen in Epithelzellen ermöglicht die Invasion des Pilzes
- Beschreibung des ersten aus *C. albicans* isolierten Toxins in der renommierten Fachzeitschrift *Nature* (Moyes *et al.* 2016)





Danksagung



Ministerium
für Wirtschaft, Wissenschaft
und Digitale Gesellschaft



Pathogenic fungi and their human host:
Networks of interaction
Collaborative Research Center / Transregio

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!

