

Clostridientoxine in neuem Licht

Autokatalytische Spaltung aktiviert Toxin B aus *Clostridium difficile*

Durchfälle bis hin zur pseudomembranösen Colitis sind häufige Komplikationen bei einer Antibiotikatherapie. Der Grund: Die Antibiose bringt die natürliche Darmflora aus dem Gleichgewicht, so dass schädliche Keime wie *Clostridium difficile* die Oberhand gewinnen.

Diese Bakterien produzieren toxische Proteine. Sie bestehen aus einer langen Polypeptidkette, die drei funktionell unterschiedliche Abschnitte aufweist: Das carboxyterminale Ende bindet an die Membran der Wirtszelle, der mittlere hydrophobe Bereich ist am Transport des Toxins durch die Zellmembran beteiligt und im Aminoterminus verbirgt sich ein Enzym, das für die schädliche Wirkung verantwortlich ist. Durch eine Spaltung des Toxins wird es freigesetzt und aktiviert.

Bisher vermutete man, dass eine Aspartatprotease in der Wirtszelle, die Spaltung der Toxine bewerkstelligt. Christoph von Eichel-Streiber, Universität Mainz und Mitinhaber der Mainzer tgcBIOMICS, konnte gemeinsam mit seinen Mitarbeitern diese Hypothese widerlegen und einen autokatalytischen Weg für die Spaltung von Toxin B aus *C. difficile* nachweisen [Nature 2007, 446, 415-419]. Ihre experimentelle Vorgehensweise ist in Abb.1 dargestellt.

Toxin B bindet an einen Rezeptor auf der Zellmembran und gelangt via Endozytose in die Wirtszelle. Der saure pH in den Endosomen sorgt für eine Konformationsänderung der Polypeptidkette. Daraufhin durchdringt die hydrophobe Domäne des Toxins die Endosomenmembran und schiebt dabei die katalytische Domäne ins Zytosol.

Dort bindet zelluläres Inositolphosphat an das Toxin und aktiviert über eine weitere Konformationsänderung die intrinsische Protease. Die autokatalytische Spaltung des Proteins setzt die aktive Glukosyltransferase aus dem Toxin frei, die zelluläre GTPasen der Rho/Rac-Familie (kleine GTP-bindende Proteine, die am Aufbau des Zytoskeletts beteiligt sind) glykosyliert und sie dadurch inaktiviert (siehe Abb. 2). Dies führt schließlich zur Zerstörung des Zytoskeletts und zum Tod der Wirtszelle.

((Skizze für Abb.1, könnte man hier vielleicht ein Foto von einem echten Elektrophoresegel einbauen?))

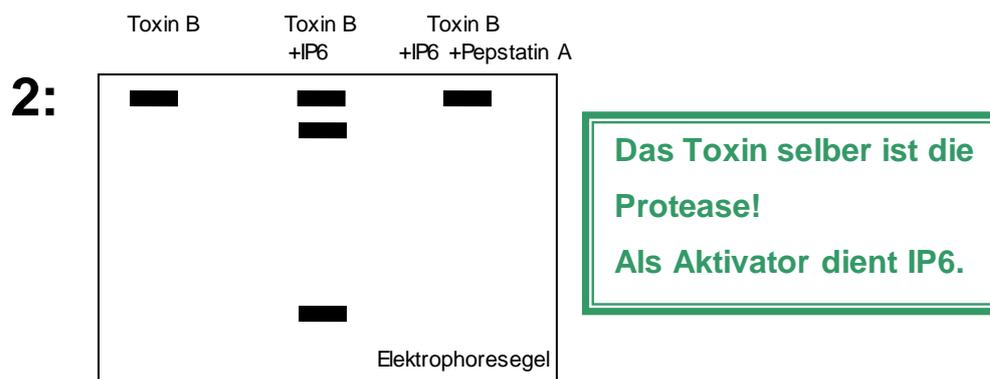
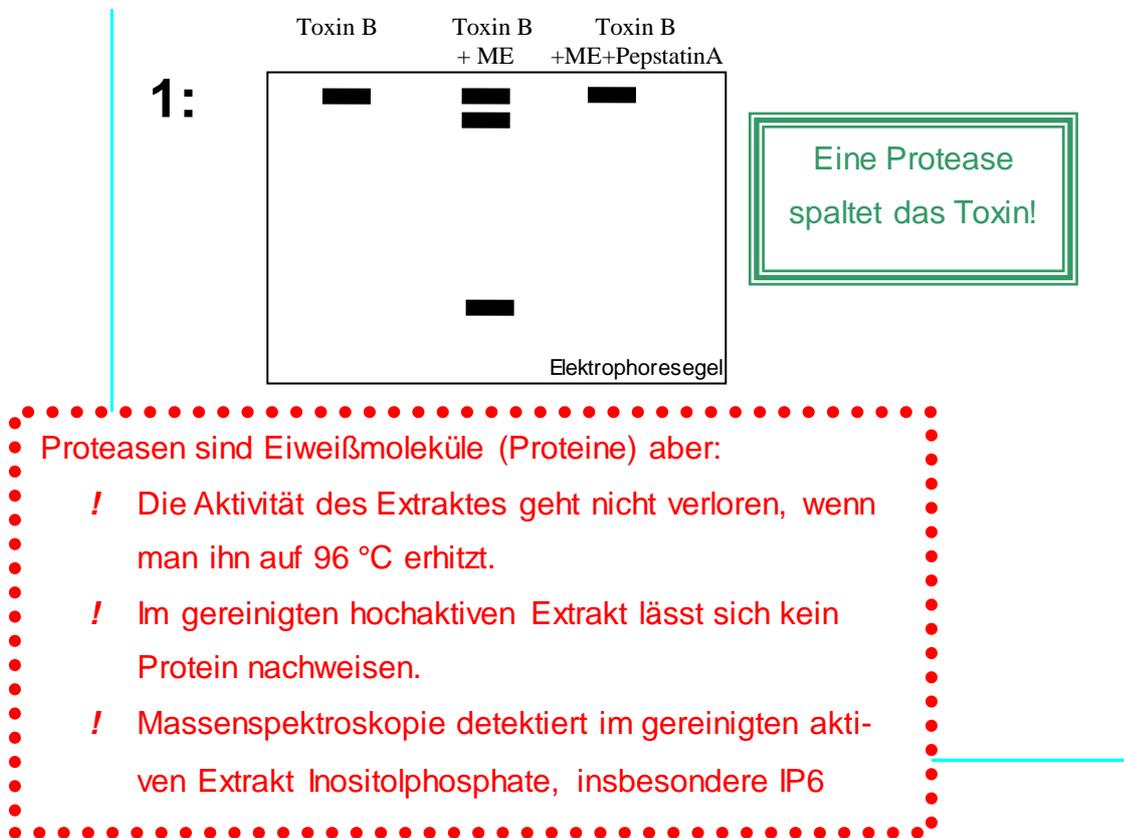


Abb 1. Experimente zum Nachweis des autokatalytischen Mechanismus bei der Aktivierung von Toxin B aus Clostridium difficile:

1: Ein Extrakt aus Milzzellen aktiviert die Spaltung, wie eine Elektrophorese der Reaktionsprodukte zeigt. Der Proteaseinhibitor Pepstatin hemmt die Protease, die das Toxin in seine aktiven Fragmente zerlegt. Im Widerspruch dazu steht die Tatsache,

dass im aktiven Extrakt kein Protein nachweisbar ist, er enthält aber Inositolphosphat.

2: Inositolphosphat aktiviert die Spaltung des Toxins, die sich wiederum durch Zugabe von Pepstatin A hemmen lässt, das Toxin muss also eine intrinsische Proteaseaktivität enthalten.

Abb. 2 Rezeptorvermittelte Endozytose und proteolytische Spaltung von Toxin B aus *Clostridium difficile*. ((Bild aus Nature-Paper nachzeichnen))