

Projekt 09: Wie kontrolliert ein Eukaryot ein endosymbiontisches Bakterium? - Studien zur zellulären Funktion der Endosymbionten-assoziierten Wirtsproteine ETP5 und ETP6 im Trypanosomatiden *Angomonas deanei*

(Projektleiter: Jun.-Prof. Dr. Eva Nowack)

Stand der Forschung: In der Natur werden häufig eukaryotisch Organismen beobachtet, die symbiontische intrazellulären Bakterien beherbergen. Interessanterweise haben viele dieser Endosymbionten einen positiven Effekt auf die Fitness ihrer Wirtszellen [1-2]. Die molekularen Mechanismen, die der Wirts-Symbionten-Interaktion in diesen permanenten „intrazellulären Infektionen“ zugrunde liegen, sind weitgehend unverstanden. Einige kürzlich erschienene Arbeiten legen nahe, dass in vielen Endosymbiosen bestimmte Wirtsproteine in die Endosymbionten transportiert werden [3-6]. Diese Proteine kontrollieren vermutlich spezifische zelluläre Funktionen in den Endosymbionten. Allerdings wird die Erforschung der Biologie von Endosymbiosen dadurch behindert, dass effiziente, genetisch zugängliche Modellsysteme fehlen.

Eigene Vorarbeiten: Daher haben wir in einem vorherigen Projekt den Symbionten-tragenden Trypanosomatiden *Angomonas deanei* als genetisch zugängliches Endosymbiosemodell etabliert und eine Reihe von Endosymbionten-assoziierten Wirtsproteinen identifiziert, die wir endosymbiont-targeted proteins (ETPs) nennen [7]. Während manche ETPs neu in *A. deanei* evolviert sind, haben andere ETPs (z.B. ETP5 und ETP6) Orthologe in anderen Trypanosomatiden ohne Endosymbionten wie den Humanpathogenen *Trypanosoma* spp. und *Leishmania* spp. ETP5-Orthologe aus anderen Trypanosomatiden scheinen an der Zellzykluskontrolle beteiligt zu sein, was nahelegt, dass ETP5 in *A. deanei* eine Rolle in der strikten Synchronisation der Zellzyklen von Wirt und Endosymbiont spielt.

Ziel des Projektes: In diesem Projekt sollen (i) die zellulären Funktionen von ETP5 und ETP6 in *A. deanei* erforscht werden; (ii) getestet werden, ob die Fähigkeit von ETP5 und ETP6 mit dem Endosymbionten zu assoziieren in *A. deanei* evolviert ist, oder auch in ihren Orthologen aus anderen Trypanosomatiden existiert. (iii) Weiterhin soll getestet werden, ob ein Verlust von ETP5 und ETP6 in *A. deanei* durch die heterologe Expression ihrer Orthologen aus anderen Trypanosomatiden komplementiert werden kann.

Arbeitsprogramm:

Zelluläre Funktion von ETP5 und ETP6 in *A. deanei*

- Herstellung und Phänotypisierung von •ETP5 und •ETP6 Nullmutanten (ggf. mittels eines induzierbaren Knock-out Systems)
- Bestimmung der subzellulären Lokalisation von ETP5 und ETP6 mittels Immunogold EM
- Identifikation proteinöser Interaktionspartner von ETP5 und ETP6 durch Co-IP/MS

Test der Fähigkeit von ETP5- und ETP6-Orthologen aus Trypanosomatiden ohne Endosymbionten zur Assoziation mit dem Endosymbionten in *A. deanei*

- Expression und Lokalisationsstudien von ETP5- und ETP6-Orthologen aus *Trypanosoma brucei* und *Leishmania donovani* in *A. deanei*
- Identifizierung von Sequenzelementen die der Fähigkeit zur Assoziation von ETP5 und ETP6 mit dem Endosymbionten zugrunde liegen

Komplementationsstudien von ETP5 und ETP6 aus *A. deanei*, *T. brucei* und *L. donovani*

- Untersuchung der Fähigkeit zur Komplementation von ETP5 und ETP6 in *A. deanei* durch ihre Orthologe aus *T. brucei* und *L. donovani* und umgekehrt

Referenzen

1. Nowack, E.C.M. and M. Melkonian (2010) *Phil Trans R Soc B* **365**, 699-712.
2. Moya, A., et al. (2008) *Nature Rev Genetics* **9**, 218-29.
3. van de Velde, W., et al. (2010) *Science* **327**, 1122-6.
4. Carro, L., et al. (2015) *ISME J* **9**, 1723-33.
5. Login, F.H., et al., (2011) *Science* **334**, 362-5.
6. Singer, A., et al. (2017) *Curr Biol* **27**, 2763-73.
7. Morales, J./Kokkori, S., et al. (2016) *BMC Evol Biol* **16**, 247.