

Sanofi-Aventis-Preis (Poster) 2012 für Carsten Schwan

Der gram-positive sporenbildende Keim *Clostridium difficile* ist weltweit zunehmend bei Infektionen, die innerhalb von Kliniken erworben werden, ein klinisch, sozial und ökonomisch bedeutsames Problem. Der Keim löst die sog. Antibiotika-assoziierte Diarrhö in der Folge einer Antibiotikatherapie aus und ist für das Auftreten der oftmals tödlichen pseudomembranösen Kolitis verantwortlich. Verursacht werden diese Krankheitsbilder durch zwei Toxine (Toxin A und B) von *C. difficile*, die als Glucosyltransferasen wirken und Schalterproteine (Rho-Proteine) in Darmzellen durch Glucosylierung blockieren. In jüngster Zeit wurde über das Auftreten „hypervirulenter“ Stämme von *C. difficile* berichtet, die durch eine vermehrte Toxinproduktion, eine Antibiotikaresistenz gegenüber Fluorochinolonen sowie durch die Produktion eines dritten Toxins charakterisiert sind. Bei diesem dritten Toxin handelt es sich um die *C. difficile* Transferase CDT. CDT ist ein Toxin, das das Zytoskelettprotein Actin ADP-ribosyliert, seine Polymerisation hemmt und dadurch das Actin-Zytoskelett von Zellen depolymerisiert.

Wir haben gezeigt, dass die Depolymerisierung des Actin-Zytoskeletts durch das Toxin zu der Bildung von langen Fortsätzen auf der Oberfläche von Zielzellen führt. Die Fortsätze bestehen im Wesentlichen aus Mikrotubuli. Offenbar wird die Kontrolle der Polymerisation von Mikrotubuli, die zu der Bildung von Zell-Protrusionen führt, durch eine Toxin-induzierte Depolymerisation des Aktinzytoskeletts aufgehoben. Die feinen Zellprotrusionen, die nur 50 bis 500 nm dick, aber über 100 µm lang sein können, bilden auf der Zelloberfläche ein dichtes Netzwerk von Zellausläufern, die die *C. difficile* Bakterien umgeben, ihre Adhäsion verstärken und die Kolonisation der Pathogene fördern. Wir haben die strukturellen Voraussetzungen der CDT-induzierten Fortsatzbildung untersucht.

Es zeigte sich, dass der Cholesterolgehalt der Membranen die Fortsatzbildung reguliert. Eine Depletion von Cholesterol führte zu einer Hemmung der CDT-induzierten-Fortsatzbildung, wobei die Zahl und weniger die Länge der Protrusionen beeinflusst wurde. Repletion von Cholesterol bewirkte eine rasche überschießende CDT-induzierte Fortsatzbildung. Weiterhin wurde gefunden, dass Sphingolipide, die ebenfalls Grundbestandteile der „Liquid ordered Phase“ von Membranen sind, für die CDT-induzierte Fortsatzbildung essentiell sind. Somit die sog. Lipid Rafts entscheidend an der Fortsatzbildung beteiligt sind. Erste elektronen-tomografische (Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Stahlberg (Basel)) sowie fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen haben gezeigt, dass die CDT-induzierten Protrusionen neben Mikrotubuli Bestandteile des Endoplasmatischen Retikulums enthalten. Darüber hinaus erfolgt in ihnen reger Vesikeltransport. Insgesamt unterstützen die Befunde ein neues Modell der Regulation von Signaltransduktion und Vesikeltransport bei der Wirt-Pathogen-Interaktion bei dem Toxin-induzierte mikrotubuläre Zellprotrusionen eine bedeutende Rolle spielen.

Persönliche Daten

Name: Dr. rer. nat. Carsten Schwan
Geburtsdatum: 13.05.1978
Geburtsort: Bonn
Dienstadresse: Inst. für Exp. und Klin. Pharmakologie und Toxikologie,
Albert-Ludwigs-Universität Freiburg

Hochschulreife

1997 Abitur am Rotteck-Gymnasium in Freiburg

Studium

1998 – 2006 Studium der Biologie an der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg

2007 Abschluss als Diplom-Biologe

Wissenschaftlicher Werdegang

2007 – 2010 Promotion in der Abteilung von Prof. Dr. Dr. Klaus Aktories am Institut für Experimentelle und Klinische Pharmakologie und Toxikologie, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg
Thema der Promotion:
„Die Wirkung bakterieller Toxine auf das Zytoskelett“
Abschlussnote: *summa cum laude*

Seit 2010 Wissenschaftlicher Mitarbeiter (Postdoc) am Institut für Experimentelle und Klinische Pharmakologie und Toxikologie, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg

Publikationsliste:

1. Kaiser E, Bohm N, Ernst K, Langer S, Schwan C, Aktories K, Popoff M, Fischer G, Barth H (2012) FK506-binding protein 51 interacts with Clostridium botulinum C2 toxin and FK506 inhibits membrane translocation of the toxin in mammalian cells. Cell Microbiol .
2. Jank T, Bohmer KE, Tzivelekidis T, Schwan C, Belyi Y, Aktories K (2012) Domain organization of Legionella effector SetA. Cell Microbiol .
3. Papatheodorou P, Wilczek C, Nolke T, Guttenberg G, Hornuss D, Schwan C, Aktories K (2012) Identification of the Cellular Receptor of Clostridium spiroforme Toxin. Infect Immun 80: 1418-1423.
4. Papatheodorou P, Carette JE, Bell GW, Schwan C, Guttenberg G, Brummelkamp TR, Aktories K (2011) Lipolysis-stimulated lipoprotein receptor (LSR) is the host receptor for the binary toxin Clostridium difficile transferase (CDT). Proc Natl Acad Sci U S A 108: 16422-16427.

5. Kaiser E, Kroll C, Ernst K, Schwan C, Popoff M, Fischer G, Buchner J, Aktories K, Barth H (2011) Membrane translocation of binary actin-ADP-ribosylating toxins from *Clostridium difficile* and *Clostridium perfringens* is facilitated by cyclophilin A and Hsp90. *Infect Immun* 79: 3913-3921.
6. Schwan C, Nolke T, Kruppke AS, Schubert DM, Lang AE, Aktories K (2011) Cholesterol- and sphingolipid-rich microdomains are essential for microtubule-based membrane protrusions induced by *Clostridium difficile* transferase (CDT). *J Biol Chem* 286: 29356-29365.
7. Aktories K, Lang AE, Schwan C, Mannherz HG (2011) Actin as target for modification by bacterial protein toxins. *FEBS J* 278: 4526-4543.
8. Maurer B, Mathias U, Papatheodorou P, Shekfeh S, Orth J, Jank T, Schwan C, Sippl W, Aktories K, Jung M (2011) From cosubstrate similarity to inhibitor diversity--inhibitors of ADP-ribosyltransferases from kinase inhibitor screening. *Mol Biosyst* 7: 799-808.
9. Leemhuis J, Bouche E, Frotscher M, Henle F, Hein L, Herz J, Meyer DK, Pichler M, Roth G, Schwan C, Bock HH (2010) Reelin signals through apolipoprotein E receptor 2 and Cdc42 to increase growth cone motility and filopodia formation. *J Neurosci* 30: 14759-14772.
10. Stratmann H, Schwan C, Orth JH, Schmidt G, Aktories K (2010) Pleiotropic role of Rac in mast cell activation revealed by a cell permeable *Bordetella* dermonecrotic fusion toxin. *Cell Signal* 22: 1124-1131.
11. Sterthoff C, Lang AE, Schwan C, Tauch A, Aktories K (2010) Functional characterization of an extended binding component of the actin-ADP-ribosylating C2 toxin detected in *Clostridium botulinum* strain (C) 2300. *Infect Immun* 78: 1468-1474.
12. Schwan C, Stecher B, Tzivelekidis T, van HM, Rohde M, Hardt WD, Wehland J, Aktories K (2009) *Clostridium difficile* toxin CDT induces formation of microtubule-based protrusions and increases adherence of bacteria. *PLoS Pathog* 5.

Zusammenfassung

Der gram-positive sporenbildende Keim *Clostridium difficile* ist weltweit zunehmend bei Infektionen, die innerhalb von Kliniken erworben werden, ein klinisch, sozial und ökonomisch bedeutsames Problem. Der Keim löst die sog. Antibiotika-assoziierte Diarrhö in der Folge einer Antibiotikatherapie aus und ist für das Auftreten der oftmals tödlichen pseudomembranösen Kolitis verantwortlich. Verursacht werden diese Krankheitsbilder durch zwei Toxine (Toxin A und B) von *C. difficile*, die als Glucosyltransferasen wirken und Schalterproteine (Rho-Proteine) in Darmzellen durch Glucosylierung blockieren.

In jüngster Zeit wurde über das Auftreten „hypervirulenter“ Stämme von *C. difficile* berichtet, die durch eine vermehrte Toxinproduktion, eine Antibiotikaresistenz gegenüber Fluorochinolonen sowie durch die Produktion eines dritten Toxins charakterisiert sind. Bei diesem dritten Toxin handelt es sich um die *C. difficile* Transferase CDT. CDT ist ein Toxin, das das Zytoskelettprotein Actin ADP-ribosyliert, seine Polymerisation hemmt und dadurch das Actin-Zytoskelett von Zellen depolymerisiert.

Wir haben gezeigt, dass die Depolymerisierung des Actin-Zytoskeletts durch das Toxin zu der Bildung von langen Fortsätzen auf der Oberfläche von Zielzellen führt. Die Fortsätze bestehen im Wesentlichen aus Mikrotubuli. Offenbar wird die Kontrolle der Polymerisation von Mikrotubuli, die zu der Bildung von Zell-Protrusionen führt, durch eine Toxin-induzierte Depolymerisation des Aktinzytoskeletts aufgehoben. Die feinen Zellprotrusionen, die nur 50 bis 500 nm dick, aber über 100 µm lang sein können, bilden auf der Zelloberfläche ein dichtes Netzwerk von Zellausläufern, die die *C. difficile* Bakterien umgeben, ihre Adhäsion verstärken und die Kolonisation der Pathogene fördern. Wir haben die strukturellen Voraussetzungen der CDT-induzierten Fortsatzbildung untersucht. Es zeigte sich, dass der Cholesterolgehalt der Membranen die Fortsatzbildung reguliert. Eine Depletion von Cholesteroll führte zu einer Hemmung der CDT-induzierten-Fortsatzbildung, wobei die Zahl und weniger die Länge der Protrusionen beeinflusst wurde. Repletion von Cholesteroll bewirkte eine rasche überschießende CDT-induzierte Fortsatzbildung. Weiterhin wurde gefunden, dass Sphingolipide, die ebenfalls Grundbestandteile der „Liquid ordered Phase“ von Membranen sind, für die CDT-induzierte Fortsatzbildung essentiell sind. Somit die sog. *Lipid Rafts* entscheidend an der Fortsatzbildung beteiligt sind. Erste elektronen-tomografische (Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Stahlberg (Basel)) sowie fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen haben gezeigt, dass die CDT-induzierten Protrusionen neben Mikrotubuli Bestandteile des Endoplasmatischen Retikulums enthalten. Darüber hinaus erfolgt in ihnen reger Vesikeltransport. Insgesamt unterstützen die Befunde ein neues Modell der Regulation von Signaltransduktion und Vesikeltransport bei der Wirt-Pathogen-Interaktion bei dem Toxin-induzierte mikrotubuläre Zellprotrusionen eine bedeutende Rolle spielen.