

INHALTSVERZEICHNIS

INHALTSVERZEICHNIS

I Inhaltsverzeichnis

II Abbildungsverzeichnis

III Abkürzungsverzeichnis

1	EINLEITUNG	1
1.1	Zielsetzung	1
1.2	Fragestellung	2
2	SCHRIFTTUM	3
2.1	Pathogene	3
2.1.1	<i>Listeria monocytogenes</i>	3
2.1.2	<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	5
2.2	Endothel.....	8
2.3	Angeborene Immunantwort	9
2.3.1	Toll-like Rezeptoren	10
2.3.2	Nod-ähnliche Rezeptoren	10
2.4	Aktivierung von intrazellulären Signalwegen.....	11
2.4.1	Mitogen-aktivierte Protein Kinasen.....	11
2.4.2	Rho-GTPasen.....	12
2.5	Aktivierung von NF-κB.....	14
2.6	Histonmodifikationen	15
2.6.1	Nukleosom.....	16
2.6.2	Histonmodifikationen	17
2.6.3	Histon-modifizierende Enzyme.....	19
2.7	Zytokine/Chemokine	21
2.7.1	Interleukin 8 (IL-8).....	23

INHALTSVERZEICHNIS

2.7.2	Interferon γ (INF γ)	23
2.8	Angeborene Immunantwort gegenüber den bakteriellen Erregern <i>L. monocytogenes</i> und <i>C. pneumoniae</i> in humanen Endothelzellen.....	24
3	MATERIAL UND METHODEN	27
3.1	Material.....	27
3.1.1	Substanzen.....	27
3.1.2	Enzyme.....	29
3.1.3	Kulturmedien.....	29
3.1.4	Zellen.....	31
3.1.5	Bakterienstämme.....	32
3.1.6	Puffer und Lösungen	32
3.1.7	Zellinhibitoren	39
3.1.8	Antikörper	40
3.1.9	Spezielle Reagenzien und Kits für ChIP.....	41
3.1.10	Farbstoffe für Konfokale Laser Scanning Mikroskopie.....	41
3.1.11	Zubehör	41
3.1.12	Spezielle Geräte	42
3.2	Methoden.....	44
3.2.1	Zellbiologische Methoden.....	44
3.2.2	Mikrobiologische Methoden.....	46
3.2.3	Molekularbiologische Methoden.....	48
3.2.4	Mikroskopie.....	55
3.2.5	Statistische Auswertung.....	56
4	ERGEBNISSE	57
4.1	<i>Listeria monocytogenes</i> , nicht jedoch <i>Listeria innocua</i> , invadiert humane Endothelzellen und induziert dosisabhängig die Freisetzung von IL-8 und IFN γ	57
4.2	<i>Listeria monocytogenes</i> induziert p38-MAPK- und ERK1/2-abhängig die Freisetzung von IL-8 in humanen Endothelzellen	60
4.3	p38-MAPK- und ERK1/2-abhängige Signalwege sind teilweise in die <i>Listeria monocytogenes</i> -induzierte Freisetzung von Zytokinen involviert	62

INHALTSVERZEICHNIS

4.4	<i>Listeria monocytogenes</i> bewirkt die Phosphorylierung und Azetylierung an Histon H3 sowie die Azetylierung an Histon H4	64
4.5	Die Inhibition von HDAC erhöht die durch <i>Listeria monocytogenes</i> hervorgerufene IL-8-Sekretion nicht jedoch die IFN γ -Produktion	65
4.6	<i>Listeria monocytogenes</i> bewirkt spezifisch Histonmodifikationen des <i>il8</i> -Genpromotors.....	66
4.7	Die <i>L. monocytogenes</i> -Infektion führt zu p38-MAPK- und ERK-abhängiger Histonmodifikation des <i>il8</i> -Promotors nicht jedoch des <i>ifnγ</i> -Promotors	67
4.8	<i>Listeria monocytogenes</i> reguliert p38-MAPK- und ERK1/2-abhängig die Bindung von Histon-modifizierenden Enzymen.....	69
4.9	<i>L. monocytogenes</i> induziert Rac1-abhängig die Freisetzung von IL-8	70
4.10	<i>L. monocytogenes</i> -bedingte Histonmodifikationen des <i>il8</i> -Genpromotors sind Rac1-abhängig	71
4.11	<i>Chlamydomphila pneumoniae</i> induziert abhängig von Rho-GTPasen die Zytokinfreisetzung in humanen Endothelzellen	72
4.12	Simvastatin und NSC23766 reduzieren konzentrationsabhängig die durch <i>Chlamydomphila pneumoniae</i> induzierte IL-8-Freisetzung	75
4.13	<i>Chlamydomphila pneumoniae</i> bewirkt zeitabhängig Modifikationen am Histon H3 und H4	76
4.14	Die Inhibition von HDAC mittels TSA erhöht die durch <i>Chlamydomphila pneumoniae</i> hervorgerufene IL-6-, G-CSF-, IL-8-, Mip-1 β -, GM-CSF- und IFN γ -Freisetzung.....	78
4.15	Die Inhibition von HDAC mittels SAHA erhöht die <i>C. pneumoniae</i> -induzierte IL-8-Sekretion in HUVEC und HAEC	79
4.16	<i>Chlamydomphila pneumoniae</i> bewirkt zeitabhängig Histonmodifikationen des <i>il8</i> -Genpromotors sowie die Rekrutierung von RNA Polymerase II und p65 an den <i>il8</i> -Genpromotor	81
4.17	Inhibition von Rac1 und Rho hemmt spezifisch die durch <i>C. pneumoniae</i> hervorgerufenen Histonmodifikationen	82
5	DISKUSSION	85
5.1	Diskussion der Ergebnisse	85

INHALTSVERZEICHNIS

5.1.1	Induktion verschiedener Zytokine nach Infektion mit <i>L. monocytogenes</i> und <i>C. pneumoniae</i>	85
5.1.2	Histonmodifikationen hervorgerufen durch TSA und SAHA führen zu Veränderungen der Erreger-bedingten Zytokinexpression.....	88
5.1.3	Histonmodifikationen des <i>il8</i> -Genpromotors nach <i>L. monocytogenes</i> - und <i>C. pneumoniae</i> -Infektion	91
5.1.4	MAPK-abhängige Histonmodifikationen am <i>il8</i> -Genpromotor nach <i>L. monocytogenes</i> -Infektion	93
5.1.5	Bedeutung der Rho-GTPasen für die <i>C. pneumoniae</i> - und <i>L. monocytogenes</i> -bedingten Histonmodifikationen des <i>il8</i> -Genpromotors.....	97
5.1.6	Zytokininduktion und Histonmodifikationen im Zusammenhang mit Intrazellularität und Virulenzfaktoren von <i>L. monocytogenes</i> und <i>C. pneumoniae</i>	100
5.2	Diskussion der eingesetzten Materialien und Methoden.....	103
5.2.1	Auswahl der Zellen	103
5.2.2	Auswahl der Bakterien.....	104
5.2.3	Chromatin-Immünpräzipitation	105
5.3	Ausblick	106
6	ZUSAMMENFASSUNG.....	110
7	SUMMARY	112
8	LITERATURVERZEICHNIS.....	114
9	ANHANG	134
9.1	Publikationsverzeichnis	134
10	DANKSAGUNG.....	136
11	LEBENS LAUF.....	137
12	EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG	138