

4 ERGEBNISSE

4.1 MAF wird bei der Reifung vom Monozyten zum Makrophagen CD11b-abhängig hochreguliert.

Die Differenzierung myelomonozytärer Zellen entlang des Monozyten/Makrophagen-Weges wird von Zell-Zell- oder Zell-Substrat (z. B. die Plastikoberfläche der Kulturflasche) -Kontakt eingeleitet (Tushinski et al., 1982). Im Verlauf werden CD11a, CD11c und besonders CD11b vermehrt exprimiert (Hass et al., 1989). Diese Integrine sind die α -Untereinheiten, die zusammen mit der β -Einheit CD18 Heterodimere bilden, die alle an der Formation von Zell-Zell-Kontakten und an den darauf folgenden interzellulären Kommunikationsprozessen beteiligt sind (Bohbot et al., 1993). Das CD11b/CD18-Heterodimer ist bekannt als Mac-1 Rezeptor und spielt hierbei eine vorrangige Rolle (Prudovsky et al., 2002). Wird Mac-1 durch ein Antisensekonstrukt gegen CD11b in der Zelle blockiert, verlieren monozytäre Zellen der Zelllinie U937 die Fähigkeit zur Differenzierung zu Makrophagen (Prudovsky et al., 2002). Die humane leukämische Zelllinie U937 ist sehr gut charakterisiert, speziell die durch Phorbol-Ester induzierte Differenzierung von Monozyten zu Makrophagen (Übersichtsartikel: (Hass, 1994; Hass et al., 1992)).

Um zu untersuchen ob MAF-Expression differenzierungsabhängig in myelomonozytären Zellen induziert wird, wurden Zellen der Linie U937 mittels Northern Blot untersucht. Durch 24-stündige Inkubation mit dem Phorbol-Ester 12-O-Tetradecanoyl-Phorbol-13-Azetat (TPA) wurde die Reifung der monozytären U937 Zellen zu Makrophagen induziert und Monozyten und Makrophagen wurden im Northern Blot untersucht.

Die Northern Blot Analyse mit der Densitometrie in der Abbildung 4.1.1 zeigt eine ausgeprägte Hochregulation der MAF-mRNA in ausdifferenzierten U937 Makrophagen (Abb. 4.1.1., con + TPA), während MAF kaum in undifferenzierten monozytären Kontroll U937 Zellen exprimiert wird (Abb. 4.1.1., con).

Interessant ist außerdem die MAF-Expressionsbeziehung zu CD11b und damit Mac-1, also die Abhängigkeit der MAF-Expression von Ereignissen wie Zell-Zell-Kontakt und anderer interzellulärer Kommunikation. Deshalb wurden auch mit einem Antisensekonstrukt gegen CD11b transfizierte U937 Zellen (Prudovsky et al., 2002) untersucht.

Wie in der Abbildung 4.1.1. gezeigt, wird die TPA induzierte Hochregulation der MAF-Expression durch die Transfektion mit einem Antisensekonstrukt gegen CD11b unterdrückt (Abb. 4.1.1., asCD11b + TPA), unbehandelte monozytäre asCD11b-transfizierte Zellen zeigen ebenfalls nur eine Hintergrundexpression von MAF (Abb. 4.1.1., asCD11b).

Zusammengefasst konnte ich zeigen, dass die MAF-mRNA-Expression in U937 Zellen differenzierungsabhängig und CD11b-abhängig ist.

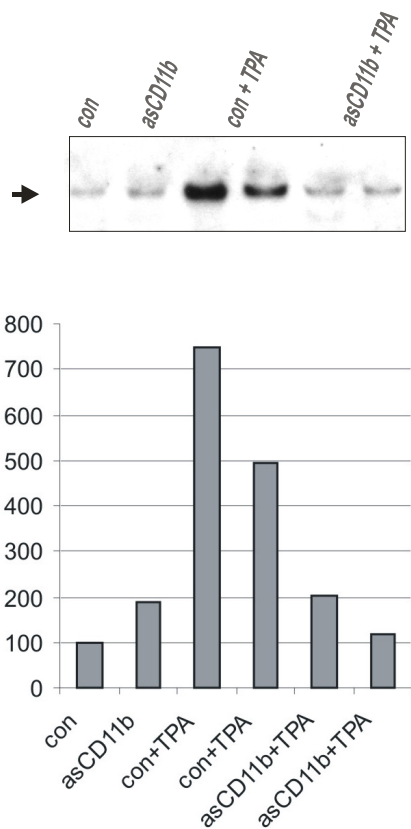


Abb. 4.1.1.:

MAF wird während der Monozyten/Makrophagen-Differenzierung CD11b abhängig reguliert. Die humane monozytäre Zelllinie U937 differenziert sich durch Inkubation mit 12-O-Tetradecanoylphorbolacetat (TPA) zu Makrophagen aus. Der Northern Blot und die densitometrische Analyse zeigen eine starke Hochregulation von MAF-mRNA in U937 Zellen nach der Inkubation mit TPA (con+TPA), während die MAF-mRNA-Hochregulation in TPA behandelten Zellen, die mit einem Antisense-Konstrukt gegen CD11b transfiziert sind, ausbleibt (asCD11b+TPA). Die monozytären U937 Zellen zeigen vor TPA Behandlung, unabhängig vom Transfektionsvektor (Antisense oder Kontrolle) nur eine schwache Hintergrundexpression von MAF (con, asCD11b). MAF: Makrophagen Aktivierungsfaktor; con: Zellen mit leerem Kontrollvektor transfiziert, asCD11b: Zellen mit Antisensekonstrukt gegen CD11b transfiziert, TPA: 12-O-Tetradecanoylphorbolacetat.

4.2 Generierung eines MAF-spezifischen Antikörpers in Kaninchen

In einem differential display unseres Labors zur Ermittlung der differentiellen Genexpression lädierter und unlädierter Hippocampi wurde die mRNA Expression von MAF im Läsionsgebiet nach entorhinaler Kortexläsion (ECL) gefunden (Brauer et al., 2004).

Um dieses Phänomen genauer zu untersuchen, und direkt im Gewebe auf der Proteinebene zu überprüfen, wurden polyklonale MAF-spezifische Antikörper generiert.

Verschiedene Antikörper wurden produziert und getestet. Insgesamt wurden 12 weiße Neuseeländer Kaninchen mit fünf verschiedenen Peptiden gekoppelt an zwei verschiedene Trägerproteine (KLH und Ovalbumin) immunisiert (siehe Material und Methoden). Präimmunserum wurde jeweils vor der ersten Injektion abgenommen.

Das Peptid des hier gezeigten Antikörpers (CHYYAIWKYLYRSPTDFMRHLOH) wurde mit m-Maleimidobenzoyl-N-hydroxysuccinimid-ester (MBS) an KLH als Trägerprotein gekoppelt. Nach der Adsorption an Bentonit (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) wurde das Peptid mit Freundschem Adjuvans emulgiert (komplett für die erste Injektion, inkomplett für alle weiteren; 2/5 Antigen). Die Kaninchen wurden durch subskapuläre Injektion der Emulsion (jeweils 1 mg Antigen) immunisiert. Die zweite Injektion erfolgte nach drei Wochen, eine dritte sechs Wochen nach der ersten Injektion. Zehn Tage danach wurde Serum gewonnen (Blutabnahme < 10 ml/ kg Körpergewicht) und in flüssigem Stickstoff schockgefroren. Sera wurden bei -20°C aufbewahrt.

Die gewonnenen Seren wurden wie in Kap. 3.3 beschrieben mittels Dot Blots von antigenem und nicht-antigenem Peptid sowie im Western Blot von undifferenzierten und TPA differenzierten myelomonozytären U937 Zellen auf ihre Spezifität getestet und mit den Präimmunsera verglichen. Im Dot Blot zeigten alle Seren spezifische Reaktionen. Ausgewählt wurden die Seren, die im Western blank im Präimmunserum eine Bande bei den differenzierten U937 Makrophagen zeigten, aber keine bei den undifferenzierten monozytären Zellen. Die Bande zeigte sich bei etwa 66kDa.

Gehirnschnitte wurden mit Präimmunserum, Serum, Serum vorinkubiert mit antigenem Peptid und Serum vorinkubiert mit einem Nonsense-Peptid (jeweils 1:1000 – 1:5000 verdünnt, Präimmunsera bis 1:50) über Nacht bei 4°C inkubiert. Nur Serum und das Serum, welches mit dem nicht-antigenen Nonsense Peptid vorinkubiert wurde, zeigten die spezifische MAF-Färbung Mikroglia gleichender Zellen im Läsionsgebiet (Abb. 4.2.1.).

Es wurde also ein spezifischer polyklonaler Antikörper gegen MAF produziert.

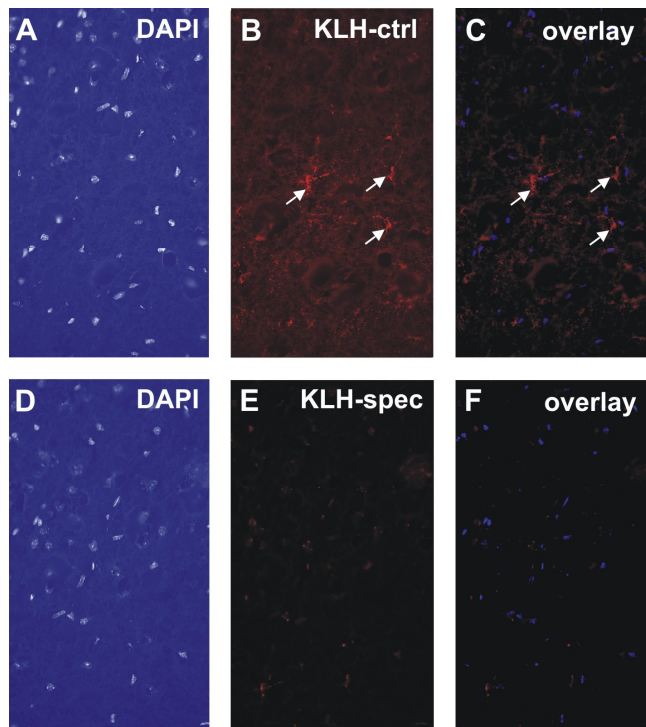


Abb. 4.2.1.:

Produzierter MAF-Antikörper färbt spezifisch. Die Spezifität des Antikörpers wurde durch die Vorinkubation des Serums mit einem KLH gekoppelten Kontrollpeptid (KLH-ctrl; A-C) und dem antigenen KLH gekoppeltem Peptid, welches zur Immunisierung verwendet wurde (KLH-spec; D-F). A, D: Gegenfärbung der Nuclei mit 4'-6-Diamidino-2-phenylindole (DAPI); B-C: Nach der Vorinkubation mit dem KLH gekoppelten Kontrollpeptid bindet der Antikörper weiterhin MAF-spezifisch an Makrophagen/Mikroglia (Pfeile) im deafferenzierenden Hippocampus. E-F: Nach der Vorinkubation mit dem für die Immunisierung verwendeten antigenen KLH gekoppeltem Peptid ist die Bindung des anti-MAF-Antikörpers geblockt. DAPI: 4'-6-Diamidino-2-phenylindole; KLH: Keyhole limpet Hemocyanin; MAF: Makrophagen Aktivierungsfaktor.

4.3 Western Blot mit BV-2 Zellen

Die konstitutiv aktivierte Mikroglia Zelllinie BV-2 aus der Maus lässt sich leicht in Kultur halten und eignet sich gut für Experimente der Zellkultur (Blasi et al., 1990). Die konstitutive MAF-Expression wurde mittels Western Blot überprüft. Die MAF-Bande zeigte sich bei ca. 66 kDa (Abb. 4.3.1.). MAF wird also in BV-2 Zellen konstitutiv exprimiert.

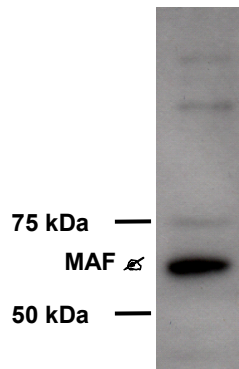


Abb. 4.3.1.:

BV-2 Mikrogliazellen exprimieren konstitutiv MAF. Der Western Blot von BV-2 Zellen zeigt die konstitutive Expression von MAF dieser Zelllinie. Die MAF-Bande läuft bei etwa 66 kDa. MAF: Makrophagen Aktivierungsfaktor; kDa: kilo Dalton.

4.4 Kolokalisation und Verteilung des MAF-Antikörper mit dem Mikroglia marker Isolektin B4 in BV-2 Zellen

Um die Expression von MAF im Vergleich zu dem gängigen Mikroglia marker Isolektin B4 (IB4) in einzelnen Mikrogliazellen zu untersuchen, wurde eine Doppelfärbung von MAF und IB4 durchgeführt. Die Färbung zeigt die Kolokalisation von MAF und IB4 in BV-2 Zellen in den meisten Zellen, es sind jedoch nicht alle Zellen MAF-positiv (Abb. 4.4.1.).

Die konfokale mikroskopische Analyse einzelner BV-2 Zellen zeigt eine zytoplasmatische, vesikuläre lysosomenartige Verteilung von MAF und die

Kolokalisation mit IB4 in den Zellen (Abb. 4.4.2.). Zusammengefasst exprimieren die meisten IB4-positiven BV-2 Zellen konstitutiv MAF, wobei MAF sich dabei vesikulär und damit lysosomenartig im Zytoplasma verteilt.

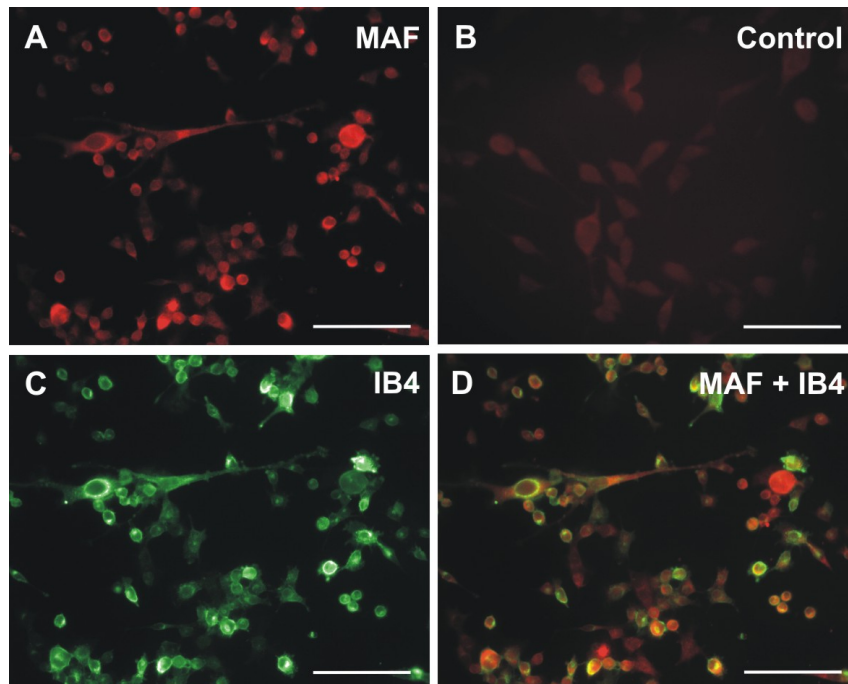


Abb. 4.4.1.:

MAF-Expression der meisten IB4-positiven BV-2 Mikrogliazellen. MAF kolokalisiert konstitutiv mit IB4 in den meisten BV-2 Zellen. A: MAF-Immunoreaktivität in BV-2 Mikrogliazellen. B: Kontrolle, BV-2 Zellen nur mit Zweitantikörper inkubiert. C: IB4 Immunoreaktivität. D: Kolokalisation von MAF (rot) und IB4 (grün). Maßstab: 1: 200µm. IB4: Isolektin B4; MAF: Makrophagen Aktivierungsfaktor.

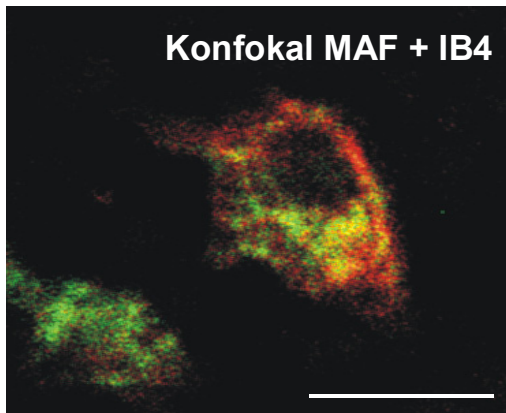


Abb. 4.4.2.:

MAF wird zytoplasmatisch vesikulär und damit lysosomenartig in BV-2 Zellen exprimiert. Die Zweiphotonen Mikroskopie zeigt die zytoplasmatische, vesikuläre, lysosomenartige Expression in der BV-2 Mikrogliazelle von MAF (rot) und die Kolokalisation mit IB4 (grün). $\lambda = 840 \text{ nm}$. Maßstab: 1: $12\mu\text{m}$. IB4: Isolektin B4; MAF: Makrophagen Aktivierungsfaktor.

4.5 Exklusive MAF-Expression auf Makrophagen/Mikroglia Zellen in Neuronen/Glia Kokulturen

Es wurden Doppelfärbungen von gemischten Neuronen/Glia-Kulturen mit Antikörpern gegen MAF mit Neurofilament als Marker für Neurone (Abb. 4.5.1. A, B, C), mit GFAP als Marker für Astrozyten (Abb. 4.5.1. D, E, F) oder mit CD11b als Marker für Makrophagen/Mikroglia Zellen (Abb. 4.5.1. G, H, I) durchgeführt. Nur CD11b-positive Zellen koexprimieren MAF.

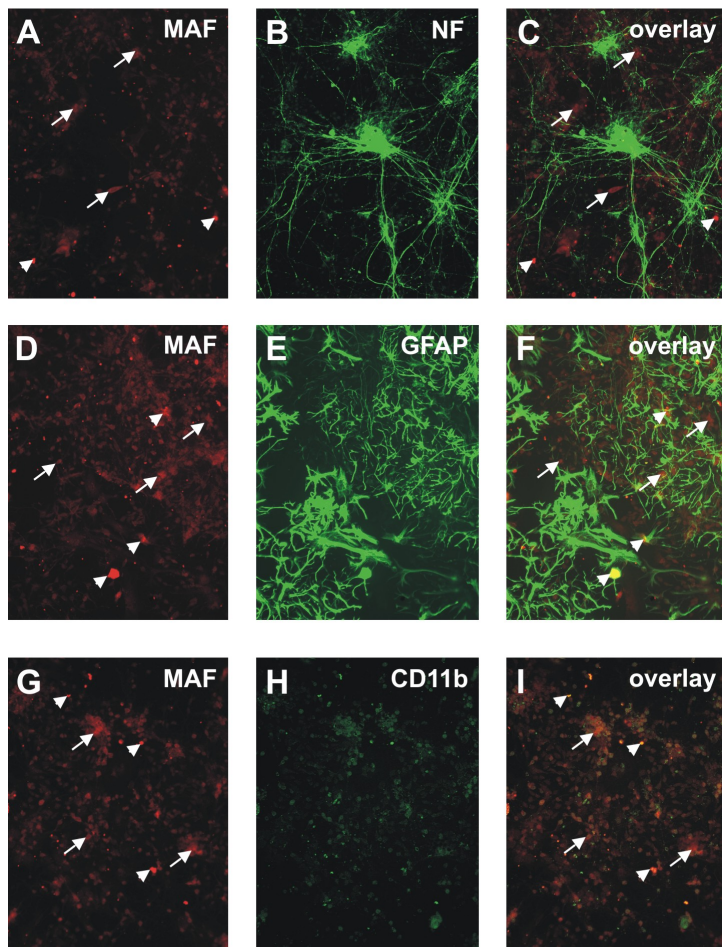


Abb. 4.5.1.:

MAF wird in gemischten Neuron/Glia Kokulturen ausschließlich von Makrophagen/ Mikrogliazellen exprimiert. Gemischte Neuron/Glia Kokulturen wurden doppelgefärbt mit dem MAF-Antikörper und: Mit Neurofilament (NF) als Neuronenmarker (A-C); Mit GFAP als Astrozytenmarker (D-F); Mit CD11b als Makrophagen/Mikroglia marker (G-I). A, D, G: MAF+ Zellen (Pfeile); B-C: Keine Doppelfärbung von NF+ und MAF+ Zellen (Pfeile); E-F: Keine Doppelfärbung von GFAP+ und MAF+ Zellen (Pfeile); H-I: Doppelfärbung von CD11b+ und MAF+ Zellen (Pfeile). Pfeilspitzen markieren unspezifisch angefärbten Zelldebris. GFAP: Glial fibrillary acidic protein; MAF: Makrophagen Aktivierungsfaktor; NF: Neurofilament.

4.6 MAF-Immunoreaktivität auf Mikrogliazellen ist auf den deafferenzierenden Hippocampus der Läsionsseite beschränkt

Mikrogliazellen und Makrophagen sind eng verwandt und können sich ineinander umwandeln. Beide Zelltypen sind mesodermalen Ursprungs und exprimieren spezifische gemeinsame zelluläre Marker wie beispielsweise das in

Kap. 1.6 näher beschriebene α M β 2 Integrin, auch bekannt als Mac-1 oder CD11b/CD18, IgG Rezeptoren (CD16/CD32), ionisiertes Kalziumbindendes Adaptorprotein-1 (Iba1) und andere. Man unterscheidet sie vor allem nach der Lokalisation: Mikroglia sind residente Zellen des Gehirnparenchyms. Perivaskuläre Makrophagen finden sich zwischen dem Endothel der Gefäße und der Basalmembran, welche das Blutgefäß vom umgebenden Gehirngewebe trennt. Menigeale Makrophagen sind große runde Zellen, die man zwischen den meningealen Epithelzellen und der Basalmembran findet (Raivich und Banati, 2004).

Nach einer Läsion des entorhinalen Kortex (ECL) degenerieren Axone der deafferenzierenden Hippocampusneurone und zahlreiche MAF-positive Mikrogliaähnliche Zellen finden sich im degenerierenden Hippocampus (Abb. 4.6.1. A, C). Der kontralaterale Hippocampus zeigt keine MAF-positive Zellen (Abb. 4.6.1. B), während CD11b und IB4, klassische Makrophagen/Mikroglia-Marker, auf Zellen im gesamten Gehirn exprimiert sind. Weitere Vergrößerung zeigt die zytoplasmatische, vesikuläre Expression von MAF in dendritischen Mikrogliaähnlichen Zellen (Abb. 4.6.1. D). Makrophagen/Mikroglia handelt, wurde eine Doppelfärbung mit CD11b durchgeführt, einem der üblichen Makrophagen/Mikroglia-Marker. CD11b wird als α -Untereinheit des Mac-1 Rezeptors (s. Kap. 1.6) auf Makrophagen und Mikrogliazellen konstitutiv exprimiert. Drei Tage nach ECL exprimieren die meisten läsionsassoziierten CD11b-positiven Makrophagen/Mikroglia im entorhinalen Kortex MAF (Abb. 4.6.2.). Die konfokale mikroskopische Analyse von MAF und IB4 in läsionsassoziierten Makrophagen/Mikrogliazellen zeigt die zytoplasmatische möglicherweise lysosomale vesikuläre Expression von MAF und die Kollokalisierung mit IB4 (Abb. 4.6.3.).

Zusammengefasst konnte gezeigt werden, dass MAF im deafferenzierenden Hippocampus von Makrophagen/Mikroglia exprimiert wird und sich im Zytoplasma der Zellen im Gewebe vesikulär lysosomenartig verteilt, wohingegen der kontralaterale Hippocampus frei bleibt.

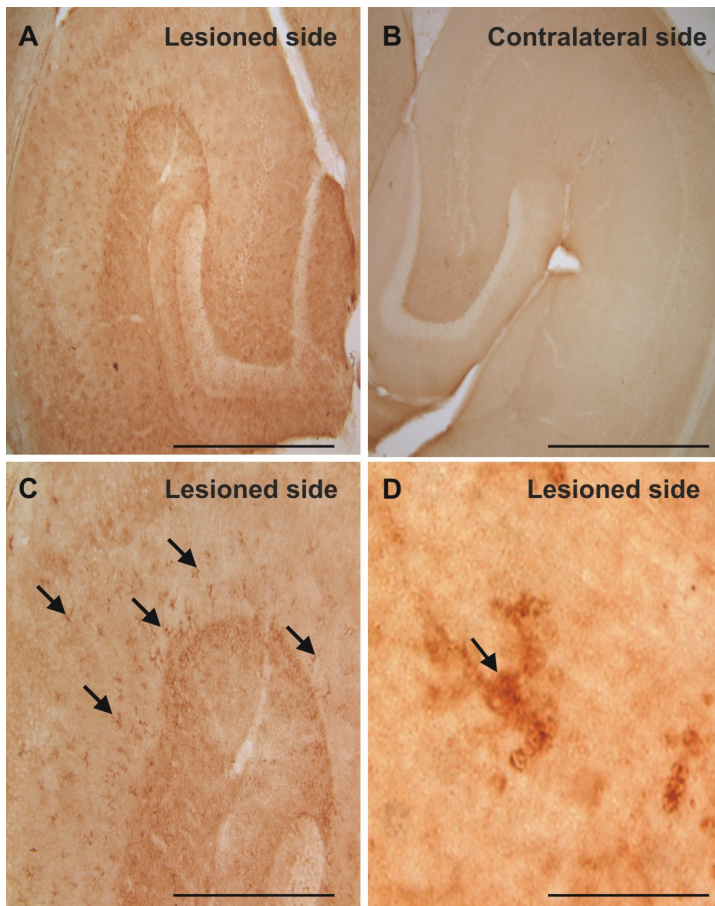


Abb. 4.6.1.:

MAF-Immunoreaktivität von Makrophagen/Mikrogliazellen ist auf die Läsionsseite beschränkt. Drei Tage nach ECL ist die MAF-Expression auf die deafferenzierende hippocampale Region auf der Läsionsseite beschränkt. A: Zahlreiche MAF+ Mikrogliaähnliche Zellen im deafferenzierenden Hippocampus; B: Keine MAF-Expression im kontralateralen Hippocampus; C: Höhere Vergrößerung von A, MAF+ Mikrogliaähnliche Zellen mit Pfeilen gekennzeichnet; Höhere Vergrößerung von C, MAF+ Mikrogliaähnliche Zelle mit Pfeil markiert. Maßstab: A, B: 1:500 μ m; C: 1:250 μ m, D 1:25 μ m. ECL: entorhinale Kortexläsion; MAF: Makrophagen Aktivierungsfaktor.

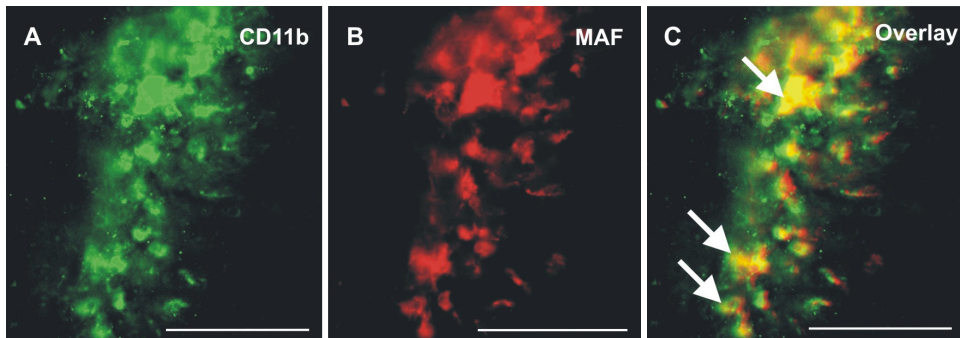


Abb. 4.6.2.:

MAF-Immunoreaktivität auf CD11b-positiven Mikrogliazellen nach Läsion.
 Drei Tage nach ECL exprimieren läsionsassoziierte CD11b-positive Makrophagen/Mikrogliazellen im entorhinalen Kortex MAF. A: CD11b Immunoreaktivität auf läsionsassoziierten Zellen; B: MAF-Immunoreaktivität; C, Kolokalisation von CD11b+ (grün) und MAF+ Zellen (rot); Pfeile markieren doppelgefärbte Zellen. Maßstab: 1:100µm. ECL: entorhinale Kortexläsion; MAF: Makrophagen Aktivierungsfaktor.

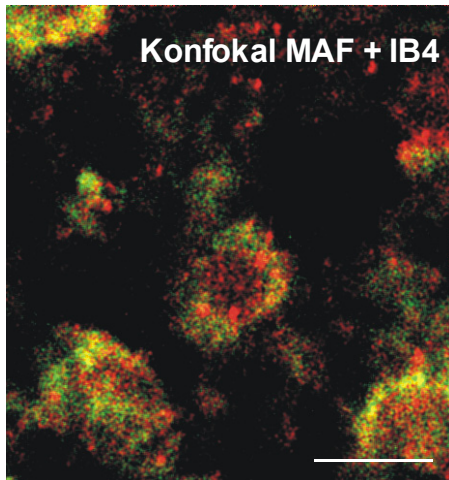


Abb. 4.6.3.:

Vesikuläre, lysosomenartige MAF-Expression in läsionsassoziierten Makrophagen/ Mikrogliazellen. Die Zweiphotonen-Mikroskopie einer läsionsassoziierten Mikrogliazelle zeigt die vesikuläre, lysosomenartige Expression von MAF (rot) und die Kolokalisation mit IB4 (grün). $\lambda=840\text{nm}$. Maßstab: 1:12 μm . IB4: Isolektin B4; MAF: Makrophagen Aktivierungsfaktor.

4.7 NCBI-Genbank-Analyse

Die Genbankanalyse des Nationalen Center für Biotechnologie Information (NCBI) (Altschul et al., 1997) der humanen MAF-Sequenz zeigt, dass dieses Gen zwischen verschiedenen Spezies hochgradig konserviert ist: Der ursprünglich von Rehli und Kollegen im Menschen beschriebene Monozyten-Makrophagen-Differenzierungsassoziierte Faktor (MMD1/MAF) (Rehli et al., 1995) ist inzwischen durch hochgradig homologe (>80%, oft >90%) cDNAs in verschiedenen Spezies beschrieben (Tab. 4.7.1.).

Tab. 4.7.1. Homologie des humanen MAF zu unterschiedlichen Spezies, bp: Basenpaare

Spezies	Status	DNA bp identisch	Prozent	NCBI Genbank ID
Pan troglodytes	vorausgesagt	796/798	99%	gi 55646610 ref XM_511895.1
Canis familiaris	vorausgesagt	750/805	93%	gi 57091162 ref XM_537684.1
Mus musculus	bestätigt	729/806	90%	gi 31982654 ref NM_026178.2
Rattus norvegicus	bestätigt	713/799	89%,	gi 56090320 ref NM_001007673.1
Gallus gallus	vorausgesagt	564/667	84%	gi 50757794 ref XM_415650.1
Bos Taurus	vorausgesagt	170/177	96%	gi 61827206 ref XM_609365.1

Außerdem findet man in der NCBI-Genbank in der Conserved Domain Suche (CD-Search) (Marchler-Bauer und Bryant, 2004) die MAF-Verwandtschaft zu einer bisher uncharakterisierten Proteinfamilie, die nach dem Hämolysin III im *Bacillus cereus* Hly-III/ UPF0073 benannt ist. Mitglieder dieser neuartigen Proteinfamilie sind laut ihres Kyte-Doolittle-Hydrophobizitätsprofils (s. Kap. 4.8) integrale Membranproteine. Es wurde bisher nicht gezeigt, ob andere Mitglieder der Familie hämolytisch aktiv sind. Das MAF-Gen ist im Menschen auf dem Chromosom 17 lokalisiert (NCBI-Genbank-Treffer in der Gesamtsequenz des Chromosoms 659/668 (98%), ID: gi|17226706|gb|AC007638.8).

Zusammengefasst handelt es sich bei MAF laut NCBI-Genbankanalyse um ein durch verschiedene Spezies hochgradig konserviertes Gen, das mit einer nach einem bakteriellen Hämolysin benannten neuartigen Proteinfamilie verwandt ist und beim Menschen auf Chromosom 17 lokalisiert ist.

4.8 Kyte-Doolittle-Algorithmus und die strukturelle Homologie zu Hämolysin III

Der Kyte-Doolittle-Algorithmus sagt die Proteinstruktur und das Einbetten in die Membran voraus, indem er hydrophobe und hydrophile Bereiche des Proteins berechnet und graphisch darstellt (Kyte und Doolittle, 1982). Die positiven Werte repräsentieren hydrophobe und die negativen hydrophile Areale. Ab einem Wert von +0,5 wird die Einbettung in die Membran vorausgesagt. Für

das MAF-Protein werden demnach sieben transmembranäre Spannen vorhergesagt (Abb. 4.8.1. MAF). Dies ist zwar ein klassisches Rezeptor-Motiv, MAF weist jedoch keinerlei typische Rezeptordomänen in seiner Sequenz auf (Rehli et al., 1995). Stellt man dem Kyte-Doolittle-Algorithmus von MAF den des Hämolyisin III des *Bacillus cereus* (Baida und Kuzmin, 1995) gegenüber, so sieht man auch in der vorhergesagten Struktur deutliche Homologien (nahezu identisch, Abb. 4.8.1.).

Zusammengefasst werden durch den Kyte-Doolittle-Algorithmus sieben transmembranäre Spannen für MAF vorhergesagt und MAF zeigt in seiner Strukturvorhersage des Algorithmus eine erstaunliche Ähnlichkeit zu dem signifikant, aber niedrig sequenzhomologen Hämolyisin III des *Bacillus cereus* (s. Kap. 4.7).

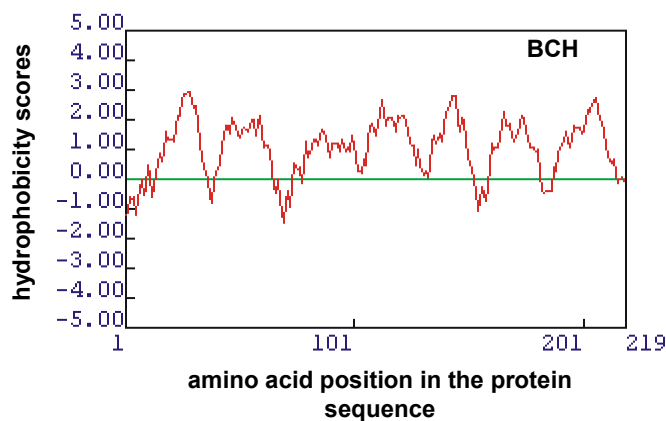
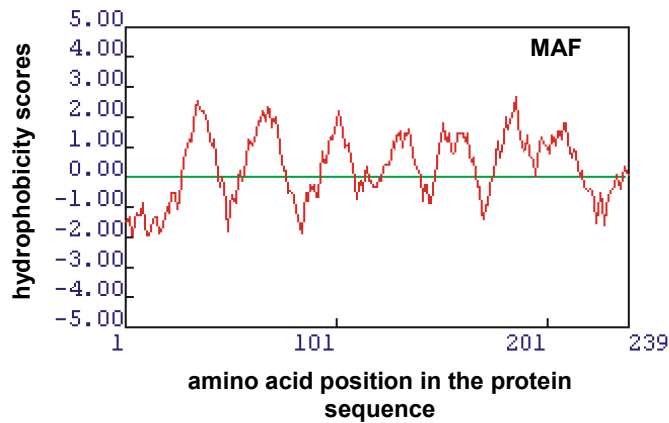


Abb. 4.8.1.:

Kyte-Doolittle-Algorithmus zeigt hohe strukturelle Homologie von MAF und dem Hämolyysin III des *Bacillus cereus*. Aminosäuren mit einem Hydrophobizitätswert über +0,5 werden in die Membran eingebettet. Der Plot sagt also sieben transmembranäre Spannen für MAF und das Hämolyysin III des *Bacillus cereus* voraus. MAF: Makrophagen Aktivierungsfaktor; BCH: Hämolyysin III des *Bacillus cereus*.

4.9 MAF besitzt hämolytische Eigenschaften

Hämolyisine sind bakterielle Faktoren, die für potentielle Virulenzfaktoren gehalten werden. Ihre genaue Funktion ist bislang ungeklärt. Die bekannte und namengebende Fähigkeit, die allen Hämolyisinen gemein ist, ist die Fähigkeit Erythrozyten zu lysieren, indem Poren in der Membran gebildet werden. Um die in den vorherigen beiden Punkten beschriebene MAF-Homologie zu Hämolyysin III des *Bacillus cereus* auch funktionell zu untersuchen, wurde also das

hämolytische Potential von MAF in einem preliminären Experiment untersucht.

Es wurde MAF in Bakterien überexprimiert, indem nach der Klonierung eines MAF-PCR-Amplifikats aus Rattenhirngewebe in den TOPO TA Vektor *E. coli* transformiert wurden. Dann wurden diese auf Blutagar ausplattiert und über Nacht bei 37°C inkubiert. Die Abbildung 4.9.1. zeigt die ausgeprägte Hämolyse in Form eines klaren Hofes um die MAF TOPO TA transformierten Bakterienkolonien (Abb. 4.9.1. A), wobei die mit TOPO TA Kontrollvektoren ohne Insert transformierten *E. coli* keinerlei hämolytische Aktivität zeigten (Abb. 4.9.1. B). Im Vergleich zu mit Kontrollvektoren transformierten Bakterien ist das Wachstum der mit dem MAF-Vektor transformierten Kolonien deutlich verlangsamt. Erstaunlich war auch die Instabilität der transformierten bakteriellen Klone. Nach einer Anzucht Hämolyse-positiver Kolonien, Isolierung von Plasmid-DNA und Retransformation hatte ein Großteil der Transformanden seine Fähigkeit zur Hämolyse verloren. Zusammengefasst zeigt MAF hämolytische Fähigkeiten und zusätzlich eine hohe Toxizität für MAF-überexprimierende Bakterien.

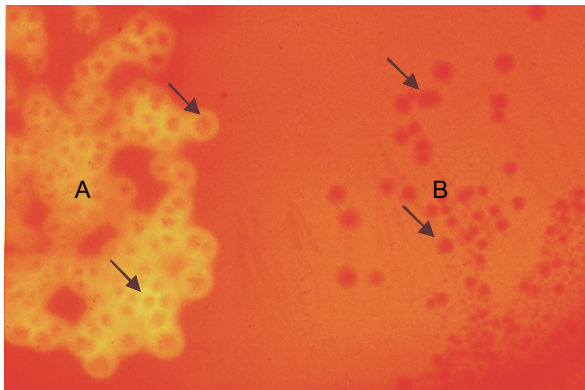


Abb. 4.9.1.:

MAF ist hämolytisch aktiv. Wird MAF in *Escherichia coli* überexprimiert, zeigt sich ein ausgeprägtes hämolytisches Potential auf Blutagarplatten (A). Zellen, die mit einem leeren Kontrollvektor transformiert wurden, zeigen dagegen keine Hämolyse um die Kolonien (B). MAF: Makrophagen Aktivierungsfaktor.