

6 Zusammenfassung

Die Gattung *Mycobacterium* beherbergt sowohl hoch pathogene als auch opportunistische oder apathogene Arten, die unterschiedliche Wachstumsraten aufweisen und sich außerdem in der Fähigkeit intrazellulär zu persistieren unterscheiden. Ein Hauptmerkmal der Virulenz von *M. tuberculosis*, dem Erreger der Tuberkulose im Menschen, ist die intrazelluläre Persistenz. Das Ziel dieser Arbeit war herauszufinden, ob und inwiefern die Permeabilität der äußeren Membran von Mykobakterien die intrazelluläre Persistenz beeinflusst. Hierfür wurde das Porin MspA von *M. smegmatis*, welches in langsam wachsenden Mykobakterien nicht vorkommt, in *M. bovis* BCG expremiert. Die Quantifizierung des bakteriellen Wachstums auf Agarplatten zeigte einen deutlichen Wachstumsvorteil des *M. bovis* BCG Derivats, das *mspA* enthielt. Die Mutagenese von *mspA* mittels einer Transposon-Insertion zeigte, dass MspA den veränderten Phänotyp bedingte. Des Weiteren zeigte das *M. bovis* BCG Derivat mit MspA eine verbesserte intrazelluläre Persistenz in der murinen Makrophagen-Zelllinie J774A.1 und der humanen Lungenepithel-Zelllinie A549.

Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen führte die Deletion von *mspA* in *M. smegmatis* zu einer verbesserten intrazellulären Persistenz in *A. castellanii* und in murinen Knochenmarksmakrophagen. Die Deletion von *mspA* und dem homologen Poringen *mspC* in einem anderen Mutantenstamm von *M. smegmatis* führte zu langsamerem Wachstum in Flüssigkultur und verbesserter intrazellulärer Persistenz in der murinen Makrophagen-Zelllinie J774A.1, in *A. castellanii* und in murinen Knochenmarksmakrophagen. Die Komplementation der Mutation durch die Expression von *mspA* in den Mutantenstämmen führte zur Wiederherstellung des Wildtyp-Phänotyps.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die Permeabilität der mykobakteriellen Zellwand die intrazelluläre Persistenz und die Wachstumsrate beeinflusst. Außerdem deuten diese Daten daraufhin, dass die Persistenz von Mykobakterien abhängig ist von der Balance zwischen der Abschottung gegenüber dem feindlichen phagosomalen Milieu und der Aufnahme von benötigten Nährstoffen in dieser nährstoffarmen Umgebung.

Weiterhin wurde das Gen *porM1* von *M. fortuitum* charakterisiert, das ein homologes Porin zu MspA kodiert. PorM1 konnte in allen untersuchten Stämmen von *M. fortuitum* und in zwei Stämmen der nahe verwandten und apathogenen Art *M. peregrinum* nachgewiesen werden. Die Expressionsanalyse von *porM1* zeigte unterschiedliche Expressionsmuster

innerhalb der untersuchten Stämme der *M. fortuitum*-Gruppe. Aufgrund der Fähigkeit von *M. fortuitum* intrazellulär persistieren zu können und aufgrund des Vorhandenseins von Porinen wie PorM1, stellt diese Art ein geeignetes Modell dar, um den Einfluss mykobakterieller Porine auf die Persistenz zu studieren.