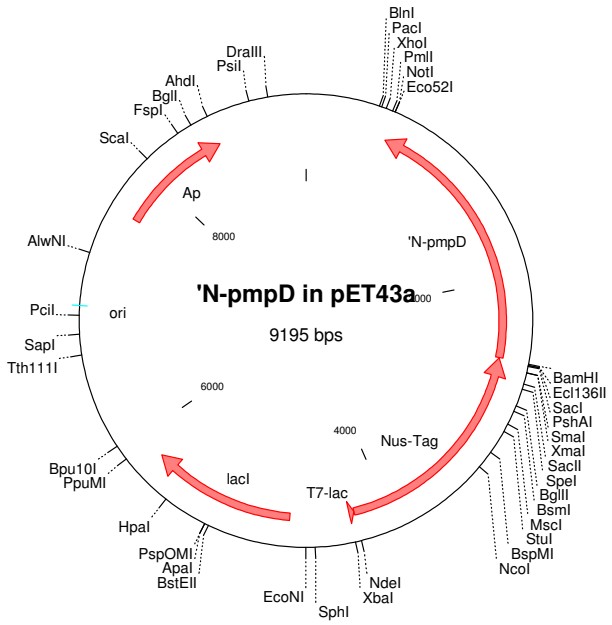
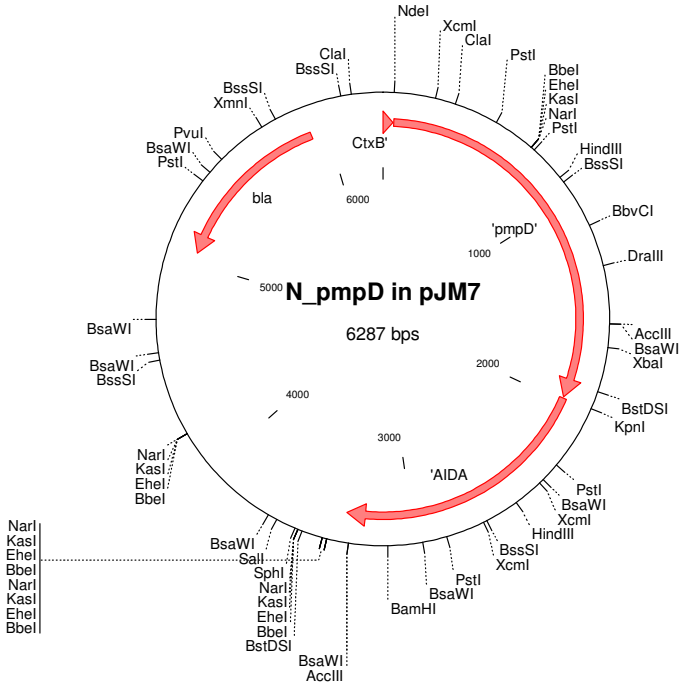
# 8 Anhang

## 8.1 Konstruktübersicht

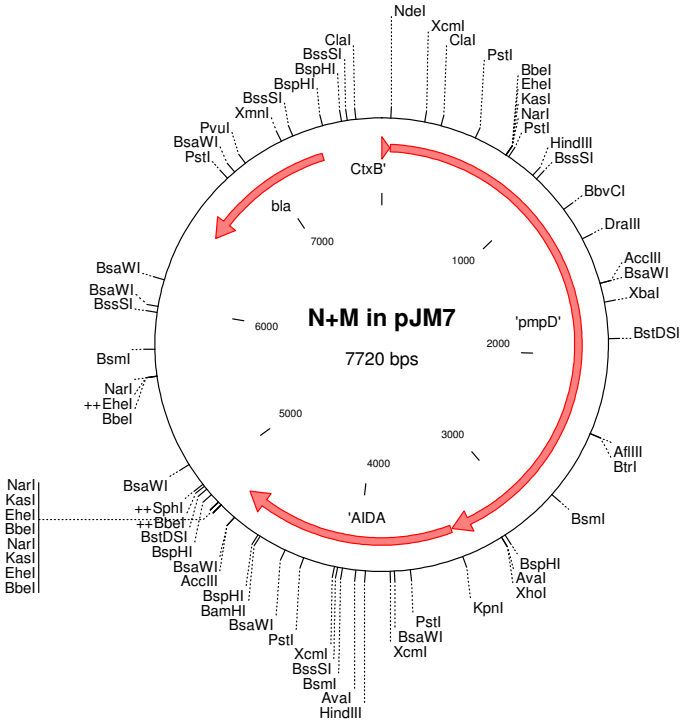
| Kürzel | Nr. (Stammsa.) | Name | Vektor | Beschreibung |
|---|---|---|---|---|
| WW10 | H3356 | pET43a::N-pmpD | pET43a | NusA-(S17-T670 von PmpD)-$His_6$ Fusion zur IPTG-induzierbaren Expression in *E. coli* |
| WW11 | H3357 | N-pmpD-AIDA | pJM7 | ctxB SS*-(S17-T670 von PmpD)-AIDA C-Terminus Fusion, konstitutiver $P_K$ Promotor |
| WW12 | H3358 | N+M-pmpD-AIDA | pJM7 | ctxB SS*-(S17-M1145 von PmpD)-AIDA C-Terminus Fusion, konstitutiver $P_K$ Promotor |




**WW 10**
AS 17-670 von PmpD wurden über die Di-/ Trinukleotid-Methode in den HindIII-/ EcoRI-geschnittenen Vektor pET43a kloniert. Der N-terminale NusA-Teil diente zur Verbesserung der Löslichkeit des überexpremierten Proteins.




**WW11**
AS 17-670 von PmpD wurden über NdeI und KpnI nach den 21 AS der *ctxB*-Signalsequenz und vor den *aida-I* Linker kloniert (Maurer *et al.*, 1997).




**WW12**
AS 17-1145 von PmpD wurden über NdeI und KpnI nach den 21 AS der *ctxB*-Signalsequenz und vor den *aida-I* Linker kloniert (Maurer *et al.*, 1997).

## 8.2 Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. Thomas F. Meyer für die Vergabe des spannenden Themas sowie die ausgezeichnete Begleitung durch zahllose wertvolle Ratschläge und Anregungen und die unermüdliche Bereitschaft zur wissenschaftlichen Diskussion. Zu erwähnen sind hier auch die hervorragenden Arbeitsbedingungen in der „Abteilung Meyer“ am Max-Planck-Institut für Infektionsbiologie.

Frau Dr. Agnes J. Szczepek danke ich für Betreuung meiner Doktorarbeit zu jeder Tageszeit, ihre Recherchen, Korrekturen der Veröffentlichungen, vor allem aber das Angebot sowohl eigenständige Ideen und Arbeiten zu fördern als auch bei großen wie kleinen Entscheidungen mit ihrem unglaublich weiten Wissenshorizont helfend zur Seite zu stehen.

Herrn Prof. Dr. Volker A. Erdmann danke ich in besonderer Weise für die Vertretung meiner Dissertation im Fachbereich Biologie, Chemie und Pharmazie der Freien Universität Berlin und die Begutachtung der Arbeit.

Herrn Dr. Peter R. Jungblut gilt mein Dank für die Unterstützung der Proteomarbeiten, die praktischen und vor allem strategischen Ratschläge.
Frau Ina Wagner, Frau Dr. Uschi Zimny-Arndt und Herrn Frank Sijak danke ich für die Hilfe bei der 2D-Elektrophorese, Frau Monika Schmid und Herrn Frank Schmid bei der Massenspektroskopie.
Frau Dr. Eva C. Müller möchte ich für ihre Geduld bei Messung und Auswertung zahlreicher Proben mit der ESI-MS/MS danken.
Herrn Dr. Robert Hurwitz und Herrn Ralf Winter danke ich für die Hilfe bei der Protein- und Antikörperaufreinigung.

Herr Michael Vasil sei gedankt für das verwendete Antiserum gegen das *E. coli* Fur-Protein.

Der gesamten Chlamydien-Arbeitsgruppe, besonders aber Adrian, André, Anette, Dagmar, Elke, Hesham, Josha, Krishna, Marion, Nicole und Peter danke ich für die kooperative Athmosphäre und den intellektuellen Austausch, die Unterstützung im Labor und vor allem die anregenden Diskussionen über Wesentliches und weniger Wesentliches.

Anja und ihrer phantastischen Familie danke ich für ihre Geduld und die Zeit zu zweit.

Meiner Familie und vor allem meinen Eltern gilt mein größter Dank für die Ermutigung meiner Pläne und die vorbehaltlose Unterstützung in jeder Hinsicht.

## 8.3 Veröffentlichungen aus dieser Arbeit

**Teile dieser Arbeit wurden oder werden veröffentlicht:**

Wolfgang Wehrl, Volker Brinkmann, Peter R. Jungblut, Thomas F. Meyer*,
Agnes J. Szczepek
*From the inside out – processing of the Chlamydial autotransporter PmpD and its role in bacterial adhesion and activation of human host cells*
Mol.Microbiol. **51**: 319-334 (2004)

Wolfgang Wehrl, Eva-Christina Müller, Peter R. Jungblut, Thomas F. Meyer,
Agnes J. Szczepek*
*Action and reaction - Chlamydophila pneumoniae proteome alteration in a persistent infection induced by iron deficiency*
submitted to Proteomics (invitation for Special Issue “Proteomics of Pathogens”)
Ergebnisse der Studie im Internet unter *http:\\www.mpiib-berlin.mpg.de\2D-page*

Klaus-Peter Pleißner, Peter Schmelzer, Uldus Kojasteh, Wolfgang Wehrl, Peter R. Jungblut*
*Presentation of differentially regulated proteins within a web-accessible proteome database system of microorganisms*
submitted to *Proteomics* (invitation for Special Issue “Proteomics of Pathogens”)
*corresponding author

**Als Patent wurde angemeldet:**

Thomas F. Meyer, Wolfgang Wehrl, Agnes J. Szczepek
The role of processed Chlamydial Autotransporter PmpD in Bacterial Adhesion and activation of human host cells

## 8.4 Lebenslauf

| | |
|---|---|
| Geburtsdatum | 29. April 1974 |
| Geburtsort | Amberg |
| Eltern | Georg Wehrl<br>Christine Wehrl, geb. Pöllath |
| Anschrift | Manteuffelstr. 101<br>10997 Berlin<br>Tel.: 030/61 074 898 - 0160/37 15 636 |
| Schule | 09/1980 - 08/1984 Grundschule in Illschwang<br>09/1984 - 06/1993 Max-Reger-Gymnasium in Amberg<br>(musisches Gymnasium) |
| Studium | 11/1993 - 09/1994 Beginn des Biochemie-Studiums in Bayreuth<br>10/1994 - 09/1995 Grundwehrdienst in Bad Salzungen und Erfurt<br>10/1995 - 09/1999 Fortsetzung des Biochemie-Studiums |
| Praktika | 01/1998 - 03/1998 Auslandsaufenthalt in York, Großbritannien<br>04/1998 Immunologie an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg<br>10/1999 - 04/2001 Strukturelle und funktionelle Folgen der Rifampizin-Resistenz bei *Helicobacter pylori*<br>Institut für medizinische Mikrobiologie, Universität Regensburg |
| Diplomarbeit | 03/1999 - 09/1999 Funktionelle Analyse des *Bacillus subtilis* FtsH-Proteins<br>dafür: Preis der Stadt Bayreuth 1999 |
| Promotion | seit 05/2000 Proteomanalyse von *Chlamydia pneumoniae*<br>Max-Planck Institut für Infektionsbiologie, Berlin |

## 8.5 Publikationsliste

**Wehrl W**, Brinkmann V, Jungblut PJ, Meyer TF, Szczepek AJ.
*From the inside out - processing of the* chlamydial *autotransporter PmpD and its role in bacterial adhesion and activation of human cells.*
Molecular Microbiology 2004 Jan; 51(2):319-334
PMID: 14756775 [PubMed - in process] [MMI-2003-01516]

Heep M, Lehn N, Brandstatter B, Rieger U, Senzenberger S, **Wehrl W.**
*Detection of rifabutin resistance and association of* rpoB *mutations with resistance to four rifamycin derivatives in* Helicobacter pylori*.*
Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2002 Feb;21(2):143-5.
PMID: 11939398 [PubMed - indexed for MEDLINE]

Hartl B, **Wehrl W**, Wiegert T, Homuth G, Schumann W.
*Development of a new integration site within the* Bacillus subtilis *chromosome and construction of compatible expression cassettes.*
J Bacteriol. 2001 Apr;183(8):2696-9.
PMID: 11274134 [PubMed - indexed for MEDLINE]

**Wehrl W,** Niederweis M, Schumann W.
*The FtsH protein accumulates at the septum of* Bacillus subtilis *during cell division and sporulation.*
J Bacteriol. 2000 Jul;182(13):3870-3.
PMID: 10851010 [PubMed - indexed for MEDLINE]

## 8.6 Abkürzungen

| | |
|---|---|
| ACP | Acyl-carrier protein |
| AK | Aberante Körperchen (persistente Retikularkörperchen) |
| APS | Ammonium Persulfat |
| AS | Aminosäure(n) |
| Bq | Bequerel |
| CH | Cycloheximid |
| CHAPS | 3-([3-Cholamidopropyl]dimethylammonium)-1-Propan Sulfonat |
| Ci | Curie |
| COMC | *chlamydiale* äußere Membran Komplex(e) |
| C-pmpD | C-terminaler Teil von PmpD |
| 2D- | zwei-dimensional(e) |
| DAM | Deferoxamin-mesylat |
| DH | Dehydrogenase |
| DHB | 2,5-Dihydroxibenzoesäure |
| EF-Ts | Elongationsfaktor Ts |
| DTT | Dithiothreitol |
| EDTA | Ethylen Diamin Tetraessigsäure |
| EK | Elementarkörperchen |
| ELISA | *Enzyme linked immunosorbent assay* |
| ESI | Elektronenspray-Ionisierung |
| ET | Emetin |
| FBS | Fötales Rinderserum |
| HEPES | N-[2-Hydroxyethyl]piperazine-N'-[2-Ethansulfonsäure] |
| HPLC | *High pressure liquid chromatographie* |
| Hsp | Hitzeschockprotein |
| IDO | Indoleamine 2,3-dioxigenase |
| IFNγ | Interferon gamma |
| IPTG | Isopropyl-β-D-Thiogalaktopyranosid |
| ITAM | Immunrezeptor Tyrosin-vermitteltes Aktivierunsmotiv |
| ITIM | Immunrezeptor Tyrosin-vermitteltes Inhibierungsmotiv |
| LPS | Lipopolysaccharid |
| MALDI | Matrix-assistierte Laser-Desorptions Ionisierung |

| | |
|---|---|
| MBP | Maltose-Bindeprotein |
| MCP-1 | Monozyten *Chemoattrakt*-Protein 1 |
| MHC | *Major Histocompatibility Complex* |
| MOI | *Multiplicity of Infektion* (EK pro Wirtszelle) |
| MOMP | Hauptprotein der äußeren Membran |
| M-pmpD | Mittlerer Teil von PmpD |
| 2-ME | β-Mercaptoethanol |
| NO | Stickstoff Monoxid |
| N-pmpD | N-terminaler Teil von PmpD |
| NF-κB | Nuklearer Faktor-κappaB |
| OM | Äußere Membran |
| Opa | Kolonie *Opacity*-assoziiert |
| PAGE | Poly-Acrylamid Gelelektrophorese |
| PCR | Polymerase Kettenreaktion |
| PFA | Paraformaldehyd |
| PMA | Phorbol 12-Myristat 13-Acetat |
| PMF | *Peptide mass fingerprint* (“Peptid-Fingerabdruck”) |
| Pmp | Polymorphe(s) Membran Protein(e) |
| PMSF | Phenylmethylsulfonylfluorid |
| PVDF | Polyvinylidenfluorid |
| p.i. | post Infektion |
| Q-TOF | Quatrupol-*time of flight* |
| RK | Retikularkörperchen |
| RNS | Stickstoff Radikale/Spezies |
| ROS | Sauerstoff Radikale/Spezies |
| RT | Raumtemperatur |
| SDS | Natrium Dodecyl Sulfat |
| SSP | standard spot number |
| STF® | STRECK TISSUE FIXATIVE |
| TEMED | Tetramethyl-Ethylendiamin |
| TFA | Tri-Fluor-Essigsäure |
| TNFα | Tumor Nekrose Faktor alpha |
| Tris | Tris-[Hydroxymethyl]-Aminomethan |
| ü/n | über Nacht |