



Assoziiertes Projekt K10: Funktionale Analyse eines konservierten essentiellen Genclusters in *Mycobacterium tuberculosis*

PI: Kalscheuer, Rainer, Dr. rer. nat.

Jürgen Manchot Nachwuchsforschungsgruppe
Institut für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Universitätsstr. 1, Geb. 22.21
40225 Düsseldorf

Tel.: +49 (0)211 81 13027

Fax: +49 (0)211 81 15906

E-Mail: rainer.kalscheuer@med.uni-duesseldorf.de

http://www.uniklinik-duesseldorf.de/kalscheuer_lab

Projektzusammenfassung

Multiple Antibiotikaresistenzen sind eine Hauptursache für die Verschlimmerung der globalen Tuberkulose-Pandemie, die durch das Bakterium *Mycobacterium tuberculosis* verursacht wird. Mit einer alarmierenden Geschwindigkeit breiten sich weltweit *M. tuberculosis* Stämme aus, die gegen die meisten verfügbaren antituberkulären Antibiotika resistent und daher nur noch sehr schwer behandelbar sind. Es werden daher händeringend neue Antibiotika für die Bekämpfung von multiresistenten *M. tuberculosis* Stämmen benötigt. Ebenso müssen dringend neue molekulare Wirkorte identifiziert werden, die eine rationale und wirkortbasierte Entwicklung spezifischer Chemotherapeutika erlauben.

Unser Labor verfolgt revers-genetische Ansätze bei der Suche nach neuen potentiellen antituberkulären Antibiotikawirkorten. Es wurde ein konditionales Gen-Silencing-System entwickelt, welches die einfache Erzeugung von ortsspezifischen konditionalen Mutanten ermöglicht und eine effiziente Regulation der Expression von Zielgenen in *M. tuberculosis* nicht nur *in vitro* sondern auch unter Infektionsbedingungen in Tiermodellen erlaubt. Dies versetzt uns in die Lage essentielle Gene mit unbekannter Funktion zu analysieren, wobei aus der phänotypischen Charakterisierung von subletal gesilenceten Zellen der konditionalen Mutanten Rückschlüsse auf die Genfunktion gezogen werden können. Weiterhin kann mittels kontrollierter Genexpression in Makrophagen- und Mausmodellen die Verwundbarkeit von einzelnen *M. tuberculosis* Genen *in vivo* unter Infektionsbedingungen getestet und dadurch ihr therapeutisches Wirkortpotential bestimmt werden.

In diesem Projekt analysieren wir die Funktion eines konservierten mycobakteriellen Genclusters unbekannter Funktion, das exklusiv in Mycolsäure-produzierenden Actinobakterien gefunden werden kann. Das Silencen von verschiedenen Genen dieses Clusters konnte ihre Essentialität in *M. tuberculosis* bestätigen. Subletales silencen einiger

der beteiligten Gene resultierte in drastischen Änderungen der Koloniemorphologie beim Wachstum auf Festmedium, was auf eine gestörte Zellwandbiosynthese hinweist. Darauf beruht unsere Hypothese, dass dieses Gencluster eine direkte oder indirekte Rolle beim Aufbau der mycobakteriellen Zellwand spielt. Ein Vergleich der Lipidprofile von voll induzierten und partiell gesilenceten Zellen der entsprechenden konditionalen *M. tuberculosis* Mutanten soll Hinweise auf die physiologische Funktionen und die biochemischen Eigenschaften dieser essentiellen Genprodukte liefern.