

Zusammenfassung

Neisseria meningitidis ist der Hauptverursacher der bakteriellen Meningitis. Über 500.000 Fälle treten jährlich auf, hauptsächlich während Epidemien in Afrika. *Neisseria meningitidis* ist ein ausschließlich humanpathogenes Bakterium. Um im Wirt überleben zu können, hat dieses Bakterium verschiedene Mechanismen entwickelt, wie z.B. den der Phasenvariation, worunter die Änderung in der Anzahl repetitiver Elemente im Genom verstanden wird. In *Neisseria meningitidis* MC58 sind 102 phasenvariable Gene bekannt. Ziel dieser Arbeit war es, einen *Neisseria meningitidis* Proteinarray zu entwickeln und diesen mit humanen Seren zu untersuchen. Dabei sollten in zwei unabhängigen Versuchsreihen Prä- und Postimmunsere von geimpften Patienten, sowie Seren von Patienten mit einer Meningitis-Infektion und den entsprechenden alters- und geschlechtsgleichen Kontrollpersonen charakterisiert werden.

Dafür wurden zuerst alle 102 bekannten phasenvariablen Gene des Bakteriums aus seiner genomischen DNA amplifiziert und in einen Proteinexpressionsvektor kloniert. Die Proteine wurden exprimiert, und es gelang, für 87 Konstrukte die entsprechenden Proteine aufzureinigen, die im Anschluß zur Erstellung von Microarrays verwendet wurden. In Vorversuchen wurden verschiedene Oberflächen und Screeningbedingungen für die Microarrays getestet. Als am besten geeignete Oberfläche erwies sich Nitrocellulose. Auf diese so beschichteten Glasarrays wurden die Proteine gespottet, mit Serum gescreent und unter Berücksichtigung von Kontrollen bewertet.

Bei der ersten Versuchsreihe waren Personen mit einer äußeren Membranvesikel Präparation von *Neisseria meningitidis* geimpft worden. Das äußere Membranprotein Omp85 wurde auf den Arrays mit 9 von 10 Seren dieser Personen detektiert. Eine spezifische Antikörpererkennung im Serum konnte für dieses Protein durch einen Kompetitionsversuch bestätigt werden. Die Funktion von Omp85 ist noch nicht völlig geklärt, eine Beteiligung an der Biogenese der äußeren Membran wird vermutet. Neben diesem wurde ein weiteres Protein der äußeren Membran detektiert, PorA, welches bereits in Testimpfstoffen verwendet wird.

In einer zweiten Versuchsreihe konnten Antikörper gegen das Opa-Protein (NMB0442) in 11 der 20 Meningitis Patientenseren detektiert werden. Opa-Proteine besitzen hochvariable Sequenzen und werden als wichtige Virulenzfaktoren eingestuft.

Interessanterweise konnte Omp85 sowie PorA mit den Seren der Meningitis Patienten nur in wenigen Patienten detektiert werden. Weiterhin konnte durch verkürzte Konstrukte für PorA und Omp85 gezeigt werden, daß Bindungsstellen über die gesamte Länge des Proteins vorhanden waren.

Damit gelang es, in dieser Arbeit den ersten *Neisseria meningitidis* Proteinarray zu entwickeln, der gleichzeitig den ersten bakteriellen Protein Microarray darstellt. Die starke Immunogenität von drei Proteinen konnte gezeigt werden. Besonders hervorzuheben ist das Opa-Protein NMB0442. Dieses Protein war mit einem authentischen Frameshift annotiert, konnte aber rekombinant exprimiert werden und wies beim Screenen mit Patientenseren deutliche Signale auf. Dies zeigt, daß dieses Protein während der Infektion exprimiert wurde.