



**Jeanine Rismondo**

2007–2012 Biologiestudium an der Universität Halle-Wittenberg. 2012–2016 Promotion im Fachgebiet 11 des Robert Koch-Instituts in Wernigerode bei PD Dr. S. Halbedel. Seit 2016 Postdoktorandin am Imperial College London, UK, bei Prof. Dr. A. Gründling.

DOI: 10.1007/s12268-017-0808-2  
© Springer-Verlag 2017

■ Listeriose wird durch das intrazelluläre humanpathogene Bakterium *Listeria monocytogenes* ausgelöst. Trotz Behandlung von *Listeria*-Infektionen mit hohen Dosen von  $\beta$ -Laktam-Antibiotika liegt die Sterblichkeitsrate bei bis zu 30 Prozent. Daher ist es wichtig, neue Angriffspunkte für Antibiotika zu finden.

Zellteilungsproteine eignen sich gut als Antibiotika-Targets, da sie in der Regel essenziell für das Wachstum von Bakterien sind. GpsB wurde 2008 als spätes Zellteilungsprotein Gram-positiver Bakterien beschrieben. Untersuchungen brachten GpsB bereits in Verbindung mit der Zellwandsynthese; die genaue Funktion dieses Proteins ist jedoch nicht bekannt. Den Einbau von Zellwandbausteinen und die Quervernetzung der Zellwand führen Penicillin-bindende Proteine (PBP) aus. *L. monocytogenes* besitzt fünf dieser PBPs, PBP A1–2 und PBP B1–3, die bislang kaum untersucht sind. Um den Einfluss von GpsB auf die Zellwandsynthese zu verstehen, bestimmten wir zunächst die Funktion der einzelnen Penicillin-bindenden Proteine. Mikroskopische Untersuchungen von PBP-Mutanten zeigen, dass PBP B1 für das Wachstum wichtig ist, während PBP B2 essenziell für die Zellteilung ist. Die Deletion von PBP A2

## VAAM-Promotionspreis 2017

# Zusammenspiel von Zellteilungsprotein GpsB und Zellwandsynthese

JEANINE RISMONDO

FACHGEBIET 11: BAKTERIELLE DARMPATHOGENE ERREGER UND LEGIONELLEN,  
ROBERT KOCH-INSTITUT WERNIGERODE

oder PBP B3 verursacht hingegen keine phänotypischen Veränderungen. Diese Beobachtungen deuten darauf hin, dass die PBPs von *L. monocytogenes* sowohl unterschiedliche als auch überlappende Funktionen haben [1].

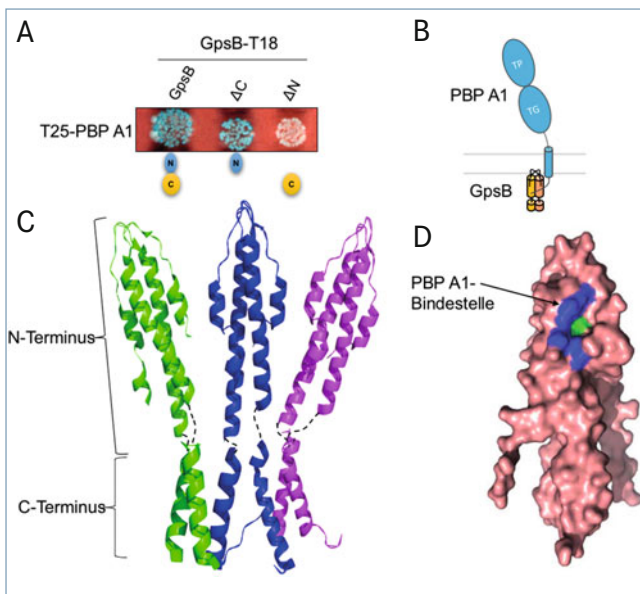
*L. monocytogenes* besitzt zwei bifunktionale PBPs, PBP A1 und PBP A2, die sowohl eine Transglykosylase- als auch eine Transpeptidasedomäne besitzen. Die Transglykosylase katalysiert den Einbau von Zellwandbausteinen in den wachsenden Glykanstrang, während die Transpeptidase für die Quervernetzung der Glykanstränge sorgt. Die Deletion von PBP A1 oder PBP A2 hat nur geringfügige Auswirkungen auf Wachstum und Zellteilung. Die gleichzeitige Deletion beider bifunktionaler PBPs in *L. monocytogenes* ist hingegen letal [1].

In *Bacterial-two-hybrid*-Assays wurde eine Interaktion zwischen PBP A1 und dem Zellteilungsprotein GpsB nachgewiesen (**Abb. 1A**), und zwar zwischen dem zytoplasmatisch lokalisierten N-Terminus von PBP A1 und dem N-Terminus von GpsB (**Abb. 1B**).

In Kooperation mit Richard Lewis und Robert Cleverley gelang es, die Kristallstruktur der N- und C-Termini von GpsB getrennt

voneinander zu bestimmen (**Abb. 1C**). Darüber hinaus wurde nachgewiesen, dass das GpsB-Protein als Hexamer in Lösung vorliegt [2]. Mit zielgerichteter Mutagenese von Aminosäuren des GpsB-Proteins wurde die PBP-A1-Bindestelle identifiziert (**Abb. 1D**). Weitere Untersuchungen zeigten, dass die Aktivität von PBP A1 in der  $\Delta$ gpsB-Mutante stark beeinträchtigt ist und es seine Funktion nicht mehr ausüben kann. Dies wird vor allem dadurch deutlich, dass PBP A2 in der Abwesenheit von GpsB lebensnotwendig wird [2].

Die  $\Delta$ gpsB-Mutante wächst nicht bei 42 °C, bildet jedoch spontane Suppressoren. Die Analyse verschiedener Suppressoren ergab, dass der  $\Delta$ gpsB-Phänotyp durch die Deletion von *murZ* aufgehoben werden kann, einer UDP-N-Acetylglukosamin-1-carboxyvinyltransferase, die den ersten Schritt der Zellwandsynthese katalysiert. Diese Deletion führt auch zur Anhäufung des MurA-Proteins, einer weiteren UDP-N-Acetylglukosamin-1-carboxyvinyltransferase. Die Überproduktion von MurA reicht sogar aus, um den  $\Delta$ gpsB-Phänotyp aufzuheben [3]. Die Analyse von Suppressoren bestätigte somit die Verbindung zwischen GpsB und der Zellwandsynthese. GpsB trägt demnach zum effizienten Ablauf der Zellwandsynthese in Gram-positiven Bakterien bei. ■



◀ **Abb. 1:** Interaktion zwischen GpsB und PBP A1. **A**, Nachweis der GpsB-PBP-A1-Interaktion im *Bacterial-two-hybrid*-Assay. Bei  $\Delta$ C/N wurde der C- bzw. N-Terminus von GpsB entfernt. **B**, Modell der GpsB-PBP-A1-Interaktion. TG: Transglykosylase; TP: Transpeptidase. **C**, Struktur des GpsB-Hexamers. **D**, Darstellung der Oberfläche des N-Terminus von GpsB. Die Aminosäuren, die für die Selbstinteraktion von GpsB oder die Bindung von PBP A1 notwendig sind, sind grün bzw. blau unterlegt.

## Literatur

- [1] Rismondo J, Möller L, Aldridge C et al. (2015) Discrete and overlapping functions of peptidoglycan synthases in growth, cell division and virulence of *Listeria monocytogenes*. *Mol Microbiol* 95:332–351
- [2] Rismondo J, Cleverley RM, Lane HV et al. (2016) Structure of the bacterial cell division determinant GpsB and its interaction with penicillin-binding proteins. *Mol Microbiol* 99:978–998
- [3] Rismondo J, Bender JK, Halbedel S (2016) Suppressor mutations linking GpsB with the first committed step of the peptidoglycan biosynthesis in *Listeria monocytogenes*. *J Bacteriol* 199:pii:e00393-16

## Korrespondenzadresse:

Dr. Jeanine Rismondo  
Imperial College London  
Flowers Building  
South Kensington Campus  
Exhibition Road, SW7 2AZ, UK-London  
Tel.: +44-(0)20-75943094  
j.rismondo@imperial.ac.uk