

---

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie  
(Prof. Dr. med. U. Groß)  
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

**Assoziation der *Campylobacter jejuni* ssp. *jejuni*  
Chemotaxisrezeptorgene mit Multilokussequenztypen  
und Isolationsquellen**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizinischen Fakultät der  
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

**Norah Lynn-Anne Emrich, geb. Mund**

aus

Mutambara / Zimbabwe

Göttingen 2021

---

Dekan:

Prof. Dr. med. W. Brück

Referent:

Priv. Doz. Dr. med. habil. A. E. Zautner

Ko-Referent/in:

Datum der mündlichen Prüfung:

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit dem Titel "Assoziation der *Campylobacter jejuni* ssp. *jejuni* Chemotaxisrezeptorgene mit Multilokussequenztypen und Isolationsquellen" eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Göttingen, den ..... (Unterschrift)

Die Daten, auf denen die vorliegende Arbeit basiert, wurden publiziert:

Mund NLA, Masanta WO, Goldschmidt AM, Lugert R, Groß U, Zautner AE (2016): Association of *Campylobacter jejuni* ssp. *jejuni* chemotaxis receptor genes with multilocus sequence types and source of isolation. Eur J Microbiol Immunol 6, 162-177

## **Inhaltsverzeichnis**

Abkürzungsverzeichnis.....	II
<b>1 Einleitung.....</b>	<b>1</b>
1.1 Geschichtlicher Hintergrund .....	1
1.2 Epidemiologische Verteilung .....	1
1.3 Morphologie und Wachstumsbedingungen des <i>Campylobacter jejuni</i> .....	2
1.4 Campylobacteriose .....	4
1.5 Pathogenität und Virulenzfaktoren.....	6
1.6 Zielsetzung der Dissertation .....	18
<b>2 Material und Methoden .....</b>	<b>19</b>
2.1 Material .....	19
2.2 Methoden.....	25
<b>3 Ergebnisse .....</b>	<b>34</b>
3.1 Überblick .....	34
3.2 Gensequenzunterschiede der Rezeptorgene <i>tlp4</i> und <i>tlp12</i> .....	35
3.3 Gensequenzunterschiede der Rezeptorgene <i>tlp11</i> und <i>tlp13</i> .....	36
3.4 Multipler Sequenzabgleich von <i>tlp2</i> , <i>tlp3</i> , <i>tlp4</i> , <i>tlp11</i> , <i>tlp12</i> und <i>tlp13</i> .....	38
3.5 Das intakte <i>tlp5</i> -Gen und das <i>tlp5</i> -Pseudogen .....	44
3.6 Erfassung von Chemorezeptorgenen in phylogenetisch unterschiedlichen <i>C. jejuni</i> -Erregerstämmen mittels PCR.....	45
<b>4 Diskussion .....</b>	<b>62</b>
4.1 Gruppe A-Chemotaxisrezeptorgene .....	62
4.2 Gruppe B- und C-Chemotaxisrezeptorgene .....	65
4.3 Ergebnisse dieser Studie im Kontext der aktuellen Literatur.....	66
<b>5 Zusammenfassung.....</b>	<b>71</b>
<b>6 Anhang .....</b>	<b>72</b>
<b>7 Literaturverzeichnis.....</b>	<b>76</b>

## Abkürzungsverzeichnis

AE-Puffer	Elutionspuffer
AL-Puffer	Präparationspuffer
<i>ansB</i>	periplasmatische Asparaginase mit akzessorischem <i>sec</i> -Signal (Gen)
<i>aspA</i>	Aspartat-Ammonium-Lyase
ATCC	American Type Culture Collection
ATL-Puffer	Gewebelysepuffer
ATP	Adenosintriphosphat
AW1-/AW2-Puffer	Waschpuffer
BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung
BHI	Brain-Heart-Infusion
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
<i>C.</i>	<i>Campylobacter</i>
CadF	<i>Campylobacter</i> adhesion to fibronectin
CC	klonaler Komplex (eng. clonal complex)
CcaA	<i>Campylobacter</i> Chemorezeptor für Aspartat A
CcmL	<i>Campylobacter</i> Chemorezeptor für multiple Liganden
Cdc42	Cell division control protein 42 homolog
CDS	kodierende Sequenz
CDT	cytotoletal-distendierendes Toxin
Cia	<i>Campylobacter</i> -Invasions-Antigen
CPS	Kapselpolysaccharid-Synthese
<i>cj...</i>	Gen-Nummerierung basierend auf dem Genom des <i>Campylobacter jejuni</i> -Stamms NCTC 11168
ddNTP	Didesoxynukleosidtriphosphat (ddATP, ddCTP, ddGTP, ddTTP)
dNTP	desoxy-Nukleosidtriphosphat (dATP, dCTP, dGTP, dTTP)
DNS/DNA	Desoxyribonukleinsäure

<i>dmsA</i>	Dimethylsulfoxid-Oxidoreduktase-Untereinheit A (Gen)
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
FC	Focal Complexes
<i>fucP</i>	L-Fucose-Permease (Gen)
GBS	Guillain-Barré-Syndrom
<i>ggt</i>	$\gamma$ -Glutamyl-Transpeptidase (Gen)
<i>glnA</i>	Glutamin-Synthetase
<i>gltA</i>	Citrat-Synthetase
<i>glyA</i>	Serin-Hydroxy-Methyltransferase
<i>H.</i>	<i>Helicobacter</i>
<i>iam</i>	invasions-assoziiertes Marker
IL-8	Interleukin-8
LOS	Lipooligosaccharid
MCP	methyl-akzeptierende Chemotaxisproteine
MLST	<i>multilocus sequence typing</i>
MM	Mastermix
NCBI	National Center for Biotechnology Information
ORF	open reading frame
PAS-Domäne	Per-Arnt-Sim-Domäne
PCR	<i>polymerase chain reaction</i>
<i>pgm</i>	Phosphoglycerat-Mutase
Rac1	Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1
REC-Domäne	Empfänger-Domäne
Rho-GTPase	Ras homologue
RKI	Robert Koch-Institut
RNS/RNA	Ribonukleinsäure
RR	Rückmeldungsregulator
<i>S.</i>	<i>Salmonella</i>
SAM	S-Adenosylmethionin
SNP	Einzelnukleotidpolymorphismen
ssp.	Subspezies
ST	Sequenztyp
TAE-Puffer	Tris-Acetat-EDTA-Puffer

<i>Taq</i>	<i>Thermus aquaticus</i>
<i>tat</i>	Transkriptionsinitiator-Proteingen
<i>tkt</i>	Transketolase
<i>tlp</i>	<i>transducer-like</i> -Proteingen
<i>tlp7<sub>m+c</sub></i>	<i>transducer-like</i> -Proteingen 7 (m-Membran, c-cytoplasmatisch)
Tris	Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan
<i>uncA</i>	ATP-Synthase
UPGMA	<i>unweighted-pair Group Method with Arithmetic Mean</i>
(v/v) %	(v/v) entspricht Volumenprozent: Anteilsvolumen in Gesamtvolumen



# 1 Einleitung

Wie es die weltweit hohen Prävalenz- und Inzidenzraten der Campylobacteriose und der damit assoziierten postinfektiösen Folgeerkrankungen anzeigen, stellt die effektive Kontrolle dieses Bakteriums mittels Stallhygiene und lebensmittelhygienischer Maßnahmen weiterhin ein signifikantes Problem dar. Des Weiteren sind die Virulenzfaktoren und die Wirtstropismusedeterminanten dieses Bakteriums noch weitgehend unverstanden.

Die Chemotaxis und die Chemorezeptoren sind bei verschiedenen mikrobiellen Spezies als Determinanten des Wirtszelltropismus und auch als Virulenzfaktoren beschrieben worden. Das Ziel dieser Arbeit besteht darin, das konzertierte Agieren der Chemorezeptoren bei *C. jejuni* (*Campylobacter jejuni*) genauer zu untersuchen. Hierdurch soll ein tieferer Einblick in die Verteilung der methyl-akzeptierenden Chemotaxisrezeptoren und deren Zusammenwirken gewonnen werden, insbesondere im Hinblick auf die Assoziation mit der Phylogenie und der Isolationsquelle, um stammspezifische Unterschiede im Wirtstropismus zu demonstrieren.

## 1.1 Geschichtlicher Hintergrund

Lange bevor im Jahre 1968 durch Dekeyser *et al.* (1972) *Campylobacter* erstmals aus Stuhl kultiviert werden konnte, wurden spiralgewundene Bakterien in Därmen von durch Gastroenteritis verstorbenen Kindern nachgewiesen. Dies wurde bereits 1886 von dem deutschen Arzt Theodor Escherich im *Münchener Medizinischen Wochenblatt* veröffentlicht (Escherich 1886). Anfang des 21. Jahrhunderts wurde das Genom von *C. jejuni* von Parkill *et al.* (2000) vollständig sequenziert.

## 1.2 Epidemiologische Verteilung

Die durch die Gattung *Campylobacter* spp. ausgelöste Campylobacteriose ist die häufigste bakterielle Gastroenteritis verursachende Erkrankung weltweit. In Industrienationen sind Infektionen mit *Campylobacter jejuni* über zwei- bis siebenmal so häufig wie Infektionen mit *Salmonella* spp., *Shigella* spp. oder *Escherichia coli* (Slutsker *et al.* 1997; Blaser *et al.* 1983). Im März 2019 wurde vom Robert Koch-Institut (RKI) weiterhin die Campylobacteriose als führende bakterielle Enteritisursache in Deutschland identifiziert (RKI 2019). Im Gegensatz zu Salmonellosen und Yersiniosen hat die Zahl der Campylobacteriosen seit 2001 deutlich zugenommen. Die *Campylobacter*-Enteritis stellt in Deutschland direkt nach der Norovirus-Gastroenteritis die zweithäufigste Ursache für

Durchfallerkrankungen überhaupt dar, nach Influenza und Norovirus-Gastroenteritis die dritthäufigste meldepflichtige Erkrankung sowie die häufigste bakterielle meldepflichtige Krankheit dar. Für das Jahr 2018 wurden 67.872 gemeldete Fälle einer *Campylobacter*-Enteritis in Deutschland registriert. Die Fallzahl blieb seit 2015 weitgehend konstant. Der Inzidenzquotient männlich/weiblich für das Jahr 2018 betrug 1,2. Von den 67.872 gemeldeten *Campylobacter*-Enteritisfällen wurden 13.971 (23%) Fälle hospitalisiert (RKI 2019). *C. jejuni* ruft besonders in zwei Altersgruppen Erkrankungen hervor; die zwei Erkrankungsgipfel schließen Kinder unter fünf Jahren sowie junge Erwachsene im Alter von 20-29 Jahren ein (RKI 2018). Eine saisonale Verteilung der Krankheitsausbrüche ist beobachtbar, so sind von den Monaten Mai bis September die Krankheitsraten fast doppelt so hoch wie in den übrigen Monaten (RKI 2019). In Entwicklungsländern ist die Campylobacteriose bei Kleinkindern unter zwei Jahren hyperendemisch, die Infektion mit *C. jejuni* verläuft jedoch im Gegensatz zu industrialisierten Nationen häufig asymptomatisch. Es wird angenommen, dass hierbei die auf stetiger *Campylobacter*-Exposition beruhende, von Kindesalter auf erworbene Immunreaktion schützend wirkt (Newell 2002). Auch die saisonale Verteilung ist in Entwicklungsländern nicht vorhanden (Allos 2001). Für die Gattung *Campylobacter* spp. sind über 30 verschiedene Unterarten bekannt, wovon jedoch *C. jejuni* und *C. coli* die wichtigsten humanpathogenen Erreger darstellen (RKI 2018). Eine Infektion des Menschen mit *C. jejuni* ist grötenteils nahrungsmittelbedingt (s. Kap. 1.4.1). Die direkte Übertragung von Mensch zu Mensch stellt eine Seltenheit dar, ist jedoch aufgrund der geringen krankheitsauslösenden Keimdosis von  $\geq 500$  Keimen vor allem bei Kleinkindern relevant. Eine Ausnahme stellt die Infektion mit *C. fetus* dar. Hierbei ist eine maternale Übertragung auf den Feten prä- oder perinatal möglich, welche in einem Abort, einer Meningitis oder einer Sepsis des Neugeborenen resultieren kann (RKI 2018).

### **1.3 Morphologie und Wachstumsbedingungen des *Campylobacter jejuni***

*Campylobacter jejuni* ist der Klasse der Epsilonproteobakterien zugehörig und der Familie der Campylobacteriaceae (Vandamme und deLey 1991). Diese Bakterien sind Gram-negativ, Oxidase-positiv und typischerweise s-förmig oder spiralig gewunden, besitzen eine Länge von 0,5-5  $\mu\text{m}$  und eine Breite von 0,2-0,5  $\mu\text{m}$ . Das Wort *Campylobacter* stammt aus dem Altgriechischen und bedeutet so viel wie „krummer Stab“ (Butzler und Skirrow 1979). Das Bakterium wächst bevorzugt unter thermophilen Konditionen bei

42-43°C (Penner 1988). Fällt die Temperatur unter 30°C, so vermehrt es sich nicht weiter. *C. jejuni* wächst optimal in einer mikroaerophilen und kapnophilen Umgebung mit 5% Sauerstoff und 3-5% Kohlenstoffdioxid (Park 2002).

Bei dem Großteil aller mobilen Bakterien ist auf der Zelloberfläche ein Flagellum in Form eines langen, fadenähnlichen Anhangs zu sehen. Das Flagellum ist ein prokaryontischer Bewegungsapparat, welcher verschiedenste Formen annehmen kann: von einfachen bis mehrfachen Geißeln bis hin zur peritrichen Begeißelung (Lux und Shi 2002). Die Gattung *Campylobacter* spp. ist in der Regel bipolar begeißelt, selten unipolar. Dies bewirkt die charakteristische korkenzieherartige Fortbewegung (Butzler und Skirrow 1979).

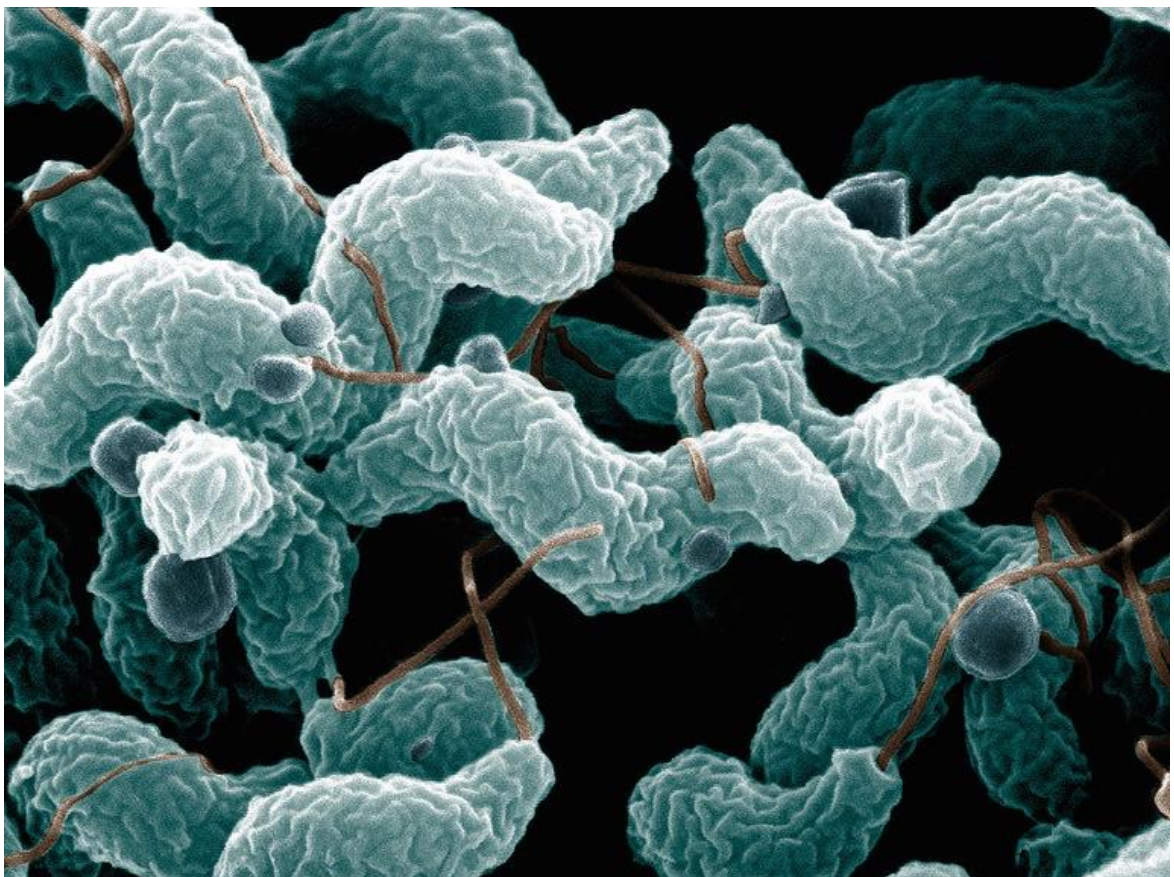


Abb. 1: Elektronenmikroskopische Darstellung von *Campylobacter jejuni* (de Wood *et al.* 2008)

## 1.4 Campylobacteriose

### 1.4.1 Klinik der *Campylobacter*-Enteritis

Die Inkubationszeit von *C. jejuni* beträgt in der Regel zwei bis fünf Tage, selten bis zu elf Tage (Skirrow 1977; Blaser 1978). Die Übertragung dieses Bakteriums ist hauptsächlich durch die Aufnahme unzureichend erhitzter Nahrungsmittel gekennzeichnet, bzw. durch Kreuzkontaminationen von am gleichen Arbeitsplatz zubereiteten meist rohen Lebensmitteln wie beispielsweise das Zubereiten von Salat neben oder nach rohem Hähnchenfleisch. Da *C. jejuni* ssp. *jejuni* eine große Bandbreite an Wirten besitzt - unter anderem sind hier Wildvögel zu nennen sowie diverse Nutztiere wie Geflügel, Rinder, Schafe und selten Schweine - kann der Verzehr von kontaminiertem Fleisch dieser Tiere eine Infektion mit *C. jejuni* hervorrufen (Deming *et al.* 1987; Butzler 2004; BfR 2019). Des Weiteren ist es als Verunreinigung in Milch und Trinkwasser zu finden. Jedoch sind die meisten Studien zu dem Schluss gekommen, dass Geflügel der natürliche Wirt von *C. jejuni* ssp. *jejuni* ist und infolgedessen Hauptursache für die Übertragung auf den Menschen und andere Nutztiere darstellt (Hermans *et al.* 2012).

Die häufigsten klinischen Aspekte der durch *Campylobacter* spp. verursachten Gastroenteritis sind Fieber, abdominelle Schmerzen und blutige Durchfälle. Neben diesen Hauptsymptomen sind weitere Symptome wie Unwohlsein, Kopfschmerzen und Muskelschwäche bis hin zum Rigor und Delirium möglich (Skirrow 1977; Blaser *et al.* 1978; Karmali und Fleming 1979). Nur selten kommt es zu Erbrechen und Dehydratation, tritt dies jedoch ein, kann es zu einem hochakuten Verlauf kommen. Eine prospektive Studie bei kanadischen Kindern zeigt, dass in 90% der Fälle bei Patienten wenige Tage nach Beginn der ersten Symptome Blut im Stuhl nachweisbar ist (Karmali und Fleming 1979). Der abdominelle Schmerz ist typischerweise periumbilikal bis epigastrisch lokalisiert und von intermittierendem bis kolikartigem Charakter (Skirrow 1977; Karmali und Fleming 1979). In den meisten Fällen ist die Campylobacteriose eine selbstlimitierende Krankheit, die in der Regel bis zu einer Woche anhält, selten kann die Dauer bis zu sechs Wochen betragen (Karmali und Fleming 1979). Vereinzelt ist beobachtbar, dass die durch *Campylobacter* spp. hervorgerufene Enteritis länger persistiert oder Rückfälle auftreten (Middlekamp und Wolf 1961; Wheeler und Borchers 1961; Cadranel *et al.* 1973; Skirrow 1977). Die Überwachung von Flüssigkeits- und Elektrolythaushalt stellt den therapeutischen Eckpfeiler dar. Der Einsatz von Antibiotika sollte spärlich ausfallen und gut abgewogen werden, da die Campylobacteriose in den meisten Fällen selbstlimitierend ist. Lediglich bei Immun-

supprimierten und schwangeren Frauen sowie bei über einer Woche anhaltender Erkrankung, bei sehr hohem Fieber und blutigem Stuhlgang sollte unter Beachtung der Resistenztestung eine antibiotische Behandlung mit Azithromycin oder Fluorchinolonen in Erwägung gezogen werden (Allos 2001; RKI 2018).

#### **1.4.2 Postinfektiöse Folgeerkrankungen**

Im Rahmen der Campylobacteriose können diverse infektiöse oder postinfektiöse Folgen auftreten (Allos 1997; Zautner *et al.* 2014). Durch direkte Verbreitung kann es zu lokalen Komplikationen wie Cholezystitis, Pankreatitis, Peritonitis und massiven gastrointestinalen Blutungen kommen. Extraabdominelle Krankheitsfolgen wie Meningitis, Osteomyelitis und reaktive Arthritis treten nur selten auf; in weniger als einem Prozent der Fälle kommt es aufgrund von *C. jejuni* zu einer Bakteriämie (Allos 2001).

Die wichtigste postinfektiöse Komplikation stellt das Guillain-Barré-Syndrom (GBS) dar. Dies ist eine akute neurologische Erkrankung, die durch aufsteigende Paralysen gekennzeichnet ist, welche zu einer Lähmung der Atemmuskulatur und somit bis zum Tod führen können. Mit ca. 42% entstehen die meisten der GBS-Fälle aufgrund von vorhergehenden Campylobacteriosen. Dabei stellt diese postinfektiöse Folgeerkrankung insgesamt eine seltene Komplikation dar, in weniger als einem Fall pro 1.000 durch *Campylobacter* spp. verursachten Enteritiden entsteht ein Guillain-Barré-Syndrom (Allos 1997; Schmidt-Ott *et al.* 2006). Ungefähr 10 bis 21 Tage nach Beginn des Durchfalls entstehen erste neurologische Symptome, die größte gemeldete Differenz beträgt 23 Tage (Pryor *et al.* 1984). Die Häufigkeit des Auftretens eines GBS nach einer Campylobacteriose lässt sich durch molekulares Mimikry zwischen den Lipooligosacchariden (LOS) auf der Zelloberfläche von *C. jejuni* und den Gangliosiden der Ranvierschen Schnürringen der peripheren Nerven des Menschen erklären. Die gebildeten Antikörper greifen nicht nur die Bakterien-Antigene an, sondern ebenso die menschlichen Nervenbahnen. Durch diese verursachte Kreuzreaktion kommt es zu der lebensbedrohlichen Erkrankung (Van Doorn *et al.* 2008). Zurzeit wird angenommen, dass *C. jejuni* auch in der Lage ist chronisch-entzündliche Darmerkrankungen wie Morbus Crohn und Colitis ulcerosa auszulösen, dies wird allerdings noch kontrovers diskutiert (Louwen und Hays 2013). Für das Reizdarmsyndrom jedoch liegen konkretere Studiendaten vor, die nahelegen, dass *C. jejuni* eine der Hauptursachen für das postinfektiöse Reizdarmsyndrom darstellt (Longstreth *et al.* 2006). Eine denkbare Ursache für diese Folgeerkrankung liegt in dem von *C. jejuni* produzierten cytolethal-distendierenden Toxin (CDT) (Dunlop *et al.* 2003).

## 1.5 Pathogenität und Virulenzfaktoren

Über die letzten Jahre wurde eingehend an den Krankheitsmechanismen der *C. jejuni*-Spezies geforscht. Dabei konnte entdeckt werden, dass das Bakterium die Muzinschicht des Gastrointestinaltraktes kolonisiert, worauf Adhärenz an und Invasion in die Wirtszelle erfolgen. Auch konnte herausgefunden werden, dass *C. jejuni* mindestens ein Cytotoxin enthält (Wassenaar und Blaser 1999). Um initial an den richtigen Ort zur Durchführung dieser Mechanismen zu gelangen, besitzt *C. jejuni* einen flagellaren Bewegungsapparat (Yao *et al.* 1994). Das System der Chemotaxis, welches das Bakterium wissen lässt wohin es sich bewegen soll, um zu den bestmöglichen in der Umgebung herrschenden Ressourcen zu gelangen, wird Chemotaxis genannt (Miller *et al.* 2009). Neben den *C. jejuni* zuzuschreibenden Eigenschaften scheinen ebenso die Wirtsfaktoren eine wichtige Rolle für die entstehende Campylobacteriose zu spielen. Von Bedeutung sind hierbei die mikrobiotische Besiedelung des Darmes, die physische Barriere der gastrointestinalen Muzinschicht sowie die unspezifische Immunantwort des Wirtes (Newell 2002).

### 1.5.1 Wirtszelladhäsion und Invasionsmechanismen

#### 1.5.1.1 Flagellarer Bewegungsapparat

Für die Kolonisation des Gastrointestinaltrakts eines Wirtes durch *C. jejuni* ist die Fähigkeit zur Bewegung essentiell. Diese wird mithilfe der monotrich bzw. amphitrich vorkommenden Geißel erreicht. Es konnte gezeigt werden, dass Fehler in der *O*-Glykolisierung des Flagellins zu amotilen Bakterien führen und dementsprechend auch die Adhärenz an und die Invasion in eukaryontische Zellen deutlich vermindert ist (Black *et al.* 1988; Guerry *et al.* 1992). Die Begeißelung stellt eine der wichtigsten und am besten erforschten Virulenzfaktoren von *C. jejuni* dar. So konnten Yao *et al.* bereits 1994 feststellen, dass *flaA*- und *flaB*-Mutanten eine stark reduzierte Virulenz vorweisen. Das liegt wahrscheinlich sowohl an der direkten Beeinflussung des Flagellums als auch an der veränderten Fähigkeit, *Campylobacter*-Invasions-Antigen-B (CiaB) Proteine über flagellare Exportapparate zu sezernieren (Yao *et al.* 1994; Konkel *et al.* 1999; Young *et al.* 1999). Darüber hinaus wurden zwei weitere paraloge Gene entdeckt, die für die Flagellarstruktur von Bedeutung sind, *flaC* (*cj0720c*) und *flaD* (*cj0887c*). Diese kommen ebenfalls in dem Bakterium *S. typhimurium* (*Salmonella typhimurium*) vor. Dahingegen sind einige für die flagellare Regulation codierende Gene, die in *H. pylori* (*Helicobacter pylori*) vorkommen, in *C. jejuni* nicht vorhanden; diese sind *flhCD*, *flgM*, *fliT* und *fliK* (Parkhill *et al.* 2000). Die Re-

gulationsmechanismen der Biosynthese der Geißeln werden von *C. jejuni* unter anderem auch durch Phasenvariation gesteuert. So konnte Hendrixson (2006) zeigen, dass Phasenvariationsmechanismen die Regulatoruntereinheit FlgR des Zwei-Phasen-Systems FlgSR kontrollieren; dieses System besteht neben FlgR ebenfalls aus der Sensoruntereinheit FlgS. Diese wiederum wird durch Verlust bzw. Erhalt von Nukleotiden in Adenin und Thymin von FlgR gesteuert.

#### **1.5.1.2 Adhäsion**

Des Weiteren ist für die Interaktion mit der intestinalen Wirtszelle die Adhäsion ein wichtiger Faktor. Dadurch kann eine Elimination des Bakteriums durch körpereigene Abwehrmechanismen des Wirtes wie Peristaltik oder Strömungen durch Körperflüssigkeiten umgangen werden (Konkel *et al.* 1997). Bei *C. jejuni* gelingt dies im Gegensatz zu vielen anderen Bakterienspezies nicht durch Haftfimbrien, sondern vielmehr durch Oberflächenkomponenten, die imstande sind an extrazelluläre Matrixmoleküle zu binden. Neben anderen Adhäsionsfaktoren stellt sich das Fibronectin-bindende Protein CadF (*Campylobacter* Adhäsion an Fibronectin) als wichtig für die *C. jejuni*-Spezies dar, was sich darin äußert, dass es ubiquitär in allen Erregerstämmen dieser Bakteriengruppe vorhanden ist (Konkel *et al.* 1997) und isogene Defekt-Mutanten ohne intaktes *cadF*-Gen eine deutlich verminderte Zellinvasivität aufweisen (Krause-Gruszczynska *et al.* 2007a). Auch spielt CadF eine Rolle in der Veränderung des Zytoskeletts. Es bindet an den  $\alpha_5\beta_1$ -Integrin-Rezeptor, wodurch eine Clusterbildung von Regulatormolekülen induziert wird, was in der Entstehung von Multiproteinkomplexen resultiert, die auch als „Focal Complexes“ (FCs) bezeichnet werden. Diese agieren als Signalplattformen, die die extrazelluläre Matrix mit der intrazellulären Signalkaskade und mit dem Aktinzytoskelett verbinden. Aufgrund dieser Aktivierung der FCs durch Fibronectin via CadF wird die Reorganisation des Zytoskeletts initiiert, was wiederum für die Motilität, Zellteilung und Phagozytose von Bedeutung ist (Larson *et al.* 2013).

#### **1.5.1.3 Invasion in die eukaryontische Zelle**

Die Internalisierung von *C. jejuni* in die intestinale Wirtszelle wird mittels eines Mikrotubuli-abhängigen Systems durchgeführt (Oelschlaeger *et al.* 1993; Hu und Kopecko 1999).

Dem CadF-Molekül kommt neben der Adhäsion noch eine weitere wichtige Rolle zu: Es triggert eine zur Aktivierung der Rho-GTPasen ("Ras homologue") Rac1 ("Ras-related C3

botulinum toxin substrate 1") und Cdc42 ("Cell division control protein 42 homolog") führende Signalkaskade, womit es zu der Internalisierung von *C. jejuni* in die Wirtszelle kommt (Krause-Gruszczynska *et al.* 2007b).

Bei der vollständigen Genomsequenzierung des Referenzstammes NCTC 11168 konnten Parkhill *et al.* (2000) das erhöhte Vorkommen von hypervariablen Sequenzen in *C. jejuni* nachweisen. Diese Gensequenzen treten vornehmlich gruppiert auf und sind übereinstimmend mit den Clustern für Lipooligosaccharid-Synthese (LOS), Kapselpolysaccharid-Synthese (CPS) und Modifikation des Flagellarapparates.

Glykane stellen einen wichtigen Faktor für die Zell-Zell-Interaktion sowie für die Immunantwort des Wirtes dar (Karlychev *et al.* 2005). So ist auch die Zusammensetzung des LOS ein nicht unerheblicher Invasionsfaktor. Von Parker *et al.* (2005) wurden mittels Polymerase chain reaction (PCR) 19 LOS-Klassen beschrieben: A1/2, B1/2 und C-S. Es kann gezeigt werden, dass Stämme, die ein sialyliertes LOS besitzen, deutlich invasivere Qualitäten aufweisen als nicht-sialylierte LOS-Klassen. Auch für die postinfektiöse Komplikation des Guillain-Barré-Syndroms besteht eine höhere Korrelation mit sialylierten Lipooligosacchariden (Parkhill *et al.* 2000; Louwen *et al.* 2008). Fearnley *et al.* (2008) unterteilen *C. jejuni*-Isolate entsprechend ihrer Invasivität in hyperinvasive (25-mal so invasiv wie der Referenzstamm NCTC 81116), hochinvasive (zehnfache Invasivität in Bezug auf den Referenzstamm) und gering invasive (unter dieser Marke liegende Stämme) Isolate ein. Insgesamt wurden 88% aller getesteten Isolate als gering invasiv eingestuft, nur 1% der Geflügelisolate und 13% der humanen Isolate als hyperinvasiv eingeteilt. Laut Fearnley *et al.* (2008) ist die Mehrzahl der potenten hyperinvasiven Isolate dem MLST-Gencluster CC21 zugehörig, welcher mit der LOS-Klasse C assoziiert ist.

Ein weiterer Genlocus, der hypervariable Sequenzen aufweist, ist der für die Polysaccharidkapsel codierende Genort. Aufgrund von mindestens fünf hypervariablen Genen besteht die Möglichkeit der Variation der Monomerstruktur der CPS zwischen einzelnen *C. jejuni*-Stämmen. Diese Glykane weisen eine hohe molekulare Masse auf und sind ubiquitär vorhanden. Sie zeigen sowohl genetisch als auch biochemisch Ähnlichkeiten zu den CPS anderer gramnegativer Bakterienspezies (Karlyshev *et al.* 2000).

Auch die zwei Formen der Glykosylierung von Proteinen spielen eine Rolle in der Pathogenität von *C. jejuni*. Schon 1989 wurde die Glykosylierung des Flagellums von *C. jejuni* erstmalig beschrieben (Logan *et al.* 1989). Entweder können die Zuckerreste *N*-glykosidisch (an Asparagin) oder *O*-glykosidisch (an Serin bzw. Threonin) gebunden werden. Mittels der *N*-Glykosylierung werden dutzende von Proteinen modifiziert, wohin-



gegen die einzigen Moleküle, die einer *O*-Glykosylierung unterliegen, bisher im Flagellarapparat von *C. jejuni* bekannt sind (Szymanski *et al.* 2003).

Als weiterer Invasivitätsfaktor konnten die sogenannten *Campylobacter*-Invasions-Antigene (Cia) gefunden werden. Es sind bisher acht Untergruppen bekannt, welche von einer molekularen Masse von 12,8 bis 108 kDa variieren: CiaA bis CiaH, wobei CiaB laut Konkel *et al.* (1999) eine besondere und essentielle Rolle zukommt. Es kodiert für Proteine, welche für die effiziente Einschleusung des Bakteriums in das Zytoplasma der eukaryontischen Zelle benötigt werden. Somit besitzt *C. jejuni* ein flagellares Typ-III-homologes Sekretionssystem, welches die Funktion des klassischen Typ-III-Sekretionssystems seiner verwandten, ebenso Gram-negativen Bakterienspezies innehat (Parkhill *et al.* 2000; Fouts *et al.* 2005; Pearson *et al.* 2007).

Carvalho *et al.* postulierten 2001, dass eine DNA-Bande von 1,6 kb signifikant öfter in invasiven Stämmen vorzufinden ist als in nicht-invasiven. Sie bezeichnen es als Invasions-assoziierten Marker (*iam*). In diesem *iam*-Genlocus konnte gezeigt werden, dass der dort vorhandene *Hind*III-Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus größtenteils mit invasiven Stämmen assoziiert ist. Diese Ergebnisse wurden mittels genetischer Fingerprint-Analyse von klinisch auffallenden und somit als invasiv angenommenen Erregerstämmen von *C. jejuni* durchgeführt. Der *iam* ist an der Invasion in intestinale Wirtszellen beteiligt und stellt somit einen wichtigen Faktor in der Pathogenese dar (Carvalho *et al.* 2001).

Der *C. jejuni*-Stamm 81-176, der 1985 eine Diarrhoe-Epidemie verursachte (Korlath *et al.* 1985), ist einer der am besten untersuchten Stämme der mikrobiellen Spezies *C. jejuni* und wird als hochvirulent eingestuft. Die Patienten, welche mit diesem Stamm infiziert waren, wiesen schwerere Krankheitsverläufe auf (Black *et al.* 1988). In diesem Stamm konnten Bacon *et al.* das Vorkommen des zirkulären pVir-Plasmids nachweisen. Die ebenfalls getesteten Mutanten dieses Plasmids wiesen eine stark reduzierte Invasivität auf, wodurch angenommen wird, dass pVir eine Rolle in der Pathogenität von *C. jejuni* spielt. Das pVir-Plasmid kodiert für ein Homolog eines Typ-IV-Sekretionssystems (Bacon *et al.* 2000; Bacon *et al.* 2002). Dieses Sekretionssystem ist an DNA-Export, Proteinsekretion sowie an bakterieller Konjugation beteiligt und ist bisher in diversen Bakterienspezies identifiziert (Covacci *et al.* 1999; Christie und Vogel 2000).

Allerdings zeigen Schmidt-Ott *et al.* (2005), dass lediglich 2% der untersuchten Diarrhoe-verursachenden *C. jejuni*-Stämme das pVir-Plasmid enthalten und die Invasivität nach Plasmidtransfer in zuvor plasmidlose *C. jejuni*-Erregerstämmen nicht ansteigt. Somit stellt pVir keinen essentiellen Faktor in der Pathogenese des *C. jejuni* dar.

### **1.5.2 Das cytoletale-distendierende-Toxin (CDT)**

Aufgrund des klinischen Bildes der Campylobacteriose ging man lange davon aus, dass *C. jejuni* im Besitz von Enterotoxinen ist, wie sie auch für diverse weitere Gastroenteritis auslösende Bakterien identifiziert worden sind (Wassenaar 1997). Dies ließ sich allerdings im Rahmen einer vollständigen Sequenzierung des *C. jejuni*-Genoms des Stammes NCTC 11168 im Jahre 2000 nicht bestätigen (Parkhill *et al.* 2000). In dieser Arbeit von Parkhill *et al.* konnte als einziges typisches Zytotoxin lediglich das cytoletale-distendierende-Toxin (CDT) nachgewiesen werden. Dieses Toxin führt durch Aufbrechen der doppelsträngigen DNA zur Aktivierung der körpereigenen DNA-Reparaturmechanismen und anschließend zum Zellzyklusarrest in der G2/M-Übergangsphase (Whitehouse *et al.* 1998; Heywood *et al.* 2005) und induziert die Freisetzung von Interleukin-8 (IL-8) aus intestinalen Epithelzellen (Hickey *et al.* 2000). Dem folgt die Distension der Wirtszelle im Sinne eines zytopathischen Effekts, was letztendlich im programmierten Zelltod endet (Whitehouse *et al.* 1998; Heywood *et al.* 2005). Das CDT ist aus drei Untereinheiten aufgebaut: CdtA, CdtB und CdtC. Hierbei sind CdtA und CdtC auf der Wirtszellmembran lokalisiert und fungieren als Bindungseinheit an die Wirtszelle. CdtB hingegen wird in die Wirtszelle eingeschleust, wo es weiter in den Zellkern gelangt und seine DNase-Aktivität entfaltet (Karlyshev und Wren 2001; Heywood *et al.* 2005).

### **1.5.3 Tenazität und Umweltresistenz**

*C. jejuni* weist eine geringe Temperatur- und Nährstoffflexibilität auf, wodurch es im Vergleich mit anderen Bakterien, die ernährungsbedingte Gastroenteritiden hervorrufen, eine geringere Fähigkeit besitzt, um externen Stressoren zu trotzen. Jedoch weist es viele adaptive Reaktionen nicht auf, die andere Darmpathogene nutzen. Zum einen benötigt es durch seine Mikroaerophilie eine speziell zusammengesetzte Atmosphäre, zum anderen fehlt dem Bakterium das Schrittmacherenzym der Glykolyse, die Phosphofruktokinase (Parkhill *et al.* 2000). Somit kann es mit Ausnahme von einigen Stämmen, die Fucose metabolisieren können, keine Kohlenhydrate verstoffwechseln und ist damit auf freie Amino- und Ketosäuren angewiesen (Lee und Newell 2006). Die Multidrug-Efflux-Pumpe CmeABC ist bei der Neutralisierung vor Stressoren wie Gallensalzen, Schwermetallen und antibiotischen Substanzen beteiligt (Lin *et al.* 2002), ihre Aktivität verleiht der Bakterienzelle z.B. die „High-Level-Resistenz“ gegenüber Fluorchinolonen (Yan *et al.* 2006). Des Weiteren konnten in der Genomsequenz von *C. jejuni* viele DNA-Reparaturgene, die z.B. in *Escherichia coli* vorhanden sind, nicht gefunden werden. Zu ihnen gehören die direkten

Reparaturgene *phr*, *ada*, *tag*, *alkA*, *nfo* und *mutM*, die Mismatch-Reparaturgene *mutH*, *mutL*, *vsr* und *sbcB* sowie die SOS-Antwortgene *umuC*, *umuD* und *lexA*. Aus diesen Ergebnissen schlussfolgerten Parkhill *et al.*, dass *C. jejuni* große Defizite bei den DNA-Reparaturmechanismen aufweist (Parkhill *et al.* 2000).

## **1.5.4 Chemotaxis und Aerotaxis**

### **1.5.4.1 Das Prinzip der Chemotaxis**

Das Prinzip der Chemotaxis wurde bereits 1881 von Engelmann *et al.* beschrieben und stellt die vermutlich älteste Art der Signalverarbeitung von Bakterien dar (Engelmann 1881). Dieses System befähigt begeißelte Prokaryonten sich in Richtung optimaler Wachstumsbedingungen zu bewegen, also hin zu hohen Gradienten energieliefernder Substanzen, die den Metabolismus der Bakterien positiv beeinflussen (Miller *et al.* 2009). Dies sind vor allem Gebiete, die reich an Aminosäuren und Carbonsäuren sind, welche für *C. jejuni* die Hauptquellen für Kohlenstoff darstellen (Wagley *et al.* 2014).

Die Motivation sich zu bewegen kann entweder durch den internen metabolischen Zustand des Bakteriums hervorgerufen werden, was als Energietaxis bezeichnet wird, oder durch die Wahrnehmung externer chemischer Stimuli, auch Chemotaxis genannt (Reuter und van Vliet 2013).

Es gibt grundsätzlich zwei Arten von Chemoeffektoren: Chemoattraktanzien, die ihre höchste Konzentration in ökologischen Nischen mit hoher Energiequelle besitzen, und Chemorepellenzien, die den Bakterien einen Hinweis auf bakteriotoxische Substanzen bzw. nachteilige Wachstumsbedingungen liefern. Chemotaxis durch Attraktanzien wird auch als positive Chemotaxis bezeichnet, die durch Repellenzien als negative (Adler 1975).

Die Voraussetzungen zur Durchführung der Chemotaxis sind mindestens eine Geißel, verschiedene Chemorezeptoren sowie ein diese beiden Systeme miteinander in Verbindung bringendes Signaltransduktionssystem (Zautner *et al.* 2012a). Diese durch Begeißelung hervorgerufene Ortsveränderung wird in *C. jejuni* kontrolliert durch verschiedene Chemotaxisrezeptoren, nach aktuellem Forschungsstand bestehend aus 13 *transducer-like*-Proteingenen (*tlp*) und 2 *aerotaxis*-Genen (siehe Kapitel 1.5.4.3) (Marchant *et al.* 2002; Zautner *et al.* 2012a; Day *et al.* 2012).

Wie schon 1975 von Adler beschrieben, wechselt die Fortbewegung von Bakterien generell zwischen zielgerichteten Schwimm- und inkonstanten Taumelbewegungen, wobei beobachtbar ist, dass sich die gerichteten Schwimmbewegungen häufen und gleichzeitig die

Taumbewegungen unterdrückt werden, sobald die Konzentration von Chemoattraktanzien zunimmt bzw. die von Chemorepellenzien abnimmt (Adler 1975). Werden Attraktanzien wahrgenommen, induziert dies eine flagellare Rotationsbewegung gegen den Uhrzeigersinn; werden indes Repellenzien detektiert, so entsteht eine Rotationsbewegung im Uhrzeigersinn. Je nach Richtung der Drehbewegung der Geißeln entsteht so entweder gerichtetes Schwimmen durch gegen den Uhrzeigersinn laufende Richtung oder unbestimmtes Taumeln durch mit dem Uhrzeigersinn durchgeführte kreisförmige Rotation (Gegner *et al.* 1992).

#### **1.5.4.2 Signaltransduktion**

Die Forschung der vergangenen 50 Jahre hat ein umfangreiches Wissen über die Signaltransduktion der bakteriellen Chemotaxis hervorgebracht. Die funktionellen Abläufe der Signaltransduktion zeichnen sich zum einen durch die hohe Sensitivität bezüglich der Wahrnehmung von Umweltreizen aus, zum anderen durch die Fähigkeit sich an variable Konzentrationen der Chemotaxine anpassen zu können. Durch diese Adaptation wird gewährleistet, dass das Signaltransduktionssystem bei hohen chemischen Reizen nicht übersättigt wird, sondern weiterhin eine adäquate Reaktion auf nachfolgende geringe Mengen an Chemotaxinen ablaufen kann (Alexander *et al.* 2010).

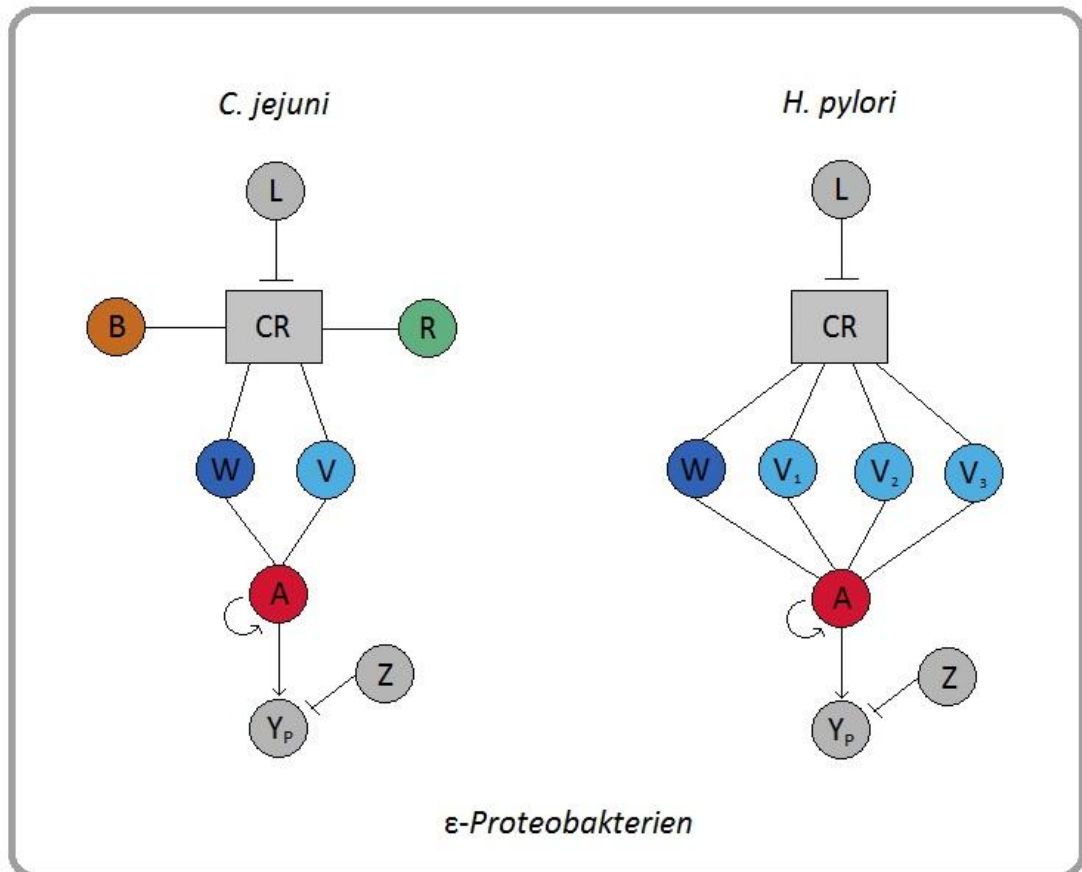
Generell werden drei verschiedene Systemabschnitte benötigt: Empfang der Signale durch membranständige Chemorezeptoren, Signaltransduktionsmoleküle um die Signale von den Membranrezeptoren zu dem Antriebsapparat zu übertragen und Signalanpassungsmechanismen zur Desensibilisierung der initial ankommenden Signale. Die Membranrezeptoren können durch Methylierung aktiviert bzw. deaktiviert werden und werden daher auch methyl-akzeptierende Chemotaxisproteine (MCP) genannt (Lux und Shi 2002). Im Allgemeinen besteht das Signaltransduktionssystem aus folgenden Komponenten: einem Transmembranrezeptor, der membran-assoziierten Histidinautokinase CheA, dem verbindenden Gerüstprotein CheW und einem zytoplasmatischen Rückmeldungsregulator (RR), dem CheY (Alexander *et al.* 2010).

Trifft ein Chemorepellenz auf das Signaltransduktionssystem, aktiviert dies die Kinase CheA, welche dadurch unter Verwendung von ATP (Adenosintriphosphat) autophosphoryliert und somit die Phosphatgruppe entweder auf CheY oder die Empfänger-Domäne (REC-Domäne) von CheB überträgt. CheY interagiert nun in phosphoryliertem Zustand mit dem N-Terminus des flagellaren Motorproteins FliM. Durch diese starke Bindung ist es CheY möglich, das FliN-Dimer zu trennen und selbst an FliN zu binden (Sarkar

*et al.* 2010). Dies bringt den bakteriellen Motor dazu, im Uhrzeigersinn zu rotieren. Hierdurch wird das Taumeln des Bakteriums induziert (siehe *Abb. 3*) (Bren und Eisenbach 1998; Sarkar *et al.* 2010). CheB ist eine Chemotaxismethylesterase, die während der Adaptation an chemische Reize Chemorezeptoren demethyliert. Dadurch entsteht durch Deaktivierung von CheA die Regulation der Sensoradaptation an Repellenzien. Die Aktivität von CheB wird ebenfalls durch Phosphorylierung verstärkt. Das Protein CheR fungiert als Gegenspieler von CheB. Es methyliert den Chemorezeptor, was dazu führt, dass CheA einfacher durch den MCP-Rezeptor aktiviert werden kann. Die zytoplasmatische Phosphatase CheZ wiederum stellt einen CheY-Antagonisten dar; ist dieser aktiviert, so wird CheY dephosphoryliert (Bourret und Stock 2002; Zhao *et al.* 2002; Terry *et al.* 2006).

Sobald jedoch ein Chemoattraktanz von CheA wahrgenommen wird, inhibiert dies die Autophosphorylierung und demzufolge auch die Weitergabe von Phosphatgruppen an CheY und CheB (Gegner *et al.* 1992; Alexander *et al.* 2010). Im nicht-phosphorylierten Zustand interagiert CheY nur spärlich mit dem Motorprotein FliM. Deshalb kann die FliN-FliN-Bindung nicht getrennt werden und somit eine CheY-FliN-Interaktion nicht stattfinden (Sarkar *et al.* 2010). Somit ist die Folge, dass sich das Flagellum gegen den Uhrzeigersinn dreht und eine schnelle und gerichtete Vorwärtsbewegung initiiert wird (vergleiche *Abb. 3*) (Bren und Eisenbach 2000).

Das verbindende Gerüstprotein CheW interagiert mit der zytoplasmatischen Signaldomäne der methylakzeptierenden Chemotaxisproteine. Laut Gegner *et al.* ist das Protein CheA auf CheW als Komplexpartner angewiesen, um an den Rezeptor binden zu können, da ein direktes Anbinden an einen Rezeptor durch CheA nicht beobachtbar ist. Allerdings ist die Verbindung von CheW mit CheA effektiver bezüglich der Affinität der Rezeptorbindung als das Protein CheW alleine. Heftet sich CheW an die Histidinkinase CheA an, so ist der endgültige Rezeptor-CheW-CheA-Ternärkomplex entstanden (Gegner *et al.* 1992). Es konnte gezeigt werden, dass die Kinaseaktivität durch Konformationsänderung dieses Ternärkomplexes zustande kommt (Alexander *et al.* 2010).



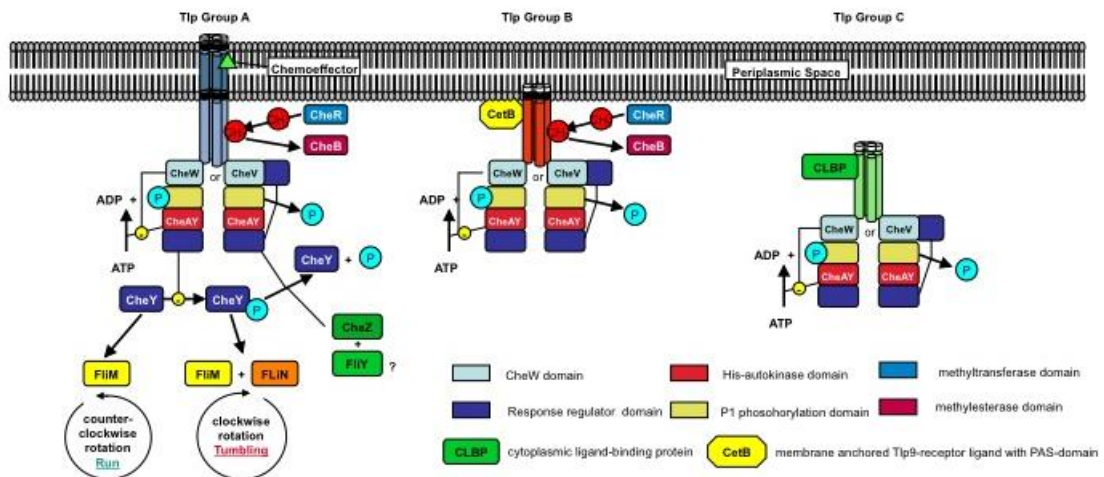
**Abb. 2: Chemotaxis-signaltransduktionssystem in *Epsilonproteobacteriaceae***

Linien bedeuten Protein-Protein-Interaktionen. Linien mit Pfeilen stehen für Aktivierung, solche mit stumpfen Enden für Inaktivierung. Einfache Linien sind entweder nicht gut erforscht oder können sowohl für Aktivierung als auch für Inaktivierung stehen. Der Chemoattraktor (L) interagiert mit dem Chemorezeptor (CR), um CheA (A) zu deaktivieren. A ist über CheW (W) bzw. über CheV (V) in Verbindung mit CR. Epsilonproteobakterien besitzen an CheA eine zusätzliche REC-Domäne, die wiederum von CheA selbst phosphoryliert werden kann (in Anlehnung an Alexander *et al.* 2010).

*C. jejuni* zeigt wie die meisten Vertreter der *Epsilonproteobacteriaceae* eine Abwandlung dieses generellen Schemas. Das gemeinhin von Bakterien genutzte verbindende Gerüstprotein CheW wird von *C. jejuni* vorzugsweise durch das CheW-like Verbindungsprotein CheV ersetzt bzw. verstärkt (vergleiche Abb. 3) (Zautner *et al.* 2012a).

CheV besitzt eine ungewöhnliche Hybridstruktur bestehend aus einer CheW-like-Region sowie einer REC-Domäne. Experimente weisen darauf hin, dass die CheW-like-Domäne verantwortlich für die Stabilität und die Protein-Protein-Verbindung ist, wohingegen der REC-Anteil das Zurücksetzen des Signaltransduktionssystems in seinen ursprünglichen Zustand verursacht (Alexander *et al.* 2010).

Eine weitere Besonderheit des Signaltransduktionsweges bei *C. jejuni* ist das Vorhandensein einer zusätzlichen RR-Domäne, welches als CheAY bezeichnet wird (siehe Abb. 3). Diese weitere Domäne ist homolog zu CheY und befindet sich am C-Terminus des CheA-Kinaseproteins. Typischerweise ist im Gegensatz zu CheA in CheAY-Proteinen keine zweite Phosphorylierungsdomäne enthalten und CheY scheint das im Vergleich bevorzugte Substrat zu sein. Da aber wiederum die RR-Domäne des CheAY von CheY phosphoryliert werden kann, geht man davon aus, dass CheAY fähig ist, Phosphatgruppen von CheY zu entfernen und somit als Phosphatspeicher fungiert. Ist eine weniger große Anzahl der Tlp-Rezeptoren mit Liganden besetzt, wird die Autophosphorylierung von CheAY geringer gehemmt. Dadurch resultiert eine kleinere Menge von CheAY in phosphoryliertem Zustand (CheAY-P). Da CheAY-P die Dephosphorylierung von CheY inhibiert, entsteht auch eine höhere Anzahl von CheY-P und CheB-P (Lertsethtakarn *et al.* 2011).



**Abb. 3: Chemotaxis-Signaltransduktions-Kaskade der drei verschiedenen Tlp-Chemorezeptorgruppen A, B und C**

Die Signaldomänen, welche Trimere aus Dimeren formen, sind in stahlblau dargestellt (in Gruppe A), karminrot (in Gruppe B) und hellgrün (in Gruppe C); CheW und die CheW-homologe CheV-Domäne sind hellblau dargestellt; CheV besitzt eine zusätzliche Antwortdomäne (RR-Domäne), welche ebenso zu CheW und CheV gehört. Im Gegensatz zu *Helicobacter pylori* ist CheA nicht nur aus einer His-Autokinase-Domäne aufgebaut, sondern enthält zusätzlich noch eine P1-Phosphorylierungsdomäne. Es besitzt in *C. jejuni* eine zusätzliche RR-Domäne, weshalb es hier als CheAY betitelt wird. Weitere Informationen sind dem Text zu entnehmen (verändert aus Zautner *et al.* 2012a).

#### 1.5.4.3 Gruppeneinteilung der *C. jejuni*-Chemotaxisrezeptoren

Die Chemotaxisrezeptoren von *C. jejuni*, auch Transducer-like-Proteinrezeptoren (Tlp-Rezeptoren) genannt, werden in die drei Gruppen A, B und C eingeteilt (vergleiche Abb. 4) (Marchant *et al.* 2002).

**Gruppe A** besteht aus einer periplasmatischen Ligandenbindungsstelle und einer zytoplasmatischen Signaltransduktionsdomäne. Die Chemorezeptoren Tlp 1-4, Tlp7 (mit zwei Varianten), Tlp10 und Tlp11 gehören dieser Gruppe an (Korolik und Ketley 2008; Day *et al.* 2012). Diese Gruppe A-Rezeptoren sind in der Lage, externe Liganden wahrzunehmen (Marchant *et al.* 2002).

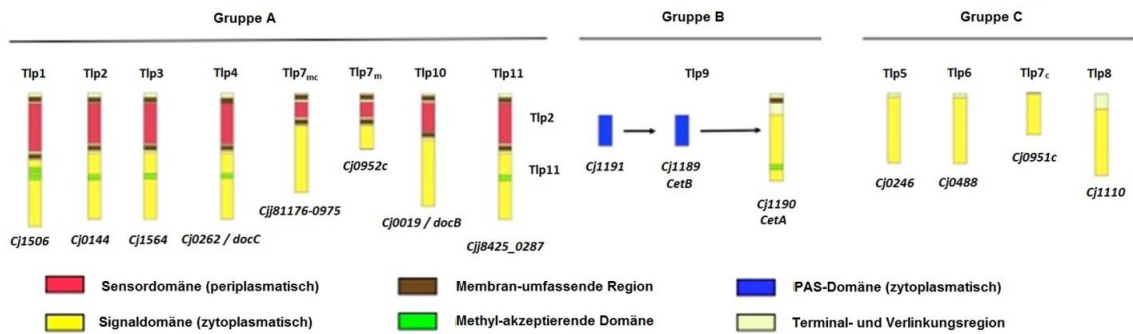
**Gruppe B** enthält lediglich einen Rezeptor, Tlp9, welcher mit zwei zytoplasmatischen Ligandenproteinen assoziiert ist, die aerotaktische Signale erkennen können.

**Gruppe C**-Rezeptoren sind vollständig zytoplasmatische Signaldomänen. Dieser Gruppe zugehörig sind Tlp5, Tlp6, Tlp8 und das zytoplasmatische Tlp7c Protein Cj0951c (Tareen *et al.* 2010; Zautner *et al.* 2012a).

Bislang sind die Chemoeffektoren und die Interaktionsmechanismen der verschiedenen Rezeptoren nur ansatzweise verstanden. Die Identifikation der spezifischen Chemoeffektoren stellt sich kompliziert dar, da spezielle Chemorezeptoren die Funktion von anderen übernehmen können (Vegge *et al.* 2009). Die bisherigen Ergebnisse zeigen, dass L-Aspartat als spezifisches Chemoattraktanz fungiert und dieses Signal durch Tlp1 vermittelt wird. Aufgrund dessen wird dieser Rezeptor auch als *Campylobacter* Chemorezeptor für Aspartat A (CcaA) bezeichnet (Hartley–Tassell *et al.* 2010). Ameisensäure agiert als chemischer Signalstoff für beide Varianten von Tlp7 (Tareen *et al.* 2010). In der Mehrheit der *C. jejuni*-Isolate, zum Beispiel im Stamm 81-176, wird das *tlp7*-Gen als eine RNA (Ribonukleinsäure) translatiert und als ein 58 kDa Protein exprimiert. Im Gegensatz dazu ist in einigen *C. jejuni*-Isolaten das *tlp7*-Chemorezeptorgen durch ein Stoppcodon zweigeteilt, wie beispielsweise in dem *C. jejuni*-Stamm NCTC 11168 (in der Position 891 663 des NCTC Genoms). Dadurch wird der offene Leserahmen ("open reading frame" ORF) in die zwei ORFs *cj0952c* und *cj0951c* geteilt, welche beide als einzelne Proteine transkribiert und exprimiert sind (25 kDa und 33 kDa). Nur wenn beide Proteine Cj0952c und Cj0951c exprimiert werden und als Heterodimer interagieren, wird ein chemotaktisches Signal in Richtung Ameisensäure wahrgenommen (Tareen *et al.* 2010; Zautner *et al.* 2011). Um diese drei Proteine voneinander unterscheiden zu können, wurde das zytoplasmatische Protein Cj0951c als Tlp7<sub>c</sub> und das membranständige Protein Cj0952c



als Tlp7<sub>m</sub> benannt; das 58 kDa Protein, welches sowohl zytoplasmatische als auch membranständige Regionen enthält, wurde als Tlp7<sub>mc</sub> betitelt (Zautner *et al.* 2012a). Gallensäuren agieren generell als Chemorepellenzien, ihre Signale werden von Tlp3 und Tlp4 übermittelt (Li *et al.* 2014). Es kann gezeigt werden, dass Tlp3 die Chemoattraktanzien Isoleucin, Purin, Apfelsäure und Fumarsäure sowie die Chemorepellenzien Lysin, Glucosamin, Bernsteinsäure, Arginin und Thiamin bindet. Dementsprechend wird es als „*Campylobacter* Chemorezeptor für multiple Liganden“ (CcmL) benannt (Rahman *et al.* 2014). Der Rezeptor Tlp9/CetA, benannt nach *Campylobacter* Energietaxis, besitzt keine eigene spezifische Ligandenbindungsdomäne. Er agiert zusammen mit seinen beiden zytoplasmatischen Ligandenproteinen Aer1/CetC und Aer2/CetB, welche Homologe des zytoplasmischen Redox-erfassenden Proteins (Per-ARNT-Sim [PAS] Domäne) sind, als Redox-erfassender Rezeptor (Marchant *et al.* 2002). CetABC fungiert als ein Energietaxisssystem, welches *C. jejuni* zu hohem Redoxpotential und dementsprechend zu vorteilhaften Konditionen der Energieerzeugung führt. Im Gegensatz dazu verhält sich der Gruppe-C-Rezeptor Tlp8/CetZ als Gegenspieler zu CetABC und führt Zellen von hohem Redoxpotential weg. Tlp8/CetZ ist ein zytoplasmatischer Sensor und enthält zwei PAS-Domänen (Reuter und van Vliet 2013). Abgesehen von ihrer Rolle für die Chemotaxis sind manche Tlp-Rezeptoren auch an der Wirtszelladhärenz und -invasion, der Darmkolonisation, Autoagglutination und Biofilmbildung beteiligt (Vegge *et al.* 2009; Tareen *et al.* 2010; Zautner *et al.* 2012a; Rahman *et al.* 2014).



**Abb. 4: Domänenorganisation der drei verschiedenen *C. jejuni* - Chemorezeptorengruppen**

Pfeile symbolisieren Interaktionen. Gruppe-A-Rezeptoren besitzen einen membranständigen Anteil, eine periplasmatische Sensor- und eine zyttoplasmatische Signaldomäne. Der einzige Gruppe-B-Rezeptor Tlp9 (CetA) ist an der inneren Membran verankert und interagiert mit CetB, um Pyruvat- und Fumaratsignale wahrzunehmen. Die Gruppe-C-Chemorezeptoren haben eine einzige zyttoplasmatische Signaldomäne (verändert nach Zautner *et al.* 2012a).

## 1.6 Zielsetzung der Dissertation

Als Erstes soll in den 142 *C. jejuni*-Genomsequenzen, welche aus 32 geschlossenen Genomen und 110 nichtgeschlossenen Genomen bestehen und in der „National Center for Biotechnology Information“ (NCBI) Genomdatenbank hinterlegt sind, für alle gegenwärtig bekannten Chemorezeptorgene nach Homologen und Paralogen mittels BLAST-Algorithmus gesucht werden.

Zum Zweiten soll auf Basis der Ergebnisse aus den Genomanalysen eine 292 *C. jejuni*-Isolate umfassende Stammsammlung auf die entsprechenden homologen und paralogenen Gene der bekannten *transducer-like*-Proteingene mittels PCR untersucht werden.

Die 292 *C. jejuni*-Isolate werden darüber hinaus bezüglich ihrer Phylogenie mittels Multi-locus-Sequenztypisierung (MLST) und bzgl. ihrer Isolationsquellen aus Hühner-, Puten- und Rindfleischfaeces sowie aus humanen Stuhlproben charakterisiert. In diesem Teil der Arbeit soll insbesondere die Verteilung zuvor nicht beschriebener Chemorezeptorgene und Pseudogene untersucht werden.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Materialien

#### 2.1.1 Bakterienstämme

In dieser Studie wurden insgesamt 292 *C. jejuni* Isolate untersucht (s. Tab. A1 im Anhang). Davon stammten 150 Isolate von Menschen, 68 von Hühnern, 43 von Rindern, 24 von Puten, 3 von Schafen, 2 von Wildvögeln, 2 von Hunden und 1 Isolat aus Oberflächenwasser. Die menschlichen Isolate wurden aus Stuhlproben von Verdachtsfällen auf Campylobacteriose isoliert, die an der Universitätsmedizin Göttingen in der Zeitspanne von 2000 bis 2004 mittels bakteriologischer Kultur untersucht worden sind. Die Hühner-, Rinder- und Putenisolate wurden freundlicherweise von dem Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) in Berlin bereitgestellt und die Referenzstämme NCTC 11168 und 81-176 wurden von der American Type Culture Collection (ATCC) käuflich erworben.

Die Identitätsbestimmung der Mikroorganismen bis hin zur Speziesebene wurde mit Hilfe des MALDI Biotyper-Systems (Bruker Daltonics, Bremen) durchgeführt. Ergebnisse mit Identifikationswerten  $\geq 2.000$  des MALDI Biotypers wurden als korrekt betrachtet. Zusätzlich wurde die Multiplex-Polymerasekettenreaktion (Multiplex-PCR) von Vandamme *et al.* genutzt, um zwischen *C. jejuni* und *Campylobacter coli* zu unterscheiden (Vandamme *et al.* 1997). In dieser Studie wurden keine Isolate mit Eigenschaften von *C. coli* oder *C. jejuni* ssp. *doylei* verwendet.

#### 2.1.2 Nukleinsäuren

##### 2.1.2.1 Primer für die quantitative PCR

Für den Nachweis der *tlp*- und Aerotaxisgene wurde 50 ng DNA des jeweiligen Isolats und 1  $\mu$ mol der in Tabelle 1 aufgezeigten Primer verwendet. Die Primer, die zur Amplifikation der Gene *tlp1-3* und *tlp5-10* dienten, wurden bei Sigma-Aldrich (Taufkirchen) hergestellt und so definiert, dass konservierte Gensequenzen entsprechend den in der NCBI-Datenbank hinterlegten Proben gebunden werden. Die *tlp2*- und *tlp3*-Primerpaare wurden aufgrund der hohen Homologie der zytosolischen Signaldomänen dieser beiden Gene so konzipiert, dass sie in den jeweils spezifischen Genregionen binden, die für die periplasmatische Sensordomäne kodieren. Dieses Konzept wurde ebenso bei dem Primerdesign für *tlp4*, *tlp11*, *tlp12* und *tlp13* verfolgt, d.h. die Vorwärtsprimer für *tlp4*, *tlp11*, *tlp12* und *tlp13* binden in Genregionen, die jeweils spezifisch für die einzelnen Varianten sind, während der gemeinsame Rückwärtsprimer in der evolutionär hochkonservier-

ten zytoplasmatischen Signalregion bindet. Außerdem konnte bei der Detektion des *tlp13*-Gens eine höhere Spezifität erzielt werden, indem ein Rückwärtsprimer verwendet wurde, der in der für *tlp13* spezifischen Region des periplasmatischen Anteils (*tlp13c-short-R01*) bindet.

Die *tlp5*-spezifischen Primer wurden so definiert, dass sie in den konservierten Regionen sowohl des intakten *tlp5* als auch des unterbrochenen Pseudogens binden. Bei Vorliegen des intakten *tlp5*-Gens betrug die Fragmentlänge 792 bp, während sie bei dem geteilten Pseudogen 207 bp betrug. Die Unterscheidung zwischen dem ungeteilten *tlp7* (*tlp7<sub>mc</sub>*) und der in zwei offene Leserahmen geteilten Variante (*tlp7<sub>m</sub>* und *tlp7<sub>c</sub>*) erfolgte durch das Restriktionsenzym *AseI*, wie es bereits von Zautner *et al.* (2011) beschrieben wurde. *AseI* schneidet das Fragment direkt an dem Stoppkodon zwischen *tlp7<sub>m</sub>* und *tlp7<sub>c</sub>*.

**Tabelle 1: Für die Amplifikation der *tlp*-Gene genutzte Primer**

Gene	Primer	Sequenz in 5'–3'- Richtung	Annealing Temp. (°C)	Länge (bp)
<i>tlp1/ccaA</i> <i>cj1506</i>	tlp1-F02 tlp1-R02	AGCTAATCTGCAAGTTGTGCAAG CCGCAAGCTGTCTTACCTCA	60,0	1.382
<i>tlp2</i> <i>cj0144</i>	tlp2-F03 tlp2-R03	AAGAATTTTAGAGATGCTGGAAGA AGTGGTTAAGCTTTGAACAGCA	59,0	1.191
<i>tlp3/ccmL</i> <i>cj1564</i>	tlp3-F06 tlp3-R06	CGTTGAAGATTTCCGTTCCAC AGCGCTTTCGGTAATACAAGC	59,0	649
<i>tlp4/12-consensus</i>	tlp4/12c-F03 tlp4/12c-R03	TGGGTTGGAATTTTAGTTGTATT CCTCTACCATGTTCTCCAGC	58,0	1.658
<i>tlp4</i> <i>cj0262</i>	tlp4-F01 tlp4-12c-R03	TCGCCAATGCAATCAAAGCA CCTCTACCATGTTCTCCAGC	58,0	1.015
<i>tlp5-consensus</i> <i>cj0246</i>	tlp5c-F02 tlp5c-R02	GGAATTGCAAAAAGTTTAGTGGC AGCTAGAACATCTTCATAACATTTG	57,0	792/207*
<i>tlp6</i> <i>cj0448</i>	tlp6-F01 tlp6-R01	GCAGGTGAACATGGGCGTGGT CGATGCATTTTCAGCAACTTCGCA	59,0	567
<i>tlp7**/ccfA</i> <i>cj0951c/cj0952c</i>	tlp7-F01 tlp7-R01	AGGTTTCTGCTGCAATTTTGTGGTG AGCAAGTTCTCCAAGTTCATTGCCA	53,0	880

Gene	Primer	Sequenz in 5'-3'- Richtung	Annealing Temp. (°C)	Länge (bp)
<i>tlp8</i> <i>cj1190</i>	tlp8-F01 tlp8-R01	TGCTGCTGCTAATCGTTCTATGGC GCACGTGCTGCCTCAATAGCA	58,0	597
<i>tlp9/cetA</i> <i>cj1190</i>	cetA-F01 cetA-R01	TCGTAAGGCTTTGCCTGAAGGT CCGCAAAGCCCCTACCATGC	58,0	470
<i>tlp9/cetB/aer2</i> <i>cj1189</i>	cetB-F01 cetB-R01	TGCAGGTTATACCATGGGTGAAGTT AGCCTTGTTGCTGTTCTGCTCTT	57,0	308
<i>tlp9/aer1</i> <i>cj1191</i>	aer1-F01 aer1-R01	ACATGAAGATATGCCACGCACTGT GGTGCACGACGAACAGAATAA	57,0	186
<i>tlp10</i> <i>cj0019</i>	tlp10-F01 tlp10-R01	AGAAGCCAATCTACACTCTCGTT AAATCCACGCCCATGTTTCGC	56,0	532
<i>tlp11</i>	tlp11a-F02 tlp11/13c-R03	AGCAATAGGAATAGTCTTAGGCAT GCACGAGCTGCTTCAATAGC	59,0	1.770
<i>tlp12</i>	tlp12-F01 tlp4/12c-R03	TCGCCAATGCAATCAAAGCA CCTCTACCATGTTCTCCAGC	58,0	1.015
<i>tlp13</i>	tlp13-F01 tlp13-short-R01	TCGAGCGTTAGTTCAAACTCT ACCCATTTTGCCCAATTCATCA	59,0	1.185

\*Diese Primer amplifizieren beide *tlp5*-Varianten, wobei das intakte Gen eine Größe von 792 bp aufweist, wohingegen das geteilte Pseudogen eine Größe von 207 bp besitzt.

\*\*Das Stoppkodon wurde mittels *AseI*-Restriktion des Amplikons detektiert.

### 2.1.2.2 Längenstandards der Nukleinsäuren

Um die Größe der jeweiligen DNS-Fragmente feststellen zu können, wurden der Längenstandard „SmartLadder“ (Eurogentec, Köln) und der „GeneRuler™ 1kb Plus DNA Ladder“ (Fermentas GmbH, St. Leon-Rot) verwendet.

Längenstandard „SmartLadder“:

Fragmentgrößen in bp: 10.000/ 8.000/ 6.000/ 5.000/ 4.000/ 3.000/ 2.500/ 2.000/ 1.500/ 1.000/ 800/ 600/ 400/ 200

Längenstandard „GeneRuler™ 1kb Plus DNA Ladder“:

Fragmentgrößen in bp : 20.000/ 10.000/ 7.000/ 5.000/ 4.000/ 3.000/ 2.000/ 1.500/ 1.000/  
700/ 500/ 400/ 300/ 200/ 75

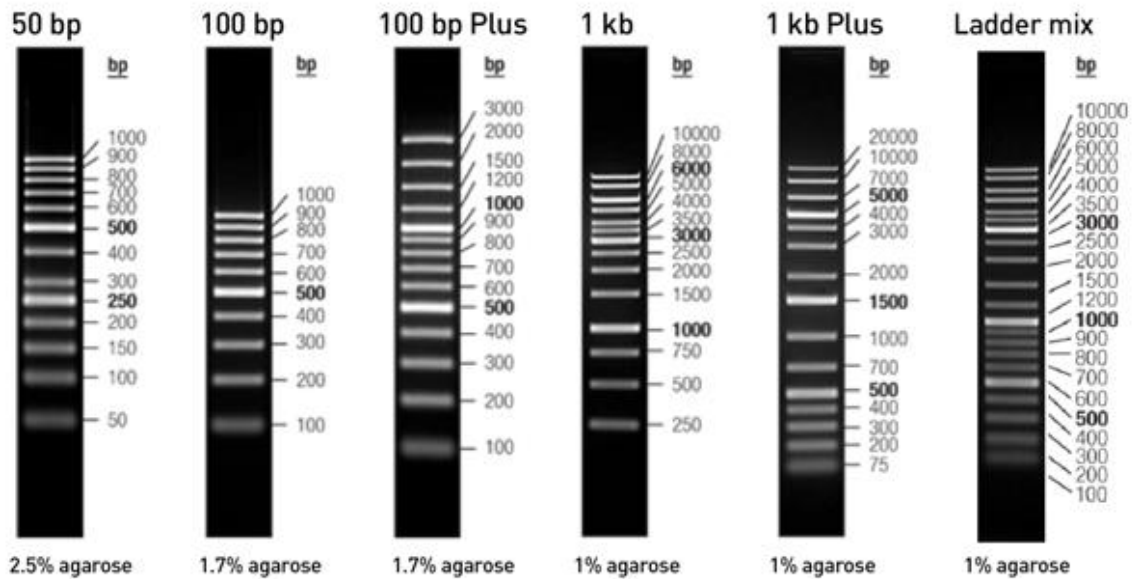


Abb. 5: Längenstandards „GeneRuler™“

(Quelle: www.thermofisher.com „GeneRuler™ and O'GeneRuler™ DNA Ladders“, abgedruckt mit freundlicher Genehmigung)

### 2.1.3 Verwendete Enzyme

Zur Amplifikation der DNA wurde die *Taq*-DNA-Polymerase (Roche, Basel, Schweiz) verwendet.

### 2.1.4 Puffer und Nährmedien

Tabelle 2: Puffer und Nährmedien

<b>Elutionspuffer AE*</b>	QIAGEN/Venlo, Niederlande
<b>Lysispuffer ATL und AL*</b>	QIAGEN/Venlo, Niederlande
<b>BHI-Medium*</b>	MERCK KGaA/Darmstadt
<b>TAE-Puffer (50x)*</b>	2 M Tris 50 mM EDTA (pH 7,5-7,8) 5,75 % (v/v) Essigsäure
<b>Elektrophoresepuffer-Lösung*</b>	20 ml TAE (50x) 980 ml H <sub>2</sub> O

\*Teil des Kits aus Kapitel 2.1.5

### 2.1.5 Verwendetes Kit

Es wurde mit dem QIAamp®-DNA-Mini-Kit (QIAGEN, Venlo, Niederlande) gearbeitet.

### 2.1.6 Kulturplatten

Die Bakterien wurden auf Columbia-Agar-Platten mit 5% Schafblut (MERCK KGaA, Darmstadt) angezüchtet.

### 2.1.7 Weitere Chemikalien, Reagenzien, Verbrauchsmittel und Geräte

Tabelle 3: Verwendete Chemikalien und Reagenzien

Substanz	Hersteller/Ort
6x DNA Loading Dye	MBI Fermentas/St. Leon-Rot, Deutschland
Agarose NEEO Ultra-Qualität Roth® für die DNA/RNAElektrophorese	Carl Roth GmbH/Karlsruhe, Deutschland
Aqua bidest	
Columbia-Agar (Basis)	MERCK KGaA/Darmstadt, Deutschland
Ethanol, absolut	MERCK KGaA/Darmstadt, Deutschland
Ethidiumbromid, ~95 % (HPLC)	SIGMA-ALDRICH®/St. Louis, USA
Glycerin, ~87% reinst	MERCK KGaA/Darmstadt, Deutschland
PCR grade nucleotide mix (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), jedes 10 mM	Roche/Basel, Schweiz
PCR reaction buffer, 10x conc.	Roche/Basel, Schweiz
Nukleinsäuren-Längenstandard „GeneRuler™ 1kb Plus DNA Ladder“	Fermentas GmbH/St. Leon-Rot, Deutschland
Nukleinsäuren-Längenstandard „SmartLadder“	Eurogentec/Köln, Deutschland
Schafblut, defibriniert	OXOID Ltd./Hampshire, Großbritannien

**Tabelle 4: Verwendete Verbrauchsmaterialien**

<b>Produkt</b>	<b>Hersteller/Ort</b>
Campy Gen TM CN25	OXOID Ltd./ Hampshire, Großbritannien
Einweg-Impfschlingen (1 µL und 10 µL)	SARSTEDT/Nümbrecht, Deutschland
Entsorgungsbeutel	Labor-Brand/Gießen, Deutschland
Filter-Pipettenspitzen	SARSTEDT/Nümbrecht, Deutschland
Flächendesinfektionsmittel „Biguacid Liquid“	ANTISEPTICA/Pulheim/Brauweiler, Deutschland
Labortücher (Kimwipes)	Kimberly-Clark/Dallas, USA
Microbank-Röhrchen	Pro-Lab Diagnostics/Toronto, Kanada
Nitrilhandschuhe: „Nitro-Tex® EP“	Ansell/Brüssel, Belgien
PCR-Reagiergefäß, 0,2 ml	Biozym/Hessisch Oldendorf, Deutschland
Pipettenspitzen, farbig	SARSTEDT/Nümbrecht, Deutschland
Pipettierhilfe: Pipetus®-Akku	Hirschmann Laborgeräte GmbH & Co.KG/Eberstadt, Deutschland
Reagiergefäß, 0,5 ml	Eppendorf/Hamburg, Deutschland
Reagiergefäß, 1,5 ml und 2,0 ml	SARSTEDT/Nümbrecht, Deutschland
Sarstedt-(Falcon-)Röhrchen 15 ml	SARSTEDT/Nümbrecht, Deutschland
Schutzhandschuhe	Microflex Corporation/Wien, Österreich
Wattetupfer	COPAN innovation/ Brescia, Italien

**Tabelle 5: Verwendete Geräte**

<b>Gerät</b>	<b>Hersteller/Ort</b>
Anaerobiertopf „Anaerocult®“	Merck KGaA/ Darmstadt, Deutschland
Brutschrank (37 °C)	Thermo SCIENTIFIC/Waltham, USA
Digitaler Graphikdrucker Digital Graphic Printer UP-D890	Biometra/ Göttingen, Deutschland
Elektrophoresekammer	Von Keutz/ Reiskirchen, Deutschland



<b>Gerät</b>	<b>Hersteller/Ort</b>
Feinwaage LP6200S	Sartorius AG/Göttingen, Deutschland
Geldokumentationsstation „Transilluminator BioDoc II <sup>TM</sup> “	Biometra/Göttingen, Deutschland
Glaswaren	SCHOTT AG/Mainz, Deutschland
Kühlschrank	Liebherr/Bulle, Schweiz
Mikrowelle	Blomberg/Neu-Isenburg, Deutschland
Mini-Zentrifuge/vortex CombiSpin FVL- 2400N	BIOSAN/Riga, Lettland
NanoDrop ND-1000 Thermo	SCIENTIFIC/Waltham, USA
PCR-Gerät T3 Thermocycler	Biometra/Göttingen, Deutschland
Pipetten Eppendorf Reference	Eppendorf/Hamburg, Deutschland
Spannungsgerät „Biometra Standard Power Pack 25“	Biometra/Göttingen, Deutschland
Zentrifuge Centrifuge 5415 R	Eppendorf/Hamburg, Deutschland

## **2.2 Methoden**

Um die Chemotaxis- und Aerotaxisrezeptorgene auf ihr Vorkommen innerhalb der 292 untersuchten *C. jejuni*-Isolate untersuchen zu können, wurde die Methodik der PCR mit anschließender Gelelektrophorese gewählt. Die phylogenetische Beziehung dieser Isolate wurde durch Multilokussequenztypisierung (MLST) ermittelt, gefolgt von statistischer Analyse des Auftretens der *C. jejuni*-Chemorezeptoren in den einzelnen klonalen Komplexen.

### **2.2.1 Anzucht und Lagerung von *C. jejuni***

Die *C. jejuni*-Isolate wurden auf Columbiaagar mit 5% Schafsblut (Merck) bei 42°C unter mikroaerophilen und capnophilen Bedingungen (5% O<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub>, 85% N<sub>2</sub>) für 18 Stunden kultiviert. Erzeugt werden konnte diese spezielle Atmosphäre mit Hilfe eines CampyGen<sup>TM</sup> CN25-Gasentwicklerbeutels (Thermo SCIENTIFIC/Waltham, USA) für 2,5 l Fassungsvermögen in einem Mikroaerophilentopf. Um die Bakterienstämme langfris-

tig zu lagern, konnten die *Campylobacter*-Kolonien mit einem Tupfer oder einer Impföse den Columbia-Blutagar-Platten entnommen werden und in einem Glycerin-BHI-Gemisch (20% Glycerin in BHI) oder in Microbank-Röhrchen (Pro-Lab Diagnostics / Toronto, Kanada) aufbewahrt werden.

### 2.2.2 DNA Extraktion

Genomische DNA aller *C. jejuni*-Isolate wurde mit Hilfe des QIAamp® DNA-Mini-Kit (Qiagen, Venlo, Niederlande) nach den Anweisungen des Herstellers extrahiert. Zunächst wurden die auf Columbia-Schafsblutagarplatten angezüchteten Bakterien in 180µL ATL-Puffer (Gewebeilysepuffer) resuspendiert, danach mit 20 µL Proteinase K bei 56 °C und einer Rotationsfrequenz von 750 min<sup>-1</sup> über 60-180 Minuten in einem Thermomixer inkubiert. Nach diesem Schritt waren die Bakterien vollständig lysiert, sodass die Proben nun nach kurzzeitigem Zentrifugieren mit 200 µL AL-Puffer (Präparationspuffer) gemischt werden konnten. Anschließend erfolgte eine 10-minütige Inkubation der Proben bei 70 °C, um die zuvor hinzugegebene Proteinase K zu denaturieren und somit die ablaufende Reaktion zu stoppen. Nach einer erneuten Zentrifugation (8.000 min<sup>-1</sup>) wurde die Suspension mit 200 µL reinem Ethanol versetzt; daraufhin erfolgte eine weitere kurze Zentrifugation (8.000 min<sup>-1</sup>). Nun konnten die resultierenden Suspensionen vorsichtig jeweils auf den Membranfilter einer der vorbereiteten QIAamp®-Spinsäulen aufgetragen werden und bei 8.000 Umdrehungen pro Minute über 60 Sekunden zentrifugiert werden. Das entstandene Filtrat wurde verworfen. Die membrangebundene DNA wurde durch Zugabe von 500 µL AW1-Puffer (Waschpuffer) und anschließender Zentrifugation wiederum über 60 Sekunden bei 8.000 min<sup>-1</sup> gewaschen. Auch hier wurde der Durchlauf verworfen. Nun erfolgte der zweite Waschschrift mit 500 µL AW2-Puffer und anschließender Zentrifugation, nun allerdings bei 13.200 min<sup>-1</sup> über drei Minuten. Das Filtrat wurde abermals verworfen. Um letzte Pufferreste zu entfernen, wurden die QIAamp®-Spinsäulen in ein frisches Sammelröhrchen überführt und darin nochmals über 60 Sekunden bei 13.200 min<sup>-1</sup> zentrifugiert. Nun konnten die Spinsäulen jeweils in ein neues 1,5 ml Eppendorf-Gefäß gegeben werden, hier wurde nun als letzte Aktion der Elutionsschrift durchgeführt. Dabei wurden 180 µL der AE-Puffers (Elutionspuffer) auf die Membran pipettiert und bei Raumtemperatur zehn Minuten lang inkubiert. Schlussendlich wurden die Proben noch eine Minute bei 8.000 min<sup>-1</sup> zentrifugiert und der Überstand zur weiteren Verarbeitung bei 4 °C bzw. bei -20 °C aufbewahrt.

### 2.2.3 Konzentrationsmessung der DNA

Die Bestimmung der genomischen DNA-Konzentration wurde mit Hilfe des Nanodrop 1000 Spektrophotometers (peqlab, Thermo Fisher Scientific, Wilmington, USA) durchgeführt. Das Meßvolumen betrug 1 µL. Zur Leerwertmessung wurde der gleiche AE-Puffer verwendet, mit dem bereits der Elutionsschritt in der DNA-Isolierung durchgeführt wurde.

### 2.2.4 Bedingungen der Polymerasekettenreaktion (PCR)

Die PCR ist ein effizientes Verfahren zur multiplen Replikation von Nukleinsäuren *in vitro* und stellt eine der wichtigsten Methoden der heutigen Molekularbiologie dar. Die PCR wurde durchgeführt mittels zyklischer (i. d. R. ca. 30- bis 35-malige) Wiederholung drei prinzipieller Schritte: Denaturierung, Annealing und Elongation. Durch Zugabe von speziellen für die Gene zugeschnittenen Vorwärts- und Rückwärtsprimern wurde der zu amplifizierende Bereich von beiden Seiten genau definiert (s. Tab. 1). Die jeweiligen Amplifikationsschritte wurden mit Hilfe eines programmierten Thermocyclers realisiert. Da die Temperaturen auf bis zu 94 °C anstiegen, war die eingesetzte DNA-Polymerase hitzebeständig. In dieser Forschungsarbeit wurde die von Roche produzierte *Taq*-DNA-Polymerase verwendet, welche ursprünglich aus dem in heißen Quellen lebenden thermophilen Bakterium *Thermus aquaticus* gewonnen wurde. Eventuelle Kondensatbildung in den Deckeln der Probengefäße wurde durch einen auf 105 °C beheizten Gerätedeckel vermieden. Der Amplifikationsvorgang bestand aus folgenden sequentiellen Einzelschritten (vergleiche Tab. 7):

Zunächst wurden die Nukleinsäuren über 30 Sekunden auf 94 °C erhitzt, sodass diese denaturierten und durch Aufspaltung der Wasserstoffbrückenbindungen in ihre Einzelstränge geschmolzen wurden. Im ersten Zyklus wurde dieser Schritt über eine Minute durchgeführt, um eine komplette Auftrennung der DNA-Stränge gewährleisten zu können; dies wurde als Initialisierung bezeichnet.

Im zweiten Schritt fand durch Herabsenken der Temperatur die Primerhybridisierung statt, die Primer banden jeweils an das 3'-Ende der Matrizen. Die zu wählende Anlagerungstemperatur wurde abhängig von dem verwendeten Primer eingestellt; hierbei wurde auf den exakten Wärmegrad geachtet, da zu hohe bzw. zu niedrige Temperaturen das Ergebnis potentiell verfälschen und zu falsch negativen bzw. falsch positiven Amplifikaten führen können. Die jeweilig einzustellenden Gradzahlen für die verschiedenen Primerpaare sind in Tabelle 1 einsehbar.

Im letzten Schritt wurden die durch die Primer definierten Abschnitte der Einzelstränge durch die *Taq*-Polymerase zu Doppelsträngen amplifiziert. Die *Taq*-Polymerase lagerte sich in 3`-5`-Richtung an und fügte der Matrize freie Nukleotide an. Diese Polymerisationsphase wurde über jeweils 30 Sekunden bei 72 °C durchgeführt. Am Ende aller Zyklen fand die finale Elongation bei 72 °C über 5 Minuten statt. Nach der Vervielfältigungsphase verminderte der Thermocycler seine Temperatur auf 4 °C, sodass eine sichere Aufbewahrung der entstandenen Produkte gewährleistet wurde.

Der Mastermix ist in Tabelle 6 aufgeführt. Je nach jeweiliger Probenanzahl *n* wurde dieser Mix mit der Zahl *n* multipliziert und gleichmäßig auf die Reaktionsgefäße verteilt. Des Weiteren wurde zu jedem einzelnen Mastermix in einem weiteren Schritt 1 µL der jeweiligen Template-DNA hinzugegeben.

**Tabelle 6: Zusammensetzung und Konzentrationen des Mastermix**

Komponente	Konzentration	Menge in µL
10x PCR-Puffer	10x	2,5
dNTP`s (dATP, dCTP, dGTP, dTTP)	jeweils 10 mM	0,5
Vorwärtsprimer	10 µM	0,5
Rückwärtsprimer	10 µM	0,5
<i>Taq</i> -DNA-Polymerase	5 U / µL	0,25
Aqua bidest	-	19,75
Gesamtmenge Mastermix		24,0

Es wurden pro Amplifikationsdurchlauf jeweils eine Negativ- und eine Positivkontrollprobe mitgeführt. Die Negativkontrolle bestand aus 24 µL Mastermix ohne zugegebene Template-DNA, die Positivkontrolle aus der genomischen DNA eines für das jeweilige Rezeptorgen sicher positiven *C. jejuni*-Isolats als Template-DNA. Bei positiver Negativkontrollprobe bzw. negativer Positivkontrollprobe konnte von einer Kontamination des

Mastermixes ausgegangen werden. Infolgedessen wurden die Ergebnisse eines solchen Ansatzes verworfen und der Versuch wurde erneut durchgeführt.

**Tabelle 7: Programm des Thermocyclers für die Amplifikation der DNA**

	<b>Temperatur</b>	<b>Zeit</b>
<b>Stufe 1</b> Initialisierung	94 °C	1 min
<b>Stufe 2</b> Denaturierung	94 °C	30 sec
Annealing	siehe Tabelle 1	30 sec
Elongation	72 °C	30 sec
		} 34x
<b>Stufe 3</b> Finale Elongation	72 °C	5 min
<b>Stufe 4</b> Kühlung	4 °C	∞

### 2.2.5 Sequenzierung der DNA

Die Sequenzierung der DNA erfolgte mittels der Didesoxymethode nach Sanger. Bei dieser Methode wurde ausgehend von Primern ein Einzelstrang durch DNA-Polymerase verlängert, die vier Basen bestanden hier jedoch teilweise aus Didesoxynukleosidtriphosphaten (ddNTP`s). Da diese auch als Kettenabbruch-ddNTP`s bezeichneten Bausteine keine 3`-Hydroxygruppe besaßen, war eine weitere Amplifikation nach deren Einbau nicht mehr möglich. Je nach Einsatz einer der vier verschiedenen ddNTP`s ddATP, ddCTP, ddGTP oder ddTTP entstanden DNA-Fragmente unterschiedlicher Länge; die markierten Abbruchprodukte konnten anschließend mittels Kapillargelelektrophorese nachgewiesen werden. Somit konnten die komplementären Basensequenzen der ursprünglichen DNA-Matrize ermittelt werden. Zur Vorbereitung der Sequenzierung wurden 1 µL des Vorwärts- bzw. Rückwärtsprimers mit dem aufgereinigten PCR-Produkt (700 ng/µL) zusammengegeben und anschließend mit Aqua bidest auf ein Volumen von 7 µL aufgefüllt. Die Sequenzierungen wurden von der Firma Seqlab, Göttingen durchgeführt.

### 2.2.6 Agarose-Gelelektrophorese

Um die Präsenz und Größe der PCR-Amplifikate zu überprüfen wurde die Agarose-Gelelektrophorese durchgeführt. Die Gelelektrophorese ist ein Standardverfahren in der Molekularbiologie. Sie dient der Auftrennung von DNA-Fragmenten gemäß ihrer Ladung und somit auch gemäß ihrer Größe, denn da jede Base auch eine negativ geladene Phosphatgruppe besitzt, kann der Zusammenhang zwischen Größe und Ladung als direkt proportional angesehen werden. Dieses Phänomen ermöglichte bei Anlage einer elektrischen Spannung die Wanderung der Nukleinsäuren in Richtung Anode, wobei sich kleinere Teilchen schneller bewegten als größere. Das angefertigte Agarose-Gel wurde mit den eingebrachten PCR-Produkten in ein elektrisches Feld gelegt. Die Geschwindigkeit der DNA-Fragmente im Agarosegel war maßgeblich von der eingesetzten Konzentration an Agarose im Gel abhängig, welche sich direkt auf die Porengröße des Gels auswirkte.

Nach Gießen und Aushärten des Gels wurden die Geltaschen mit 10 µL PCR-Produkt gefüllt, die mit 3 µL eines Bromphenolblau-haltigen Ladepuffers vermischt worden sind. Das Bromphenolblau ermöglichte die Visualisierung des Gellaufs der ansonsten nicht sichtbaren Produkte. Am Ende des Gellaufs konnten die DNA-Fragmente durch den beim Gelgießen zugegebenen interkalierenden Fluoreszenzfarbstoff Midori-Green (Nippon Genetics Europe GmbH, Düren) unter UV-Licht sichtbar gemacht werden.

Um die PCR-Produkte elektrophoretisch aufzutrennen, wurden 1% -ige Agarosegele in 1x TRIS-Essigsäure-EDTA-Puffer (TAE-Puffer) verwendet. Hierzu wurden 160 mL 1x TAE-Puffer und 1,6 g Agarosepulver in einem Erlenmeyerkolben vermischt und anschließend in der Mikrowelle solange erhitzt, bis die Flüssigkeit eine klare Lösung ergab. Nach vorsichtigem Abkühlen durch Schwenken unter kühlem Wasser wurde 8 µL (5%) Midori-Green beigefügt. Nun wurde diese Lösung in eine mit Geltaschen-Kämmen präparierte Gelkammer gegossen. Nach der Auspolymerisation des Gels konnte dieses nun nach Entfernung der Kämmen in eine Elektrophoreseapparatur gegeben werden und mit 1% TAE-Puffer übergossen werden. Die PCR-Produkt-Ladepuffer-Mischung wurde anschließend in die vorgeformten Geltaschen pipettiert. Die erste und letzte Reihe der Gele wurden jeweils davon ausgespart, stattdessen wurde ein geeigneter Längenstandard (1kb GeneRuler, ThermoScientific, Waltham, USA) hinzugegeben, um die Größe der PCR-Produkte bei der Auswertung adäquat beurteilen zu können. Nachdem jede Reihe befüllt war, wurde eine konstante Spannung von 160 V über die Dauer von etwa 45-55 Minuten angelegt. Die Er-

gebnisse der Gelelektrophorese wurden unter UV-Licht (GelDoc, BioRad Laboratories, Berkley, USA) betrachtet und auch photographisch dokumentiert.

### **2.2.7 Verwendete Software zur statistischen Analyse und zum multiplen**

#### **Sequenzenabgleich**

Die MEGA6-Software wurde verwendet, um den UPGMA-Stammbaum („Hierarchisches Clustering“; *engl.*: unweighted pair group method using average linkages) zu konstruieren (Tamura *et al.* 2013). Die *C. jejuni* MLST Homepage <http://www.pubmlst.org/campylobacter/> wurde für die Zuweisung der Sequenztypen und klonalen Komplexe hinzugezogen (Jolley *et al.* 2004).

Mittels des BLAST-Algorithmus (Basic Local Alignment Search Tool, <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) konnten gleiche Regionen zwischen den verschiedenen biologischen Sequenzen nachgewiesen werden und zugleich die statistische Signifikanz dessen ermittelt werden.

Die LibreOffice Calc Software (The Document Foundation; <https://de.libreoffice.org/discover/calc/>) wurde verwendet, um die statistische Analyse durchzuführen. Hierbei wurde der  $\chi^2$ -Test genutzt um signifikante Unterschiede der Frequenzen der *tlp*-Gene innerhalb der festgelegten Gruppen nachzuweisen. Die erhaltenen p-Werte sind in *Tabelle 3* dargestellt.

Die Gruppierung der vielfachen Sequenzen der *tlp*-Gensequenzen wurde mit Hilfe des Clustal Omega Package durchgeführt (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>) (Sievers und Higgins 2014), welches in dem Bezugssystem für Programmhilfsmittel der EMBL-EBI Bioinformatik Homepage zu finden ist (Li *et al.* 2015).

### **2.2.8 MLST und phylogenetische Analyse**

Die Multilokus-Sequenztypisierung (MLST) ist eine Technik zur phylogenetischen Typisierung von Bakterienisolaten. Die Zuordnung zu Sequenztypen (ST) und klonalen Komplexen (CC, *engl.*: „clonal complex“) geschah mittels Amplifikation und Sequenzierung variabler Abschnitte von sieben *Housekeeping*-Genen. Durch die MLST kann weltweit die Verwandtschaft von Bakterienisolaten einer mikrobiellen Spezies ermittelt werden (Maiden *et al.* 1998). Der Vorteil der MLST liegt des Weiteren auch in der genauen Zuordnung von Bakterien, deren kulturelle Anzucht nicht gelingt (Urwin und Maiden 2003).

Die MLST-Typisierung von *C. jejuni* wurde mit den von Dingle *et al.* (2001) beschriebenen Amplifikations- und Sequenzierungsprimern durchgeführt. Die PCR wurde unter fol-

genden Zyklusbedingungen durchgeführt: 94°C über 1 Minute, gefolgt von 35 Zyklen mit 94°C über jeweils 120 Sekunden, danach 50°C über 60 Sekunden, 72°C über 60 Sekunden und als finaler Schritt 72°C über weitere 5 Minuten. Die aufgereinigten PCR-Produkte der sieben in das *C. jejuni/C. coli* MLST-Schema einbezogenen Gene wurden bei den Sequence Laboratories (SeqLab, Göttingen) sequenziert, wobei 10 pmol der entsprechenden Sequenzprimer benutzt wurden. Das MLST-Schema nutzt die sieben *Housekeeping*-Gene (siehe *Tabelle 8* und *9*): *aspA* (Aspartat-Ammonium-Lyase), *glnA* (Glutamin-Synthetase), *gltA* (Citrat-Synthetase), *glyA* (Serin-Hydroxy-Methyltransferase), *pgm* (Phosphoglycerat-Mutase), *tkt* (Transketolase) und *uncA* (ATP-Synthase). Die jeweiligen Genregionen weisen neben konservierten Sequenzen auch Einzelnukleotidpolymorphismen (eng. single nucleotide polymorphisms, SNPs) auf, die die Grundlage für die Unterteilung der Isolate in Sequenztypen bilden. Mit Hilfe der von Keith Jolley und Man-Suen Chan entwickelten MLST-Onlinedatenbank <http://pubmlst.org/campylobacter/> wurde zentral jedem Allel eine Allelnummer, jeder Allelkombination ein Sequenztyp und den eng verwandten Sequenztypen ein klonaler Komplex zugeschrieben.

**Tabelle 8: Primer für die PCR-Amplifikation zur *C. jejuni*-MLST-Typisierung**

(als Referenz diente die Onlinedatenbank <http://pubmlst.org/campylobacter/>)

Primerbezeichnung	Sequenz in 5'- 3'-Richtung
<i>aspA</i> -F-A9	AGTACTAATGATGCTTATCC
<i>aspA</i> -R-A10	ATTCATCAATTTGTTCTTTGC
<i>glnA</i> -F-A1	TAGGAACTTGGCATCATATTACC
<i>glnA</i> -R- A2	TTGGACGAGCTTCTACTGGC
<i>gltA</i> -F-A1	GGGCTTGACTTCTACAGCTACTTG
<i>gltA</i> -R-A2	CCAAATAAAGTTGTCTTGGACGG
<i>glyA</i> -F-A1	GAGTTAGAGCGTCAATGTGAAGG
<i>glyA</i> -R-A2	AAACCTCTGGCAGTAAGGGC
<i>tkt</i> -F-A3	GCAAACCTCAGGACACCCAGG
<i>tkt</i> -R-A6	AAAGCATTGTTAATGGCTGC
<i>pgm</i> -F-A7	TACTAATAATATCTTAGTAGG
<i>pgm</i> -R-A8	CACAACATTTTTTCATTTCTTTTC
<i>uncA</i> -F-A7	ATGGACTTAAGAATATTATGGC-3
<i>uncA</i> -R-A8	ATAAATTCCATCTTCAAATTCC



**Tabelle 9: Primer für die Sequenzierung zur *C. jejuni* - Typisierung**

(als Referenz diente die Onlinedatenbank <http://pubmlst.org/campylobacter/>)

<b>Primerbezeichnung</b>	<b>Sequenz in 5'- 3'-Richtung</b>
<i>aspA</i> -F-S3	CCAAGTCAAGATGCTGTACC
<i>aspA</i> -R-S6	TTCATTTGCGGTAATACCATC
<i>glnA</i> -F-S3	CATGCAATCAATGAAGAAAC
<i>glnA</i> -R-S6	TTCCATAAGCTCATATGAAC
<i>gltA</i> -F-S3	CTTATATTGATGGAGAAAATGG
<i>gltA</i> -R-S6	CCAAAGCGCACCAATACCTG
<i>glyA</i> -F-S3	AGCTAATCAAGGTGTTTATGCGG
<i>glyA</i> -R-S4	AGGTGATTATCCGTTCCATCGC
<i>pgm</i> -F-S5	GGTTTTAGATGTGGCTCATG
<i>pgm</i> -R-S2	TCCAGAATAGCGAAATAAGG
<i>tkt</i> -F-S5	GCTTAGCAGATATTTTAAGTG
<i>tkt</i> -R-S6	AAGCCTGCTTGTTCTTTGGC
<i>uncA</i> -F-S3	AAAGTACAGTGGCACAAGTGG
<i>uncA</i> -R-S4	TGCCTCATCTAAATCACTAGC

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Überblick

#### 3.1.1 Analyse der Chemorezeptorgene in *C. jejuni* Genomsequenzen

In dieser Dissertationsarbeit wurde als Erstes in den 142 *C. jejuni* Genomsequenzen, die in der NCBI Genomdatenbank hinterlegt waren, mittels BLAST-Suche (Basic Local Alignment Search Tool) nach Homologen und Paralogen für alle 13 bis dato bekannten Chemorezeptorgene gesucht.

Diese BLAST-Suche zeigte, dass die Gene *tlp1*, *tlp2*, *tlp3*, *tlp6*, *tlp8*, *tlp9* und *tlp10* ubiquitär vorhanden waren bei einem Deckungsgrad von ca. 100% und einer Sequenzübereinstimmung von ca. 97%. Eine Sequenzvariabilität war lediglich in geringem Maße vorhanden und es konnten keine Pseudogene auf den einzelnen Genloci nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu wurden signifikante Variationen der Gene *tlp4*, *tlp5*, *tlp7* und *tlp11* gefunden. Hierbei wurden zwei bisher unbekannte und nicht vorbeschriebene Chemotaxisrezeptorgene gefunden. Diese wurden als *tlp12* und *tlp13* benannt. Des Weiteren wurde ein *tlp5*-Pseudogen entdeckt.

#### 3.1.2 Ermittlung der Verteilung von *transducer-like*-Proteingenen in phylogenetisch unterschiedlichen *C. jejuni*-Erregerstämmen

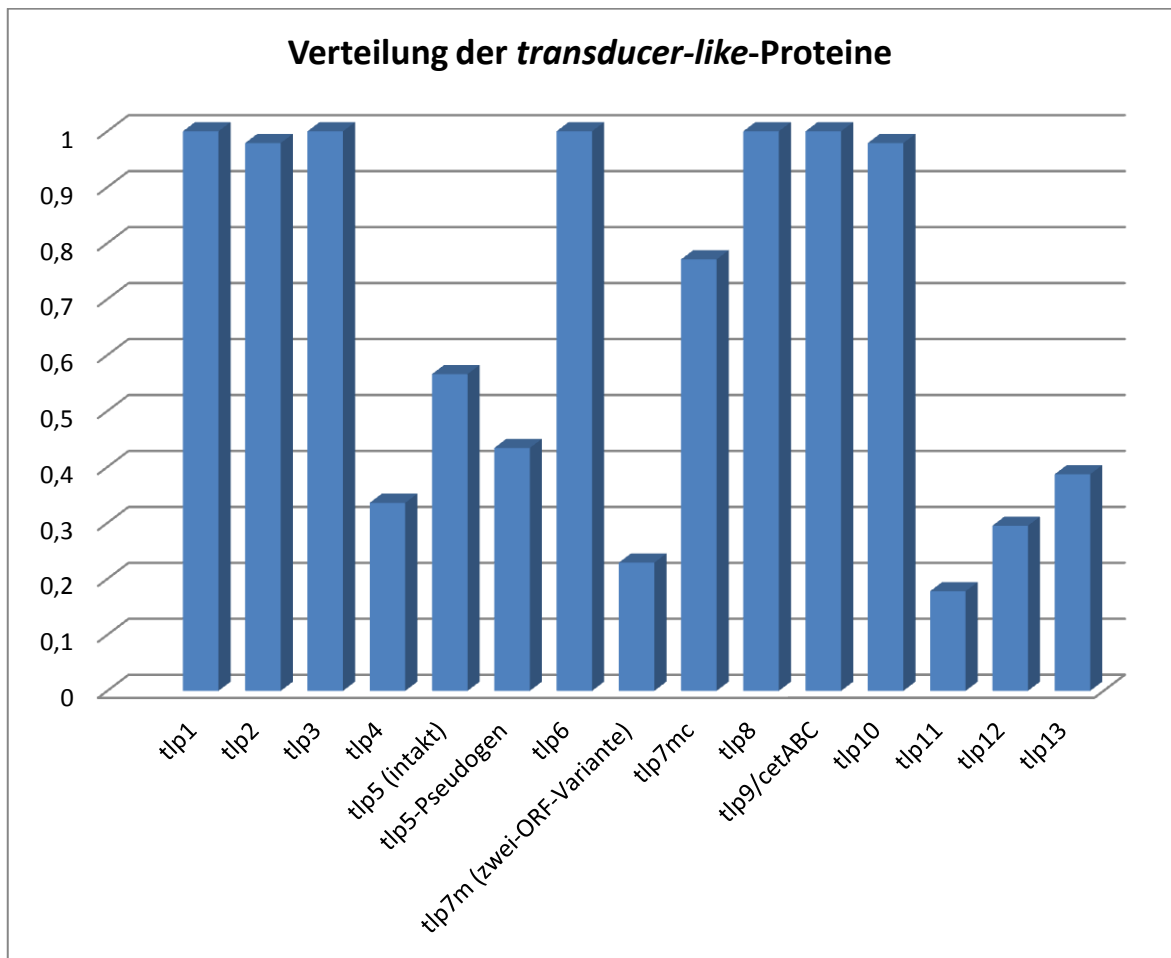
Darüber hinaus wurde die Verteilung der nunmehr 15 bekannten *transducer-like*-Proteingene in 292 *C. jejuni*-Isolaten (s. Tab. A1 im Anhang) ermittelt, welche aus Menschen, Hühnern, Puten, Rindern und einigen wenigen Isolaten aus anderer Herkunft isoliert wurden.

Im Zuge dieser Arbeit wurde die aufgestellte Hypothese bestätigt:

Im Hinblick auf die Ergebnisse erwiesen sich die folgenden 5 der 15 Chemotaxisrezeptorgene als ubiquitär, *tlp1* (*ccaA*), *tlp3* (*ccmL*), *tlp6*, *tlp8* und *tlp9/cetABC* (inklusive der beiden zytoplasmatischen Ligandenproteine *cetA*, *cetB/aer2*, *cetC/aer1*). Nahezu ubiquitär nachzuweisen waren die Rezeptorgene *tlp2*, für welches 97,9 % (286/292) der *C. jejuni*-Isolate positiv getestet worden sind und *tlp10* mit 97,9 % (286/292) positiven Nachweisen. Mit 77,1 % (225/292) war *tlp7<sub>mc</sub>* einer der häufig vorkommenden Rezeptoren innerhalb der untersuchten Isolate. Seine zweigeteilte ORF-Variante *tlp7<sub>m</sub>* konnte in 22,9 % (67/292) aller Isolate gefunden werden.

Für das intakte *tlp5*-Gen stellten sich 56,6 % (165/292) aller Isolate als positiv heraus, wogegen 43,4 % (127/292) positiv für das Pseudogen waren. Dabei waren alle der geteste-

ten 292 Isolate für eines dieser beiden Gene positiv. Das Chemorezeptorgen *tlp13* konnte in 38,7 % (113/292) aller Proben gefunden werden. In 33,6 % (98/292) aller Isolate war das Gen *tlp4* vorhanden. Die Isolate, welche für das Chemorezeptorgen *tlp12* positiv waren, stellten einen Anteil von 29,5 % (86/292) aller Isolate dar. Lediglich ein Anteil von 17,8 % (52/292) aller Isolate wurden positiv für das Chemotaxisrezeptorgen *tlp11* getestet (vergleiche *Abb. 6*).



**Abb. 6:** Prozentuale Verteilung der *transducer-like*-Proteine innerhalb der 292 untersuchten *C. jejuni*-Isolate

### 3.2 Gensequenzunterschiede der Rezeptorgene *tlp4* und *tlp12*

Das Chemorezeptorgen *tlp4* (*cj0262c*) war im NCTC11168-Genom 1998 bp lang. Es grenzte an das Gen *cj0261c*, welches eine S-Adenosylmethionin (SAM)-abhängige Methyltransferase kodierte, und an das Gen *zupT*, welches einen Zinktransporter kodierte (*Abb. 7A*). Zwischen diesen Genen konnte in der Genomsequenz des Stammes R14 ein Chemorezeptorgen (*H730\_01610*), das 1989 bp lang war, entdeckt werden. Die 173 bp an

dem 5'-Ende und die 1134 bp an dem 3'-Ende von *H730\_01610* zeigten eine signifikante Sequenzübereinstimmung zu dem *tlp4*-Gen (*cj0262c*) des NCTC11168-Genoms: 91 % (158/173), beziehungsweise 96 % (1085/1136) (siehe *Abb. 8* und *Abb. 9*).

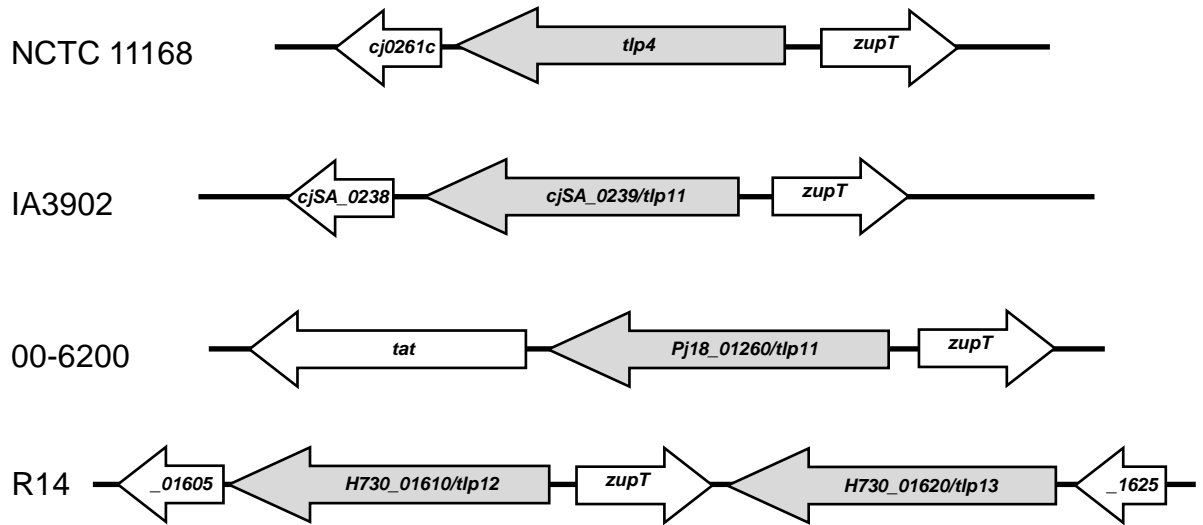
Im Gegensatz dazu zeigte der 682 bp lange Abschnitt zwischen diesen nahezu identischen Sequenzregionen keine signifikante Übereinstimmung der Basensequenz. Daraus wurde geschlussfolgert, dass es sich bei *H730\_01610* (im R14-Genom) um einen neuen Rezeptor handeln muss. Homologe zu dem Chemorezeptorgen *H730\_01610* wurden demzufolge als *tlp12* bezeichnet. Homologe des Chemorezeptorgens *cj0262c* (*tlp4* im Stamm NCTC 11168) werden im Folgenden weiterhin als *tlp4* benannt. Die gesamte Sequenzübereinstimmung zwischen *tlp4* und *tlp12* beträgt 83 % (1679/2023) für die DNA-Sequenz (s. *Abb. 8*).

### **3.3 Gensequenzunterschiede der Rezeptorgene *tlp11* und *tlp13***

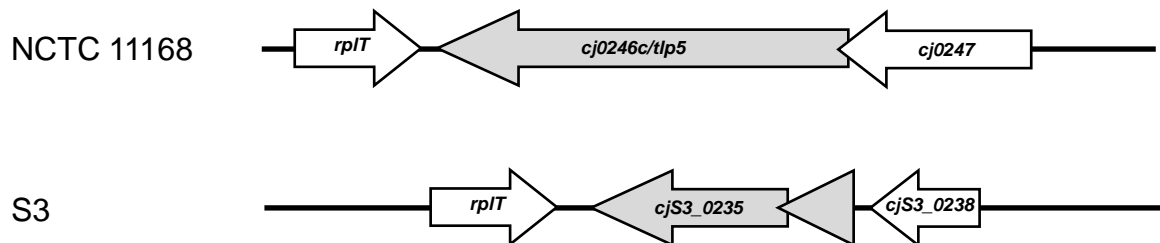
Stromabwärts des *zupT*-Gens konnte im R14-Genom ein weiteres methylakzeptierendes Chemotaxisproteingen identifiziert werden, und zwar *H730\_01620* (vergleiche *Abb. 7A*). Dieses Gen war 2.118 bp lang, wobei die 951 bp am 3'-Ende, welche die zytoplasmatische Signaldomäne kodierten, eine 98 %-ige (936/953) Sequenzübereinstimmung mit der zytoplasmatischen Signaldomäne des Gens *tlp4/cj0262c* und eine 94 %-ige (897/954) Übereinstimmung mit *tlp12* (*H730\_01610*; s. *Abb. 7A* und *Abb. 8*) zeigten.

Im Gegensatz dazu waren die 2.004 bp von *H730\_01620* am 3'-Ende zu 85 % identisch mit dem Gen *cjj8425\_0287* des *C.-jejuni*-Stammes 84-25, welches als *tlp11* benannt wurde (Day *et al.* 2012). Interessanterweise unterschieden sich die ersten 114 bp von *H730\_01620* von dem Rezeptorgen *tlp11* (*cjj8425\_0287*); demzufolge wurde daraus geschlossen, dass auch *H730\_01620* ein neues Rezeptorgen darstellte. Infolgedessen wurden Homologe des Rezeptorgens *H730\_01620* in dem Stamm R14 als *tlp13* bezeichnet. Homologe des Chemorezeptorgens *cjj8425\_0287* wurden im Weiteren als *tlp11* benannt. Die gesamte DNA-Sequenz-Übereinstimmung zwischen den beiden Rezeptorgen *tlp11* und *tlp13* betrug 85 % (1703/2006). Allerdings existierten einige Variationen in den Nachbarregionen von *tlp11*. Im Stamm IA3902 beispielsweise war *tlp11* zwischen dem SAM-abhängigen Methyltransferasengen *cjSA\_0238* und dem Zinktransportergen *zupT* lokalisiert, wo es das *tlp4*-Gen komplett ersetzte. Im Erregerstamm 00/6200 wurde *tlp11* von dem Transkriptionsinitiator-Proteingen *tat* und dem Zinktransportergen *zupT* flankiert (siehe *Abb. 7*).

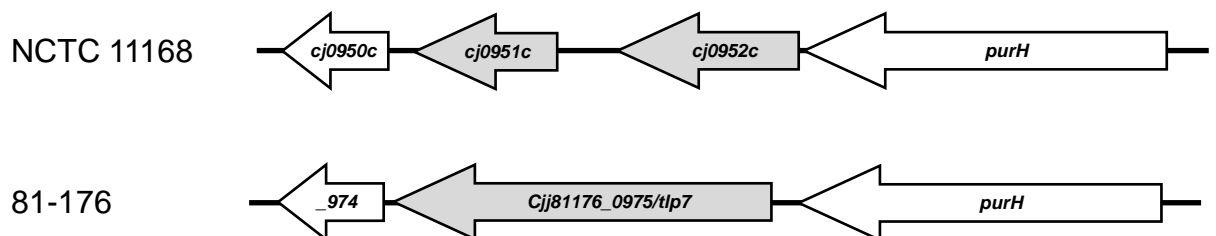
**A: *tlp4*, *tlp11*, *tlp12* and *tlp13***



**B: *tlp5***



**C: *tlp7***



**Abb. 7: Schema der *tlp4*, *tlp11*, *tlp12* und *tlp13*, *tlp5* sowie *tlp7* Genloci in verschiedenen *C.-jejuni*-Genomen.**

**A:** Das *tlp4*-Gen befindet sich stromaufwärts vom 5'-Ende des *zupT*-Gens im NCTC11168-Genom. Im IA3902-Genom befindet sich stromaufwärts von *zupT* jedoch ein Gen, welches für *tlp11* kodiert und das *tlp4*-Gen ersetzt. Darüber hinaus ist das Gen für die SAM-abhängige-Methyltransferase stromaufwärts von *tlp4* (NCTC11168) oder *tlp11* (IA3902) im Stamm 00-6200 durch das *tat*-Gen (Transkriptions-Initiierungsprotein) ersetzt.

Im R14-Genom ist das Gen, welches für *tlp12* kodiert, stromabwärts von *zupT* zu finden. Stromabwärts des *zupT*-Gens befindet sich das *tlp13*-Gen.

**B:** Das *tlp5*-Gen, *cj0246c* im NCTC11168-Genom, ist im Stamm S3 durch ein verkürztes und in zwei ORFs geteiltes Pseudogen ersetzt.

**C:** Das *tlp7*-Gen ist durch ein Stoppkodon an der Position 891 663 des NCTC11168-Genoms zweigeteilt, wodurch der ORF in die zwei Teile *cj0952c* und *cj0951c* gespalten wird. Im Stamm 81-176 ist das Rezeptorgen *tlp7* ein zusammenhängendes Gen.

### **3.4 Multipler Sequenzabgleich von *tlp2*, *tlp3*, *tlp4*, *tlp11*, *tlp12* und *tlp13***

Der multiple Sequenzabgleich von *tlp2* (*cj0144*), *tlp3* (*cj1564*), *tlp4* (*cj0262c*), *tlp11* (*cjj8425\_0287*), *tlp12* (*H730\_01610*) und *tlp13* (*H730\_01620*) zeigte, dass *tlp4*, *tlp11*, *tlp12* und *tlp13* eine phylogenetisch verwandte Gruppe gebildet haben. *Tlp2* und *tlp3* hingegen waren weiter entfernt und wiesen daher eine weniger enge Verwandtschaft mit *tlp4*, *tlp11*, *tlp12* und *tlp13* auf. Die DNA-Sequenzübereinstimmung der Rezeptorgene *tlp12* und *tlp2* bzw. *tlp12* und *tlp3* betrug jeweils lediglich 50 % (994/1989). Im Vergleich dazu betrug die DNA-Sequenzidentität von *tlp13* mit *tlp2* bzw. *tlp13* mit *tlp3* jeweils 44,2 % (936/2118). Damit war die Sequenzgleichheit signifikant niedriger verglichen mit der zwischen *tlp4* und *tlp11* (vergleiche Abb. 8 und Abb. 9).

tlp11\_CJJ8425\_0287 ATG-----AATTTTCGTTCTCTAAATTTAAG-----TACTAAGCTTATT  
 tlp13\_H730\_01620 -----ATGTTTAGACTATCGAGCGTTAG-----TTCAAAACTCTTA  
 tlp4\_cj0262c atgcaatcaata-----aattc-aggcaaa--tccggttggaaatttcagctaagcttacg  
 tlp12\_H730\_01610 ATGCAATCAATA-----AATTC-AGGCAAA--TCCGTTGGAATTTACAGCCAAGCTTACG  
 tlp2\_cj0144 -----atgaaaaagcgtaaaattgaagggttccg  
 tlp3\_cj1564 atgctaaaaatacaaaagattaaaaggaaaaataatgaatagattataaaatcaaaccttcc  
\* \*\* \*

tlp11\_CJJ8425\_0287 TTATCTGTAGCAATAGGAATAGTCTTAGGCATAGTTGTAATTTGTTTAAACCGTATCTATA  
 tlp13\_H730\_01620 TTATCAGTTGCTATTAGTGTATTGTAGCTATAGCTCTTATGATTGCTATTGTTTCTTTT  
 tlp4\_cj0262c ctatgggttggaaatttttagttgtattaatttttagcaatcacaaagtgcatta-----  
 tlp12\_H730\_01610 CTATGGGTTGGAATTTTAGTTGTATTAATTTTAGCAATCACAAAGTACCGTTA-----  
 tlp2\_cj0144 ctgattgcaaatttaaatcgcagtagtgtgtttgataatttttaggtgttgtaa-----  
 tlp3\_cj1564 ctcattgcaaatttaattgcaatttttgccttaattgttctaggtattgttaa-----  
\* \* \* \* \* \* \*

tlp11\_CJJ8425\_0287 TATACTTCTAAAAGTATGGAAAAAGAAGCTAAAGATTCAATATTTTTGTCTTCAAAAAGA  
 tlp13\_H730\_01620 CAAGTTGCTTCATATTCAGAAAAAGAAGCCAAAGATACTATTTTTTATCTTCAAAAAGA  
 tlp4\_cj0262c ----gttact-----ttgattcggagaacaata  
 tlp12\_H730\_01610 ----GTTACT-----TTGATGCCAAAAATCACA  
 tlp2\_cj0144 ----cattta-----tatttgtaaagcaagcaa  
 tlp3\_cj1564 ----gttttt-----atttacaaaaacctcac  
\*

tlp11\_CJJ8425\_0287 TATGTCAATTACATGGAAGGTATTTTAAATGAAGAGGTTGTATTAACAAAAGCAATGGCC  
 tlp13\_H730\_01620 TATGTGAATTATATACAAGGTATTTTAAATGAAGAAGTCACACTAACCAAAGGAGTTGCT  
 tlp4\_cj0262c catatgaattgctaaaa-----gacactcagttaaaaactatgcaagatgtggat  
 tlp12\_H730\_01610 CATATGAATTGCTAAAA-----GAAAATCAATTA AAAACTATGGATGATGTTAAA  
 tlp2\_cj0144 ttttcatgaagttgtg-----aatgctgaaataaattatgttaaaacggctaaa  
 tlp3\_cj1564 tatatgaaagcactctt-----aaaaatcaaacctgacctacttaagctcacacaa  
\* \* \* \* \* \*

tlp11\_CJJ8425\_0287 ACTTCATTAATGAAATATTTTCAAAAAATGATCAAGTGAACGCTGGTATAATAGAAAGT  
 tlp13\_H730\_01620 ACATCGTTAAATGAAATGTTTCAAAAATAATGATCATGTAGATATCGATTAAATTGAAAGT  
 tlp4\_cj0262c gctttctttaaaagctatgctatgtcaaaaagaaatggattcaaatactagccaatgag  
 tlp12\_H730\_01610 GTAACTTTGA AACCTATTCCAAAAGCAAGCAAAAAGCTATAGAGGTTCTAGCATATGAA  
 tlp2\_cj0144 aattctatagagctttttaaggcaagaaattcttttagctcttgaaagtttagctaaaagt  
 tlp3\_cj1564 tctaccggtgaagatttccggtccacaaatcaatcttttactagagcttagaaaaagat  
\* \* \*\* \*\* \*

tlp11\_CJJ8425\_0287 CTTTTAAGAAATACATTTGATAGTAGCGGTTATGCAGCTTATGCTTTTCTTTATTTACAG  
 tlp13\_H730\_01620 CTTATAAAAAATACTTTT GATAGTAGTCACTATGCAGCATATACATTTCTCTATTTAAAA  
 tlp4\_cj0262c ctaacaaatcgtcctg-----atat-----gagc  
 tlp12\_H730\_01610 AGTGCTAAAAAAT-----T-----AGAA  
 tlp2\_cj0144 attttaagcatcctatagaacagttaga-----tagt  
 tlp3\_cj1564 atcgcgaacttaccttatcaatctttaat-----cact  
\*

tlp11\_CJJ8425\_0287 GATTCTTCTATACTAACTCATGTTGAATCTTTAGATAAAAAATTTAAAAACTCTGATGGC  
 tlp13\_H730\_01620 GATACTACTGTATTAAGTGATATGCAGAATGTAGATAAAAAATATATTAGCCCAGATGGA  
 tlp4\_cj0262c gatgaagagctaatcaat---cttatcaaagtaattaaa-----aaagttaa----  
 tlp12\_H730\_01610 GATGAAAATATTTCACTG---CTTCTAGATTCTTTAAG-----AAGCGTT-----  
 tlp2\_cj0144 caagatgctttaatgcattatgttggaaaagatttaagaatttttagagatgctgg----  
 tlp3\_cj1564 gaagaaaatattattaacaatggttggtccaatattgaaatattatcgtcatagtat----  
\* \* \* \*\*



tlp11\_CJJ8425\_0287 AAAAGTGTAACAATGATTTTTTTTTGATGAAACCACAGGGAAGGCAGGCGGTATTAAGC  
 tlp13\_H730\_01620 AAAACTTTTTCTATGATATTTTTGATCAAATAGCAGAAAAATCTGGTGAATAACTACT  
 tlp4\_cj0262c --tgactacgatctagtttatgtaggatttgataatacagga-----aaaaattat  
 tlp12\_H730\_01610 --TGATTTTGATATGTGTTTTATTGCGTTTGATAAAAAACAAC-----AAAATGCTT  
 tlp2\_cj0144 --aagattcttagcagtttatattgctcaaccaaaggcgaacttggtgtaagcgatcca  
 tlp3\_cj1564 --aaatgcactaaatgtttatttaggtttaacaatggaaaagtcttacttagtcaaaa-  
 \* \* \* \* \*

tlp11\_CJJ8425\_0287 ATACACGCTCCGAGCAATTTTTCACAACT-----ACCTATTATAGAAAAAATT  
 tlp13\_H730\_01620 ATTTCAACTCCAAACAATTTCTCTCAATT-----AAATCTAATACAAAATATC  
 tlp4\_cj0262c caatctgatgatcaaatcttagatct-----atcaaaagggttagatct  
 tlp12\_H730\_01610 TTGTCAAATGGAACAATTTTAGATAA-----AAAATCAAATTTTGACATT  
 tlp2\_cj0144 gactctgatgctaaaaatttagattttggaacttatggaaaagcgtgataattatgatgct  
 tlp3\_cj1564 --atctaag-----atgcaaaaatgcctgaattacgtgatgatttagatata  
 \* \* \*

tlp11\_CJJ8425\_0287 AAAAAAATGCAAGATATGGTGAT---CTTGATACTATATTTTAGGATCTCCATCAAGA  
 tlp13\_H730\_01620 GAACAAAATGCAAAATATGGAGAT---AAAGACTCTGTTTTGTAGGTTCTCCTAGAAAA  
 tlp4\_cj0262c aaaaatcgtccttggtataaaagctgcaaaagaagcaaaaagcttatagtaacagaacct  
 tlp12\_H730\_01610 ACAAACAAATTTGGTATCAAGAAGCAAAAAATAACAAAGGCATCACAATAACTCAACCA  
 tlp2\_cj0144 agaacaagagagatttatatagaagcagttaaacaataaactttatattaccacct  
 tlp3\_cj1564 aagacaaaagattggtatcaagaagctttaaaaaacaatgatattttgttacaccagca  
 \* \* \* \* \*

tlp11\_CJJ8425\_0287 CTTAATTATGATGGAACAGAATTTTTAGGTATTAACCTAGGAATGCCCTTATTTAATAAA  
 tlp13\_H730\_01620 CTTAATTATGATAATAATGAATTTTTAGGTATAAATTCGGTATGCGCTATTTTAACAAT  
 tlp4\_cj0262c tataaatccgcgctagcggagaggttggtttaactacgctgctccattttatgataga  
 tlp12\_H730\_01610 TATAATCCCCTATAGATCAAGAGATTGGTATAACTTATGTTTTCCCTATTTATAA---A  
 tlp2\_cj0144 tatattgatgtaactacaatttaccttgctttacatattctattccgctttataa---a  
 tlp3\_cj1564 tatttagatacagttttaaaacaatatgtaataacgtattctaaagctatttataa---a  
 \* \* \* \* \*

tlp11\_CJJ8425\_0287 GAAGGAAAATTTATCGGTATAGTTGGATTACTTTTGATTTTTTAGAAATATCTGAAACA  
 tlp13\_H730\_01620 AAGGGCAAATTTATTGGAGTTATAGGATATACTATAGATTTACTAGAAATTTCCGAGACT  
 tlp4\_cj0262c aatggaaatcttagaggtggtgtaggtggagattatgatctagcaaatcttcaaccaat  
 tlp12\_H730\_01610 AATAATCAACTTATAGCTTTCGTTGGAGGCGATTACAATCTAGATAAAATTTCCAAAGAT  
 tlp2\_cj0144 gatggtaaatcttagaggggtttggctgtagata-----tcttgccgagat  
 tlp3\_cj1564 gatggtaaaatcataggggtactgggtgctgata-----taccatcagaagat  
 \* \* \* \* \*

tlp11\_CJJ8425\_0287 ATACTTGATCCGAAGTTAGATTTTTATAAAGATGATTTAAGATTTTTAATAACAGATCAA  
 tlp13\_H730\_01620 ATATTGGATCCAAAATTCGACTTTTTTGAAGGGGATCTAAGATTTCTAATGAACGATCAG  
 tlp4\_cj0262c gtttaact--gtaggaaaatcagacaatacctttactgaagtacttgat----tcagaa  
 tlp12\_H730\_01610 GTATTATCT--TTAGGACACTCATCAACTACTTATGCTGCTGTTTATGAC----TCTGAA  
 tlp2\_cj0144 ttgcaagct--gaatttgaa-----aat----ttacca  
 tlp3\_cj1564 ttgcaaaat--tagttgca-----aaa----accct  
 \* \* \* \*

tlp11\_CJJ8425\_0287 GGTGTTATTGTTATTCATAAGAACAAGATGCTATTTTAAAAACTTTACC-----TGAA  
 tlp13\_H730\_01620 GGTATTATTGCTATTCATAAAAAATAAAATGCAATTTTAAAAACTTTATT-----TGAT  
 tlp4\_cj0262c ggaacaatactttttaatgatgaagttgctaaaataactaaca---aaacagaattaagt  
 tlp12\_H730\_01610 GGAAGAATTATTTTTCACGAAGTGCTTGATAGAATTTTAAACA---AAAAACTTTAAGC  
 tlp2\_cj0144 ggtagaactttttgattttgatgaagaaaataaagatatttggcttctacagacaaagctctt  
 tlp3\_cj1564 ggaaatacttttttatttgatcaaaaaataaataatttgcagcaaccaataaagaatta  
 \*\* \* \* \* \*



tlp11\_CJJ8425\_0287 ATTAATCAAGATGCATCCGTGCAATTAATTATT---GATGCTGTTAAAAATCATAAAGAT  
tlp13\_H730\_01620 ATTAACAAAGATCAATCTGCTCAATTAATTGTT---GAGGCAGTTAAAAACATAAAGAT  
tlp4\_cj0262c atcaatatcgccaatgcaatcaaagcaaatcctgctcttattgatccaagaaaccaagat  
tlp12\_H730\_01610 GTTAATATTGCTAACGCCATAAAAAGAAAACCTGAATATATAGATCCAAATAAGAGAGAT  
tlp2\_cj0144 ttacaaaaaggttatgatattagtgcattgca---aatcttgctaaaactaaagaggat  
tlp3\_cj1564 ttaaatccatccattgatcattctcctgttcta---aatgcatataaactcaatggtgat  
\* \* \* \* \*

tlp11\_CJJ8425\_0287 TTGATTATTGATAAATTATGTTGACTTAAGCGGAAATTTAAGCTATGCAGGAGTTGCTTCA  
tlp13\_H730\_01620 GAAATCTTAGATAAATTATATTGCCTCAACAGGAGATCTTAGTTATGCTAGTATCTCTTCA  
tlp4\_cj0262c ac---tttatttaccgctaaagatcaccaaaggc--gtagattatgcatattatgtgaaat  
tlp12\_H730\_01610 AT----TCTTTTTCTGTATTGATGATAAAGGT--ATCAAATATGAAACAATGTGCGAT  
tlp2\_cj0144 cttgaaccttttgagtatactagacaaaagatg--gtaatgaaagatttgctgat--gc  
tlp3\_cj1564 aacaacttcttctctta-----taagttaata--atgaagaaagacttgagactt--gt  
\* \* \*

tlp11\_CJJ8425\_0287 TTTAGTACCTTAGGAGATTCGAGTCATTGGAGCATGGTTGTAACAGCACCTAAAAAATCT  
tlp13\_H730\_01620 TTTAGCACTTTAGGTAATTCTAGTCATTGGAGTGTAAATGTAACAGCTCCTAAAAAATCA  
tlp4\_cj0262c tctgcttttaaatccttttatttagaatttgtaaat-----aacagaaaacaaagtt  
tlp12\_H730\_01610 ACAAGTTCCAATGGATTATATCGTATTGTGCTGT-----AACTTTAGATAGTAAAC  
tlp2\_cj0144 acaaaggtttctggaatttataactgcttgctgcttg-----agagccaatagaacaa  
tlp3\_cj1564 actaaagtctt---tgcttatacagcttgattac-----cgaaagcgctgatatt  
\* \* \* \* \*

tlp11\_CJJ8425\_0287 ATTTTTCGCCTTTATATGAATTGAATTTTATTCTAATTAGTATTGCAATTATTGTATTA  
tlp13\_H730\_01620 GTTTTTCAGCCCTTTATATAAACTACAATATATTATTATTAGTGTGCTATAATAGCACTA  
tlp4\_cj0262c tataccgaagctgtaattcttattttaaagaagttatagttggtattatagctata  
tlp12\_H730\_01610 TATACTCCGCTGTAAATTCATTTTAATGAAACAAGTTATAGTCGGTATTATAGCTATA  
tlp2\_cj0144 atagaagctccagtttataaaaattgcatttatacaaaactgagattggtatttttacaagt  
tlp3\_cj1564 ataaataaacctatttataaaagctgcatttattcaagccattggtgctcattattgtagta  
\* \* \* \* \*

tlp11\_CJJ8425\_0287 ATTGCTATTTTAATTATTCTGTATTTTTTGTGTAATAAATATAGTAGGATCTAAACTTCCA  
tlp13\_H730\_01620 ATTGCTATTTTGGCTGTTGCTACTTTTTTATAAGAAAATCATAGGCTCTAGAAATCCT  
tlp4\_cj0262c atcatagctttaactc---tgattagatttttaatacagcagaagctctctcccacttgca  
tlp12\_H730\_01610 ATCATAGCTTTAATCT---TGATTAGATTTTTAATCAGCAGAAGCCTCTCCCCTTGCA  
tlp2\_cj0144 attattagcgtcatcc---tcctttatttcacgtatcaaaaacacctctcccacttgca  
tlp3\_cj1564 gtatttagcgtcatcc---tcctttatttcacgtatcaaaaacacctctcccacttgca  
\* \* \* \* \*

tlp11\_CJJ8425\_0287 ATTATAGTTAATTCCCTGCAAAATTTCTTTGACTTTATCAACTATAAAAACAAAAATGTT  
tlp13\_H730\_01620 CTTATACTTAAGTCTTTGGAAAATTTCTTTGCTTTTTTAAATCATGAAAAAATAGAAAGTT  
tlp4\_cj0262c gctatccaaacaggtttaacttcattcctttgattttatcaactataaaaacaaaaatggt  
tlp12\_H730\_01610 GCTATCCAACAGGTTTAACTTCATTCCTTTGATTTTTATCAACTATAAAAACAAAAATGTT  
tlp2\_cj0144 gctatccaaacaggtttaacttcattcctttgattttatcaactataaaaacaaaaatggt  
tlp3\_cj1564 gctatccaaacaggtttaacttcattcctttgattttatcaactataaaaacaaaaatggt  
\* \* \* \* \*

tlp11\_CJJ8425\_0287 TCTACTATAGAAGTAAAAAGCAATGATGAATTTGGACAAATCTCAAATGCTATCAATGAA  
tlp13\_H730\_01620 CAGACAATTGAAATTAAGCTAATGATGAATTTGGCAAAATGGGTAATAATATCAACGAA  
tlp4\_cj0262c tccactatagaagtaaaaagcaatgatgaatttgacaaaatctcaaatgctatcaatgaa  
tlp12\_H730\_01610 TCTACTATAGAAGTAAAAAGCAATGATGAATTTGGACAAATCTCAAATGCTATCAATGAA  
tlp2\_cj0144 tccactatagaagtaaaaagcaatgatgaatttgacaaaatctcaaatgctatcaatgaa  
tlp3\_cj1564 tccactatagaagtaaaaagcaatgatgaatttgacaaaatctcaaatgctatcaatgaa  
\* \* \* \* \*



tlp11\_CJJ8425\_0287 AACATTCTTGCTACTAAAAGAGGCTTAGAACAAGACAATCAAGCCGTTAAAGAATCAGTT  
tlp13\_H730\_01620 AACATTCTTGCTACTAAAAGAGGCTTAGAACAAGACAATCAAGCCGTTAAAGAATCAGTT  
tlp4\_cj0262c aacattcttgctactaaaagaggcttagaacaagacaatcaagccgtaaagaatcagtt  
tlp12\_H730\_01610 AACATTCTTGCTACTAAAAGAGGCTTAGAACAAGACAATCAAGCCGTTAAAGAATCAGTT  
tlp2\_cj0144 aacattcttgctactaaaagaggcttagaacaagacaatcaagccgtaaagaatcagtt  
tlp3\_cj1564 aacattcttgctactaaaagaggcttagaacaagacaatcaagccgtaaagaatcagtt  
\*\*\*\*\*

tlp11\_CJJ8425\_0287 CAAACCGTATCAGTTGTAGAAGGTGGTAATTTAACAGCAAGAATTACTGCTAATCCAAGA  
tlp13\_H730\_01620 CAAACCGTATCAGTTGTAGAAGGTGGTAATTTAACAGCAAGAATTACTGCTAATCCAAGA  
tlp4\_cj0262c caaacctgatcagttgtagaaggtggtaatttaacagcaagaattactgctaataccaaga  
tlp12\_H730\_01610 CAAACCGTATCAGTTGTAGAAGGTGGTAATTTAACAGCAAGAATTACTGCTAATCCAAGA  
tlp2\_cj0144 caaacctgatcagttgtagaaggtggtaatttaacagcaagaattactgctaataccaaga  
tlp3\_cj1564 caaacctgatcagttgtagaaggtggtaatttaacagcaagaattactgctaataccaaga  
\*\*\*\*\*

tlp11\_CJJ8425\_0287 AACCCACAGCTTATTGAACTTAAAAATGTTCTAAATAAACTTCTTGATGTTTTACAAGCT  
tlp13\_H730\_01620 AACCCACAATGATTGAACTTAAAAATGTTCTAAATAAACTTCTTGATGTTTTACAAGCT  
tlp4\_cj0262c aaccacagcttattgaaacttaaaaatgttctaaataaacttcttgatgttttacaagct  
tlp12\_H730\_01610 AACCCACAATTAATAGAATTAAAAAATGTTCTAAATAGACTTCTTGATGTTTTACAAGCT  
tlp2\_cj0144 aaccacagcttattgaaacttaaaaatgttctaaataaacttcttgatgttttacaagct  
tlp3\_cj1564 aaccacagcttattgaaacttaaaaatgttctaaataaacttcttgatgttttacaagct  
\*\*\*\*\* \* \* \* \* \*

tlp11\_CJJ8425\_0287 AGAGTAGGTTCTGATATGAATGCTATTTCATAAAATTTTTGAAGAATACAAAAGCTTAGAC  
tlp13\_H730\_01620 AGAGTAGGTTCTGATATGAATGCTATTTCATAAAATTTTTGAAGAATACAAAAGCTTAGAC  
tlp4\_cj0262c agagttagttctgatatgaatgctattcataaaaatTTTTGAAGAATACAAAAGCTTAGAC  
tlp12\_H730\_01610 AGAGTAGGTTCTGATATGAATGAAATTCAAAAGAGTATTTAATAGTTATAAATCTCTTGAC  
tlp2\_cj0144 agagttagttctgatatgaatgctattcataaaaatTTTTGAAGAATACAAAAGCTTAGAC  
tlp3\_cj1564 agagttagttctgatatgaatgctattcataaaaatTTTTGAAGAATACAAAAGCTTAGAC  
\*\*\*\*\* \* \* \* \* \*

tlp11\_CJJ8425\_0287 TTTAGAAATAAATTAGAAAATGCTAGCGGTAGTGTAGAATTAACACTACTAATGCTTTAGGT  
tlp13\_H730\_01620 TTTAGAAATAAATTAGAAAATGCTAGCGGTAGTGTAGAATTAACACTACTAATGCTTTAGGT  
tlp4\_cj0262c tttagaaataaattagaaaatgctagcggtagtgtagaattaactactaatgctttaggt  
tlp12\_H730\_01610 TTTACTACTGAAGTAAAAGATGCCAATGGAGCTGTAGAGGTAACACTACTAATGCTACTAGGA  
tlp2\_cj0144 tttagaaataaattagaaaatgctagcggtagtgtagaattaactactaatgctttaggt  
tlp3\_cj1564 tttagaaataaattagaaaatgctagcggtagtgtagaattaactactaatgctttaggt  
\*\*\*\*\* \* \* \* \* \*

tlp11\_CJJ8425\_0287 GATGAAATAGTTAAAATGCTAAAACAAAGTTCAGACTTTGCTAATGCTTTAGCTAATGAA  
tlp13\_H730\_01620 AATGAAATAGTTAAAATGCTAAAACAAAGTTCAGACTTTGCTAATGCTTTAGCTAATGAA  
tlp4\_cj0262c gatgaaatagttaaaatgctaaaacaaagttcagactttgctaatacttagctaatgaa  
tlp12\_H730\_01610 CAAGAAATCATTAAAATGCTAAAACAAAGTTCAGACTTTGCTAATGCTTTAGCTAATGAA  
tlp2\_cj0144 gatgaaatagttaaaatgctaaaacaaagttcagactttgctaatacttagctaatgaa  
tlp3\_cj1564 gatgaaatagttaaaatgctaaaacaaagttcagactttgctaatacttagctaatgaa  
\* \*\*\*\*\*

tlp11\_CJJ8425\_0287 AGTGAAAATTACAACTGCTGTTCAAAGCTTAACCACTTCTTCAAATTCTCAAGCTCAA  
tlp13\_H730\_01620 AGTGAAAATTACAACTGCTGTTCAAAGCTTAACCACTTCTTCAAATTCTCAAGCTCAA  
tlp4\_cj0262c agtggaaaattacaaactgctgttcaaagcttaaccacttcttcaaattctcaagctcaa  
tlp12\_H730\_01610 AGTGAAAATTACAACTGCTGTTCAAAGCTTAACCACTTCTTCAAATTCTCAAGCTCAA  
tlp2\_cj0144 agtggaaaattacaaactgctgttcaaagcttaaccacttcttcaaattctcaagctcaa  
tlp3\_cj1564 agtggaaaattacaaactgctgttcaaagcttaaccacttcttcaaattctcaagctcaa  
\*\*\*\*\*



tlp11_CJJ8425_0287	TCTTTAGAAGAACTGCAGCAGCTTTAGAAGAGATCACTTCTTCTATGCAAAATGTTTCA
tlp13_H730_01620	TCTTTAGAAGAACTGCAGCAGCTTTAGAAGAGATCACTTCTTCTATGCAAAATGTTTCA
tlp4_cj0262c	tctttagaagaactgcagcagctttagaagagatcacttcttctatgcaaaatgtttca
tlp12_H730_01610	TCTTTAGAAGAACTGCAGCAGCTTTAGAAGAGATCACTTCTTCTATGCAAAATGTTTCA
tlp2_cj0144	tctttagaagaactgcagcagctttagaagagatcacttcttctatgcaaaatgtttca
tlp3_cj1564	tctttagaagaactgcagcagctttagaagagatcacttcttctatgcaaaatgtttca
	*****
tlp11_CJJ8425_0287	GTTAAAAC TAGTGATGTTATCACTCAATCCGAGAGATTA AAAATGTTACAGGTATTATA
tlp13_H730_01620	GTTAAAAC TAGTGATGTTATCACTCAATCTGAAGAGATTA AAAATGTTACAGGTATTATA
tlp4_cj0262c	gttaaaactagtgatgttatcactcaatctgaagagattaaaaatgttacaggtattata
tlp12_H730_01610	GTTAAAAC TAGTGATGTTATCACTCAATCTGAAGAGATTA AAAATGTTACAGGTATTATA
tlp2_cj0144	gttaaaactagtgatgttatcactcaatctgaagagattaaaaatgttacaggtattata
tlp3_cj1564	gttaaaactagtgatgttatcactcaatctgaagagattaaaaatgttacaggtattata
	*****
tlp11_CJJ8425_0287	GGTGATATTGCAGATCAAATCAATCTTTTAGCTTTAAATGCAGCTATTGAAGCAGCTCGT
tlp13_H730_01620	GGTGATATTGCAGATCAAATCAATCTTTTAGCTTTAAATGCAGCTATTGAAGCAGCTCGT
tlp4_cj0262c	ggtgatattgcagatcaaatcaatcttttagctttaaatgcagctattgaagcagctcgt
tlp12_H730_01610	GGTGATATTGCAGATCAAATCAATCTTTTAGCTTTAAATGCAGCTATTGAAGCAGCTCGT
tlp2_cj0144	ggtgatattgcagatcaaatcaatcttttagctttaaatgcagctattgaagcagctcgt
tlp3_cj1564	ggtgatattgcagatcaaatcaatcttttagctttaaatgcagctattgaagcagctcgt
	*****
tlp11_CJJ8425_0287	GCTGGAGAACATGGTAGAGGCTTTGCGAGTGGTAGCTGATGAAGTTAGAAAGTTAGCTGAA
tlp13_H730_01620	GCTGGAGAACATGGTAGAGGCTTTGCGAGTGGTAGCTGATGAAGTTAGAAAGTTAGCTGAA
tlp4_cj0262c	gctggagaacatggttagaggctttgtagctggttagctgatgaagttagaaagttagctgaa
tlp12_H730_01610	GCTGGAGAACATGGTAGAGGCTTTGCGAGTGGTAGCTGATGAAGTTAGAAAGTTAGCTGAA
tlp2_cj0144	gctggagaacatggttagaggctttgtagctggttagctgatgaagttagaaagttagctgaa
tlp3_cj1564	gctggagaacatggttagaggctttgtagctggttagctgatgaagttagaaagttagctgaa
	*****
tlp11_CJJ8425_0287	AGAACTCAAAGTCTTTATCTGAAATTGAAGCTAATACTAATTTACTTGTTC AATCTATC
tlp13_H730_01620	AGAACTCAAAGTCTTTATCAGAAATTGAAGCTAATACTAATTTACTTGTTC AATCTATC
tlp4_cj0262c	agaactcaaaagtctttatcagaaattgaagctaataactaatttacttgttcaatctatc
tlp12_H730_01610	AGAACTCAAAGTCTTTATCAGAAATTGAAGCTAATACTAATTTACTTGTTC AATCTATC
tlp2_cj0144	agaactcaaaagtctttatcagaaattgaagctaataactaatttacttgttcaatctatc
tlp3_cj1564	agaactcaaaagtctttatcagaaattgaagctaataactaatttacttgttcaatctatc
	*****
tlp11_CJJ8425_0287	AATGATATGGCAGAAAGTATTAAGAACA AACTGCAGGTATCACTCAAATCAATGATAGC
tlp13_H730_01620	AATGATATGGCAGAAAGTATTAAGAACA AACTGCAGGTATCACTCAAATCAATGATAGC
tlp4_cj0262c	aatgatatggcagaaagtattaaagaacaaactgcaggtatcactcaaatcaatgatagc
tlp12_H730_01610	AATGATATGGCAGAAAGTATTAAGAACA AACTGCAGGTATCACTCAAATCAATGATAGC
tlp2_cj0144	aatgatatggcagaaagtattaaagaacaaactgcaggtatcactcaaatcaatgatagc
tlp3_cj1564	aatgatatggcagaaagtattaaagaacaaactgcaggtatcactcaaatcaatgatagc
	*****
tlp11_CJJ8425_0287	GTAGCTCAAATTGATCAAAC TACTAAAGATAATGTTGAAATTGCTAATGAATCAGCTATT
tlp13_H730_01620	GTAGCTCAAATTGATCAAAC TACTAAAGATAATGTTGAAATTGCTAATGAATCAGCTATT
tlp4_cj0262c	gtagctcaaatgatcaaac tactaaagataatgttgaaattgcta atgaatcagctatt
tlp12_H730_01610	GTAGCTCAAATTGATCAAAC TACTAAAGATAATGTTGAAATTGCTAATGAATCAGCTATT
tlp2_cj0144	gtagctcaaatgatcaaac tactaaagataatgttgaaattgcta atgaatcagctatt
tlp3_cj1564	gtagctcaaatgatcaaac tactaaagataatgttgaaattgcta atgaatcagctatt
	*****

```

t1p11_CJJ8425_0287   ATTTCTAGTACAGTAAGTGATATAGCTAATAATATCTTAGAAGATGTTAAGAAGAAGAGG
t1p13_H730_01620    ATTTCTAGTACAGTAAGTGATATAGCTAATAATATCTTAGAAGATGTTAAGAAGAAAAGG
t1p4_cj0262c         atttctagtagacagtaagtgatatagctaaataatcttagaagatgttaagaagaagagg
t1p12_H730_01610    ATTTCTAGTACAGTAAGTGATATAGCTAATAATATCTTAGAAGATGTTAAGAAGAAAAGG
t1p2_cj0144          atttctagtagacagtaagtgatatagctaaataatcttagaagatgttaagaagaagagg
t1p3_cj1564          atttctagtagacagtaagtgatatagctaaataatcttagaagatgttaagaagaagagg
*****

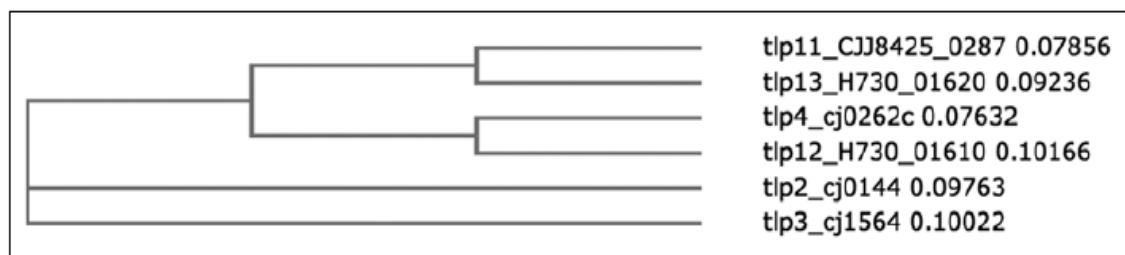
t1p11_CJJ8425_0287   TTTTAA
t1p13_H730_01620    TTTTAA
t1p4_cj0262c         ttttaa
t1p12_H730_01610    TTTTAA
t1p2_cj0144          ttttaa
t1p3_cj1564          ttttaa
*****

```

**Abb. 8: Multipler Sequenzabgleich von *t1p2* (*cj0144*), *t1p3* (*cj1564*), *t1p4* (*cj0262c*), *t1p11* (*CJJ8425\_0287*), *t1p12* (*H730\_01610*) und *t1p13* (*H730\_01620*)**

Der multiple DNA-Sequenzabgleich wurde mittels *Clustal Omega* durchgeführt (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>).

Identische Basen in allen 6 Genen sind mit einem Asteriskus (\*) gekennzeichnet.



**Abb. 9: Phylogenetischer Stammbaum basierend auf dem multiplen Sequenzabgleich von *t1p2* (*cj0144*), *t1p3* (*cj1564*), *t1p4* (*cj0262c*), *t1p11* (*CJJ8425\_0287*), *t1p12* (*H730\_01610*) und *t1p13* (*H730\_01620*)**

Phylogenetische, ohne Distanzkorrekturen erstellte Baumstruktur, mittels hierarchischer *bottom-up*-Cluster-Methode errechnet (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>). Am Ende jeden Zweiges sind die Bezeichnung des jeweiligen Gens sowie der entsprechende Distanzwert zu finden. Dieser Stammbaum zeigt, dass *t1p4*, *t1p11*, *t1p12* und *t1p13* enger miteinander verwandt sind als mit *t1p2* und *t1p3*. Demzufolge kann angenommen werden, dass diese Gene Paraloge sind, die möglicherweise aus einem gemeinsamen *transducer-like*-Proteingen als Vorfahren abstammen.

### 3.5 Das intakte *t1p5*-Gen und das *t1p5*-Pseudogen

Das intakte *t1p5*-Gen umfasste 1.128 bp im NCTC11168-Genom (*cj0246c*). Es war lokalisiert zwischen dem Gen *rp1T*, welches für die 50S-Untereinheit des Ribosomenproteins L20 kodierte, und *cj0247*, das für Chemotaxis-Signaltransduktionsproteine kodierte. In fünf der hinterlegten Genome, und zwar in S3, 00-1597, F38011, CG8421 und R14, war das *t1p5*-Gen an der Position 504 des Gens geteilt, d. h. an demselben Genlokus wurde

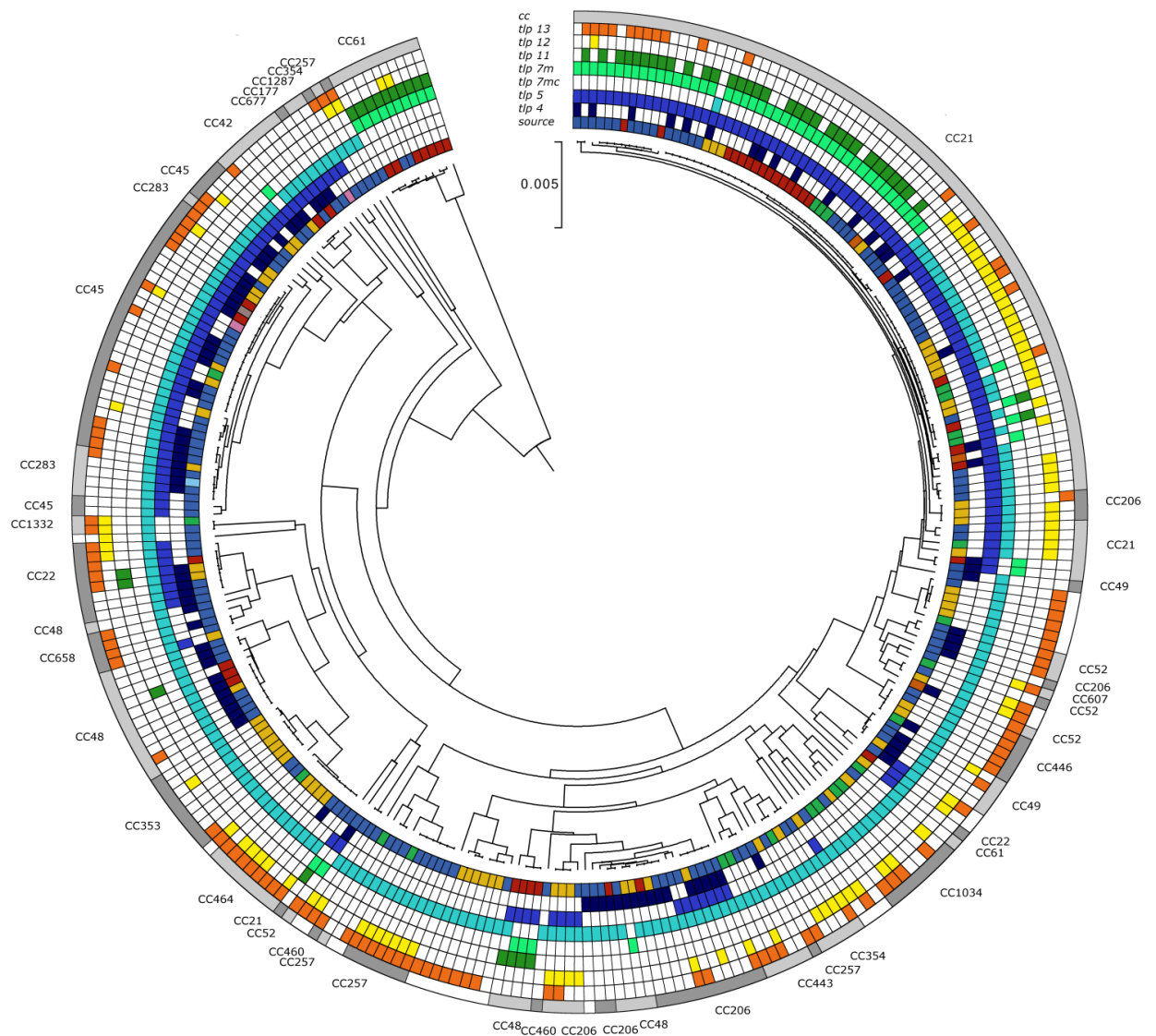
auch ein Pseudogen von 537 bp Länge gefunden (annotiert als geteiltes methylakzeptierendes Chemotaxisprotein [MCP] bzw. -Domänensignaltransduktionspseudogen, s. *Abb. 7B*). Die 593 bp an dem 5'-Ende des Pseudogens zeigten zu 99 % Übereinstimmung zu der Sequenz der periplasmatischen Sensordomäne des intakten *tlp5*-Gens, jedoch fehlte hier die zytosolische Signaldomäne.

### **3.6 Erfassung von Chemorezeptorgenen in phylogenetisch unterschiedlichen *C. jejuni*-Erregerstämmen mittels PCR**

#### **3.6.1 Ubiquitär vorkommende Chemorezeptorgene**

Die Analyse der 292 *C. jejuni*-Isolate mittels PCR für die 13 bisher beschriebenen Chemorezeptorgene, die 2 Aerotaxisgene, das *tlp5*-Pseudogen, die *tlp7* zwei-ORF-Variante sowie für *tlp12* und *tlp13* zeigte, dass die Mehrheit der Chemorezeptorgene ubiquitär vorhanden war. Im Einzelnen wurde *tlp1* (*ccaA*) in 100% (292/292) gefunden, *tlp2* in 97,9 % (286/292), *tlp3* (*ccmL*) in 100 % (292/292) *tlp6* in 100% (292/292), *tlp8* in 100 % (292/292), *tlp9/cetABC* (inklusive beiden zytoplasmatischen Ligandenproteinen *CetA*, *CetB/Aer2*, *CetC/Aer1*) in 100 % (292/292) und *tlp10* in 97,9 % (286/292) der *C. jejuni*-Isolate (vergleiche *Abb. 10*).





**Abb. 10: Zirkuläre Darstellung des MLST-Sequenzbasierten UPGMA-Stammbaum aller 292 getesteten *C. jejuni*-Isolate und die Verteilung der nicht-ubiquitären *C. jejuni*-Chemorezeptorgene**

Die Figur zeigt einen balancierten MLST-basierten UPGMA-Stammbaum aller 292 getesteten *C. jejuni*-Isolate. Der innerste Kreis zeigt die Isolatquellen an: menschliche Isolate = blau, Hühnerisolate = gelb, Rinderisolate = rot, Putenisolate = grün, Schafisolate = orange, Wildvögelisolate = pink, Hundeisolate = lorbeergrün, Isolate aus dem Uferbereich = hellblau. Die darüber liegenden Kreise repräsentieren jeweils ein nicht-ubiquitäres *transducer-like*-Proteingen (*tlp*). Diese sind in numerischer Anordnung arrangiert, es sind dargestellt: *tlp4* [dunkelblau], *tlp5* [mittelblau], *tlp7* vollständiges Gen [türkis], *tlp7* zwei-ORF-Variante [hellgrün], *tlp11* [dunkelgrün], *tlp12* [gelb] und *tlp13* [orange]. Dabei stellen farbige Felder das Vorkommen des jeweiligen Chemorezeptorgens in dem zugehörigen Isolat dar und weiße Felder deren Abwesenheit. Bei dem Rezeptorgen *tlp5* ist das Vorkommen des *tlp5* Pseudogens durch ein weißes Feld des *tlp5* Kreises gekennzeichnet. Der äußerste Kreis zeigt die klonalen Komplexe (CC) an. Unterschiedliche CC's, die in Tabelle 10

genauer erläutert werden, sind abwechselnd in hell- und dunkelgrau dargestellt. Weiße Felder innerhalb dieses Ringes zeigen nicht einer Gruppe zugehörige Isolate oder ST's, die nicht einem CC zugeordnet werden können.

### **3.6.2 Transducer-like-Proteingene *tlp4*, *tlp11*, *tlp12* und *tlp13***

*Tlp4*, *tlp11*, *tlp12* und *tlp13* waren auf nahezu dem gleichen Genlokus stromaufwärts (*tlp4*, *tlp11* und *tlp12*), beziehungsweise stromabwärts (*tlp13*) des *zupT*-Gens lokalisiert (siehe Abb 7). Es schien, dass sich diese Gene an einem Genlokus gegenseitig substituierten; in einigen Genomen, wie z.B. in R14, traten diese Gene gemeinsam in naher Umgebung beieinander auf (Abb. 7A). Daher wurden im Folgenden die Chemotaxisrezeptorgene *tlp4*, *tlp11*, *tlp12* und *tlp13* gemeinsam ausgewertet.

Tabelle 10: Prozentuale Verteilung von *tlp4*, *tlp5*, *tlp7<sub>m</sub>*, *tlp11*, *tlp12* und *tlp13* innerhalb der 292 untersuchten *C. jejuni*-Isolate und ihre Assoziation mit Wirt und CC/ST

Wirt oder CC/ST	Anzahl der Isolate mit Chemorezeptorgen / Gesamtanzahl (%)		
	<i>tlp4</i>	<i>tlp5</i>	<i>tlp7<sub>m</sub></i>
<b>Wirt</b>			
<b>Gesamt</b>	98/292 (33.6)	165/292 (56.5)	67/292 (22.9)
<b>Mensch</b>	61/150 (40.7)	84/150 (56.0)	30/150 (20.0)
<b>Hühner</b>	18/68 (26.5)	35/68 (51.5)	<b>4/68 (5.9)*</b>
<b>Rinder</b>	14/43 (32.6)	<b>31/43 (72.1)#</b>	<b>27/43 (62.8)*</b>
<b>Pute</b>	<b>2/24 (8.3)*</b>	9/24 (20.1)	5/24 (20.8)
<b>Andere</b>	3/7 (42.9)	6/7 (85.7)	1/7 (14.3)
<b>CC21</b>	21/84 (25.0)	<b>84/84 (100)*</b>	50/84 (59.5)*
<b>ST21</b>	10/31 (32.3)	<b>31/31 (100)*</b>	<b>30/31 (96.8)*</b>
<b>ST53</b>	1/8 (12.5)	<b>8/8 (100)*</b>	<b>8/8 (100)*</b>
<b>ST50</b>	2/17 (11.8)	<b>17/17 (100)*</b>	1/17 (5.9)
<b>andere ST</b>	8/28 (28.6)	<b>28/28 (100)*</b>	11/28 (39.3)
<b>CC52</b>	<b>5/6 (83.3)#</b>	1/6 (16.7)	1/6 (16.7)
<b>CC446</b>	1/5 (20.0)	0/5 (0.0)*	0/5 (0.0)*
<b>CC49</b>	<b>4/5 (80.0)#</b>	0/5 (0.0)*	0/5 (0.0)*
<b>CC1034</b>	0/7 (0.0)*	0/7 (0.0)*	0/7 (0.0)*
<b>CC354</b>	0/6 (0.0)*	0/6 (0.0)*	0/6 (0.0)*
<b>CC443</b>	1/5 (20.0)	0/5 (0.0)*	0/5 (0.0)*
<b>CC206</b>	12/21 (57.1)#	14/21 (66.7)#	0/21 (0.0)*
<b>ST46</b>	0/3 (0.0)*	<b>3/3(100)*</b>	0/3 (0.0)*
<b>ST122</b>	<b>5/5 (100)*</b>	<b>5/5 (100)*</b>	0/5 (0.0)*
<b>ST572</b>	<b>5/5 (100)*</b>	0/5 (0.0)*	0/5 (0.0)*



Wirt oder CC/ST	Anzahl der Isolate mit Chemorezeptorgen / Gesamtanzahl (%)		
	<i>tlp4</i>	<i>tlp5</i>	<i>tlp7<sub>m</sub></i>
<b>ST2192</b>	0/3 (0.0)*	<b>3/3(100)*</b>	0/3 (0.0)*
<b>andere ST</b>	2/5 (40.0)	3/5 (60.0)	0/5 (0.0)*
<b>CC48</b>	15/20 (75.0)	4/20 (20.0)	4/20 (20.0)
<b>ST38</b>	0/3 (0.0)*	<b>3/3 (100)*</b>	<b>3/3 (100)*</b>
<b>ST48</b>	<b>7/7 (100)*</b>	0/7 (0.0)*	0/7 (0.0)*
<b>andere ST</b>	8/10 (80.0)	1/10 (10.0)	1/10 (10.0)
<b>CC257</b>	0/10 (0.0)*	0/10 (0.0)*	0/10 (0.0)*
<b>CC464</b>	1/8 (12.5)	0/8 (0.0)*	0/8 (0.0)*
<b>CC353</b>	0/8 (0.0)*	0/8 (0.0)*	0/8 (0.0)*
<b>CC658</b>	1/4 (25.0)	1/4 (25.0)	0/4 (0.0)*
<b>CC22</b>	<b>5/9 (55.6)</b>	<b>9/9 (100)*</b>	0/9 (0.0)*
<b>CC1332</b>	0/2 (0.0)*	0/2 (0.0)*	0/2 (0.0)*
<b>CC45</b>	<b>19/33 (57.6)*</b>	<b>33/33 (100)*</b>	0/33 (0.0)*
<b>CC283</b>	<b>5/6 (83.3)<sup>#</sup></b>	<b>6/6 (100)*</b>	0/6 (0.0)*
<b>CC42</b>	<b>6/7 (85.7)<sup>#</sup></b>	<b>7/7 (100)*</b>	1/7 (14.3)
<b>CC61</b>	0/11 (0.0)*	0/11 (0.0)*	<b>10/11 (90.9)*</b>
<b>andere</b>	2/35 (5.7)	6/35 (17.1)	1/35 (2.3)

**Chemorezeptorgene:** *tlp4*: transducer-like-Proteingen 4; *tlp5* transducer-like-Proteingen 5 (intaktes Gen); *tlp7<sub>m</sub>*: membranassoziierter Teil des transducer-like-Proteingen 7 (Homolog zu *cj0952c*); *tlp11*: transducer-like-Proteingen 11; *tlp12*: transducer-like-Proteingen 12; *tlp13*: transducer-like-Proteingen 13; andere Wirte: umfassen 3 Isolate von Schafen, 2 von Wildvögeln, 2 von Hunden und eines aus Oberflächenwasser stammend; andere ST: umfassen ST, die zu dem jeweiligen CC gehören und nicht separat aufgelistet sind; andere: umfassen einzelne Isolate und CC's, die in dieser Studie eine sehr geringe Anzahl von Isolaten umfassen.

**Fußnoten:** # p<0,05; \* p<0,001 Signifikanzlevel im Vergleich mit den verbleibenden nicht zu einem klonalen Komplex/Sequenztyp zugehörigen Isolaten; zusätzlich sind die Werte der Isolatgruppen mit überdurchschnittlich wenigen bzw. vielen positiven Proben in fetter Schrift angegeben.

**Tabelle 10 (Fortsetzung): Prozentuale Verteilung von *tlp4*, *tlp5*, *tlp7<sub>m</sub>*, *tlp11*, *tlp12* und *tlp13* innerhalb der 292 untersuchten *C. jejuni*-Isolate und ihre Assoziation mit Wirt und CC/ST**

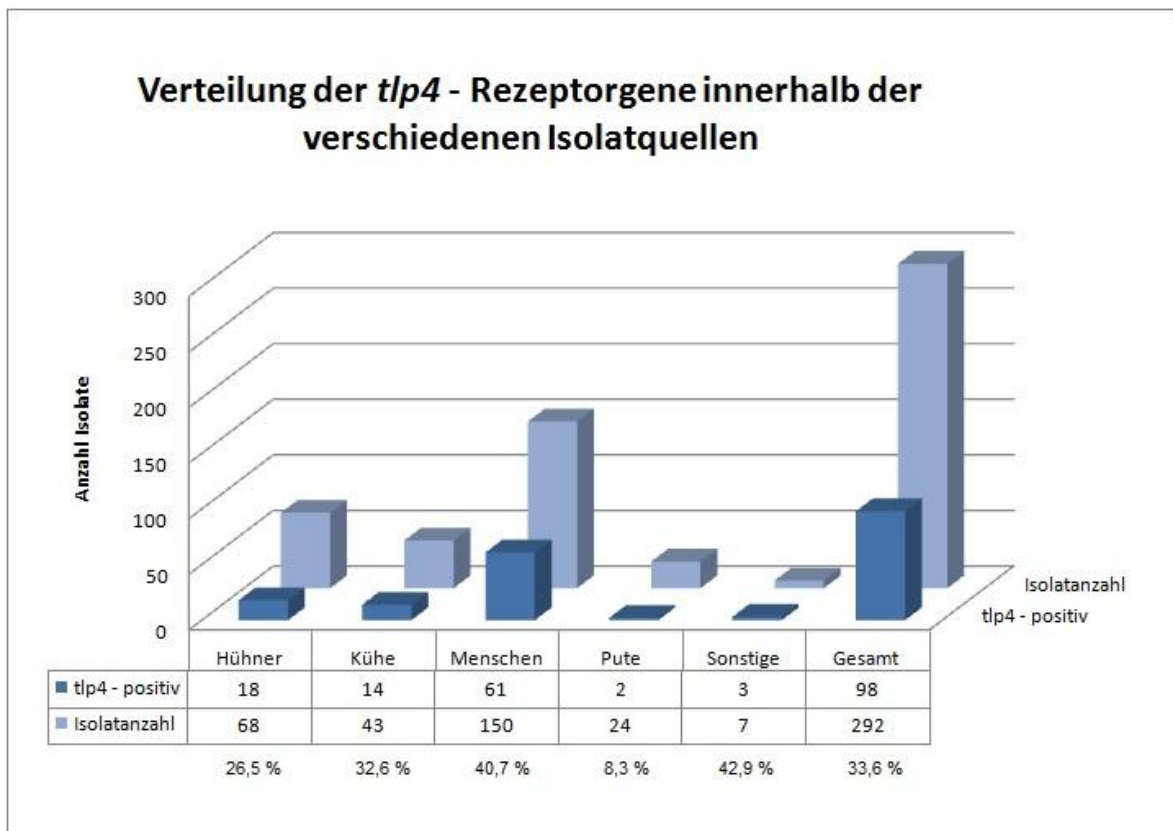
Wirt oder CC/ST	Anzahl der Isolate mit Chemorezeptorgen / Gesamtanzahl (%)		
	<i>tlp11</i>	<i>tlp12</i>	<i>tlp13</i>
<b>Wirt</b>			
<b>Gesamt</b>	52/292 (17.8)	86/292 (29.5)	113/292 (38.7)
<b>Mensch</b>	20/150 (13.3)	51/150 (34.0)	69/150 (46.0) <sup>#</sup>
<b>Hühner</b>	4/68 (5.9) <sup>*</sup>	23/68 (33.8)	32/68 (47.1)
<b>Rinder</b>	<b>24/43 (55.8)<sup>*</sup></b>	<b>5/43 (11.6)<sup>#</sup></b>	<b>2/43 (4.7)<sup>*</sup></b>
<b>Pute</b>	3/24 (12.5)	7/24 (29.2)	9/24 (37.5)
<b>Andere</b>	1/7 (14.3)	0/7 (0.0)	1/7 (14.3)
<b>CC21</b>	<b>35/84 (41.7)<sup>*</sup></b>	32/84 (38.1)	17/84(20.2) <sup>*</sup>
<b>ST21</b>	<b>23/31 (74.2)<sup>*</sup></b>	0/31 (0.0) <sup>*</sup>	2/31 (6.5) <sup>*</sup>
<b>ST53</b>	<b>7/8 (87.5)<sup>*</sup></b>	0/8 (0.0) <sup>*</sup>	<b>7/8 (87.5)<sup>*</sup></b>
<b>ST50</b>	0/17 (0.0) <sup>*</sup>	<b>17/17 (100)<sup>*</sup></b>	5/17 (29.4)
<b>andere ST</b>	5/28 (17.9)	15/28 (53.6)	3/28 (10.7)
<b>CC52</b>	0/6 (0.0) <sup>*</sup>	0/6 (0.0) <sup>*</sup>	<b>5/6 (83.3)<sup>#</sup></b>
<b>CC446</b>	0/5 (0.0) <sup>*</sup>	0/5 (0.0) <sup>*</sup>	<b>5/5 (100)<sup>*</sup></b>
<b>CC49</b>	0/5 (0.0) <sup>*</sup>	1/5 (20.0)	1/5 (20.0)
<b>CC1034</b>	0/7 (0.0) <sup>*</sup>	3/7 (42.9)	4/7 (57.1)
<b>CC354</b>	0/6 (0.0) <sup>*</sup>	<b>5/6 (83.3)<sup>#</sup></b>	3/6 (50)
<b>CC443</b>	0/5 (0.0) <sup>*</sup>	1/5 (20.0)	3/5 (60.0)
<b>CC206</b>	0/21 (0.0) <sup>*</sup>	9/21 (42.9)	6/21 (28.6)
<b>ST46</b>	0/3 (0.0) <sup>*</sup>	2/3 (66.7)	1/3 (33.3)

<b>ST122</b>	0/5 (0.0)*	2/5 (40.0)	1/5 (20.0)
<b>ST572</b>	0/5 (0.0)*	0/5 (0.0)*	0/5 (0.0)*
<b>ST2192</b>	0/3 (0.0)*	<b>3/3 (100)*</b>	2/3 (66.7)
<b>andere ST</b>	0/5 (0.0)*	2/5 (40.0)	2/5 (40.0)
<b>CC48</b>	5/20 (25.0)	0/20 (0.0)*	1/20 (5.0)*
<b>ST38</b>	<b>3/3 (100)*</b>	0/3 (0.0)*	0/3 (0.0)*
<b>ST48</b>	0/7 (0.0)*	0/7 (0.0)*	1/7 (14.3)
<b>andere ST</b>	2/10 (20.0)	0/10 (0.0)*	0/10 (0.0)*
<b>CC257</b>	0/10 (0.0)*	<b>8/10 (80.0)#</b>	<b>9/10 (90.0)*</b>
<b>CC464</b>	0/8 (0.0)*	<b>5/8 (62.5)</b>	<b>8/8 (100)*</b>
<b>CC353</b>	0/8 (0.0)*	1/8 (12.5)	1/8 (12.5)
<b>CC658</b>	0/4 (0.0)*	0/4 (0.0)*	<b>4/4 (100)*</b>
<b>CC22</b>	2/9 (22.2)	2/9 (22.2)	<b>5/9 (55.6)</b>
<b>CC1332</b>	0/2 (0.0)*	<b>2/2 (100)*</b>	<b>2/2 (100)*</b>
<b>CC45</b>	0/33 (0.0)*	4/33 (12.1)	12/33 (36.4)
<b>CC283</b>	0/6 (0.0)*	0/6 (0.0)*	2/6 (33.3)
<b>CC42</b>	0/7 (0.0)*	0/7 (0.0)*	1/7 (14.3)
<b>CC61</b>	<b>10/11 (90.9)*</b>	2/11 (18.2)	0/11 (0.0)*
<b>andere</b>	0/35 (0.0)	11/35 (31.4)	24/35 (68.6)

**Chemorezeptorgene:** *tlp4*: *transducer-like*-Proteingen 4; *tlp5* *transducer-like*-Proteingen 5 (intaktes Gen); *tlp7<sub>m</sub>*: membranassoziierter Teil des *transducer-like*-Proteingen 7 (Homolog zu *cj0952c*); *tlp11*: *transducer-like*-Proteingen 11; *tlp12*: *transducer-like*-Proteingen 12; *tlp13*: *transducer-like*-Proteingen 13; andere Wirte: umfassen 3 Isolate von Schafen, 2 von Wildvögeln, 2 von Hunden und eines aus Oberflächenwasser stammend; andere ST: umfassen ST, die zu dem jeweiligen CC gehören und nicht separat aufgelistet sind; andere: umfassen einzelne Isolate und CC's, die in dieser Studie eine sehr geringe Anzahl von Isolaten umfassen.

**Fußnoten:** #  $p < 0,05$ ; \*  $p < 0,001$  Signifikanzlevel im Vergleich mit den verbleibenden nicht zu einem klonalen Komplex/Sequenztyp zugehörigen Isolaten; zusätzlich sind die Werte der Isolatgruppen mit überdurchschnittlich wenig bzw. vielen positiven Proben in fetter Schrift angegeben.

***Tlp4:*** In 33,6 %, mehr als einem Drittel der Proben (98/292) aller Isolate, wurde das Chemorezeptorgen *tlp4* gefunden. *Tlp4*-positive Isolate waren überwiegend in den acht Isolatgruppen CC52, CC49, CC206 (ST122 und ST572), CC48 (ST48), CC22, CC45, CC283 und CC42 vorhanden (s. Tab. 10 und Abb. 10). Bezüglich der Isolationsquellen ist auffallend, dass 62,2 % (61/98) aller positiven Isolate in menschlichen Isolaten zu finden waren. Bemerkenswert war das signifikant ( $p < 0,001$ ) niedrige Vorkommen in Putenisolaten; so waren lediglich 8,3 % (2/24) aller untersuchten Putenisolate positiv für das Rezeptorgen *tlp4* und nur 2 % (2/98) aller für dieses Gen positiven Isolate stammten aus Proben von Puten (vergleiche Abb. 11).

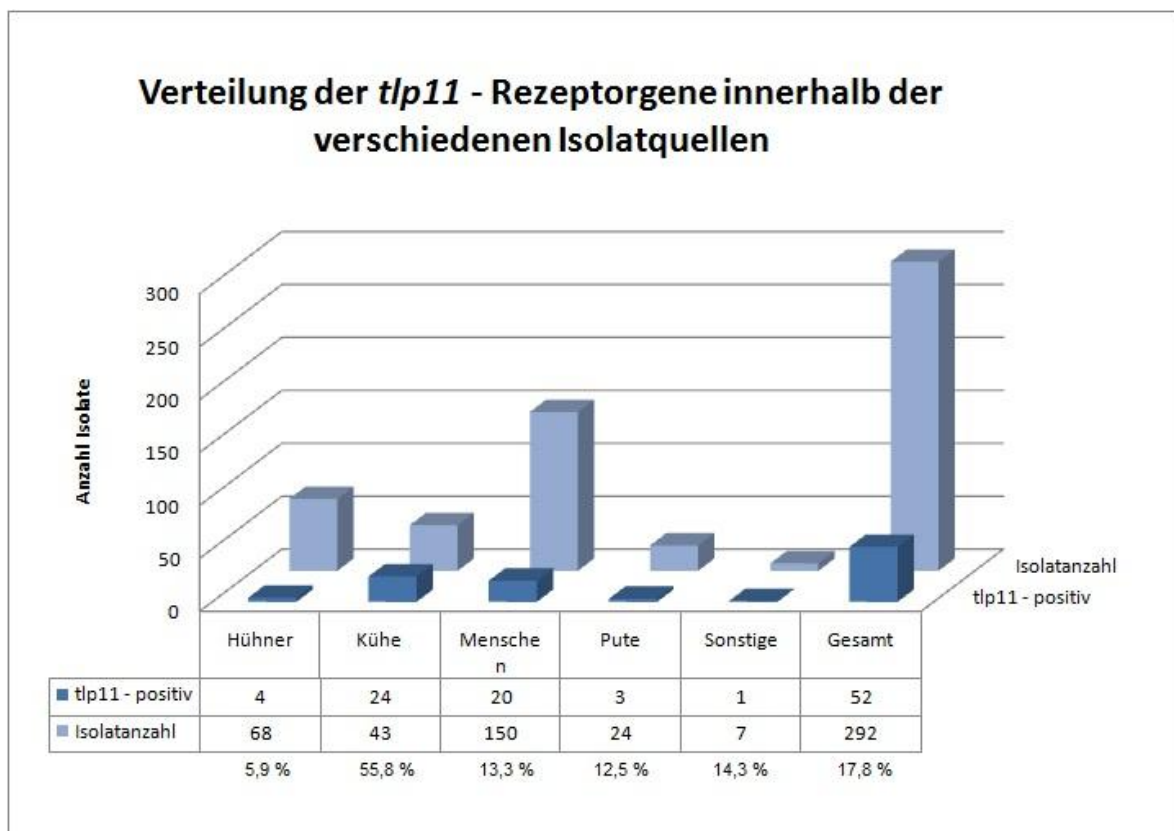


**Abb. 11: Verteilung der *tlp4*-Rezeptorgene innerhalb der verschiedenen Isolationsquellen**

Verteilung der *tlp4*-positiven Isolate im Vergleich mit der gesamten Probenanzahl der jeweiligen Isolatgruppe sowie deren prozentualen Anteil. In der Gruppe "Sonstige" wurden Isolate aus dem Wasser, von Hunden, Schafen und Wildvögeln zusammengefasst.

***Tlp11***: Lediglich ein Anteil von 17,8 % (52/292) aller Isolate war positiv für das Chemotaxisrezeptorgen *tlp11*. Damit stellte dieser den am seltensten vorkommenden Rezeptor innerhalb der untersuchten Isolate dar. Typische *tlp11*-positive Gruppen waren CC21 (ST21 und ST53), CC48 (ST38) und CC61 (s. *Tab. 10* und *Abb. 10*). Die Verteilung innerhalb der Isolationsquellen betreffend fiel auf, dass *tlp11* signifikant ( $p < 0,001$ ) öfter in bovinen Isolaten gefunden wurde; so wurden 55,8 % (24/43) aller Rinderisolate für dieses Rezeptorgen positiv getestet und 46,2 % (24/52) aller für *tlp11* positiv getesteten Proben fielen in die bovine Isolatgruppe (vergleiche *Abb. 12*).

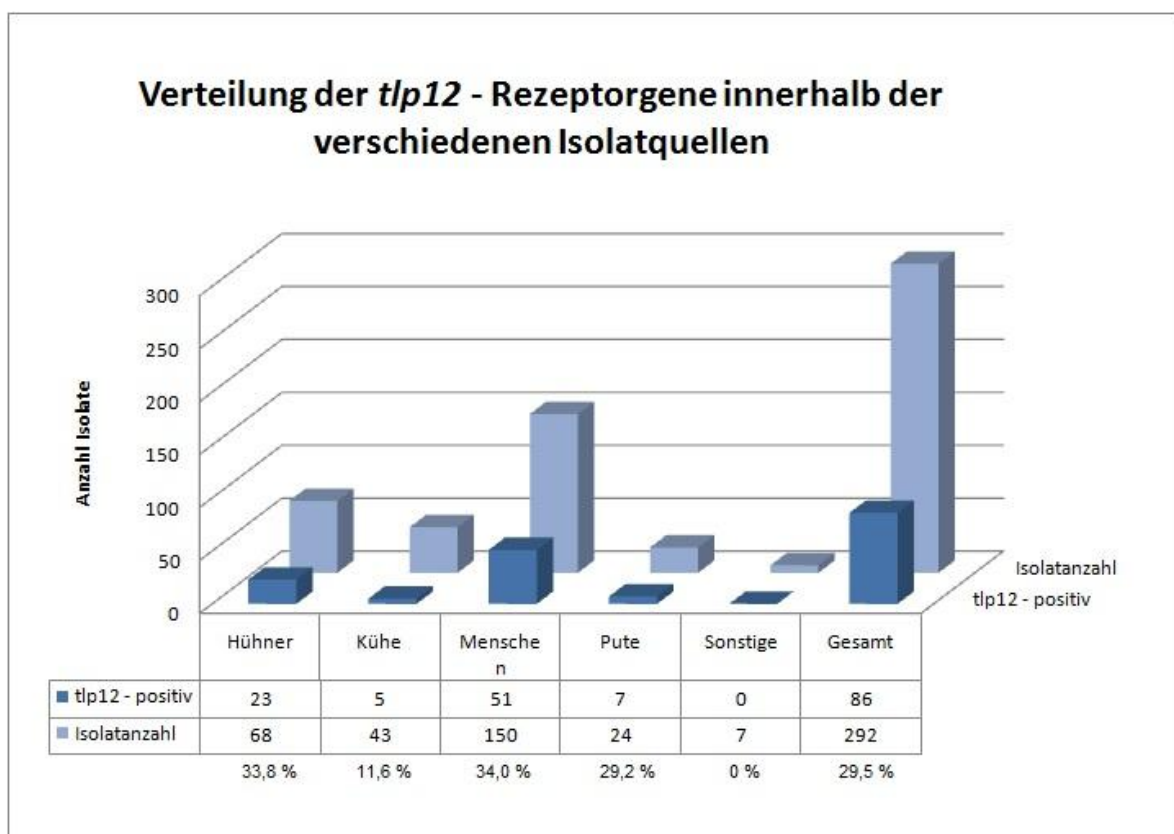
Mit 7,4 % (7/94) war das Rezeptorgen *tlp11* nur selten in aviären Isolaten vorzufinden, lediglich ein Anteil von 5,8 % (3/52) der Gesamtheit der für *tlp11* positiv getesteten Proben waren in der Putenisolatgruppe vorzufinden (vergleiche *Abb. 12*).



**Abb. 12: Verteilung der *tlp11*-Rezeptorgene innerhalb der verschiedenen Isolationsquellen**

Verteilung der *tlp11*-positiven Isolate im Vergleich mit der gesamten Probenanzahl der jeweiligen Isolatgruppe sowie deren prozentualen Anteil. In der Gruppe "Sonstige" wurden Isolate aus dem Wasser, von Hunden, Schafen und Wildvögeln zusammengefasst.

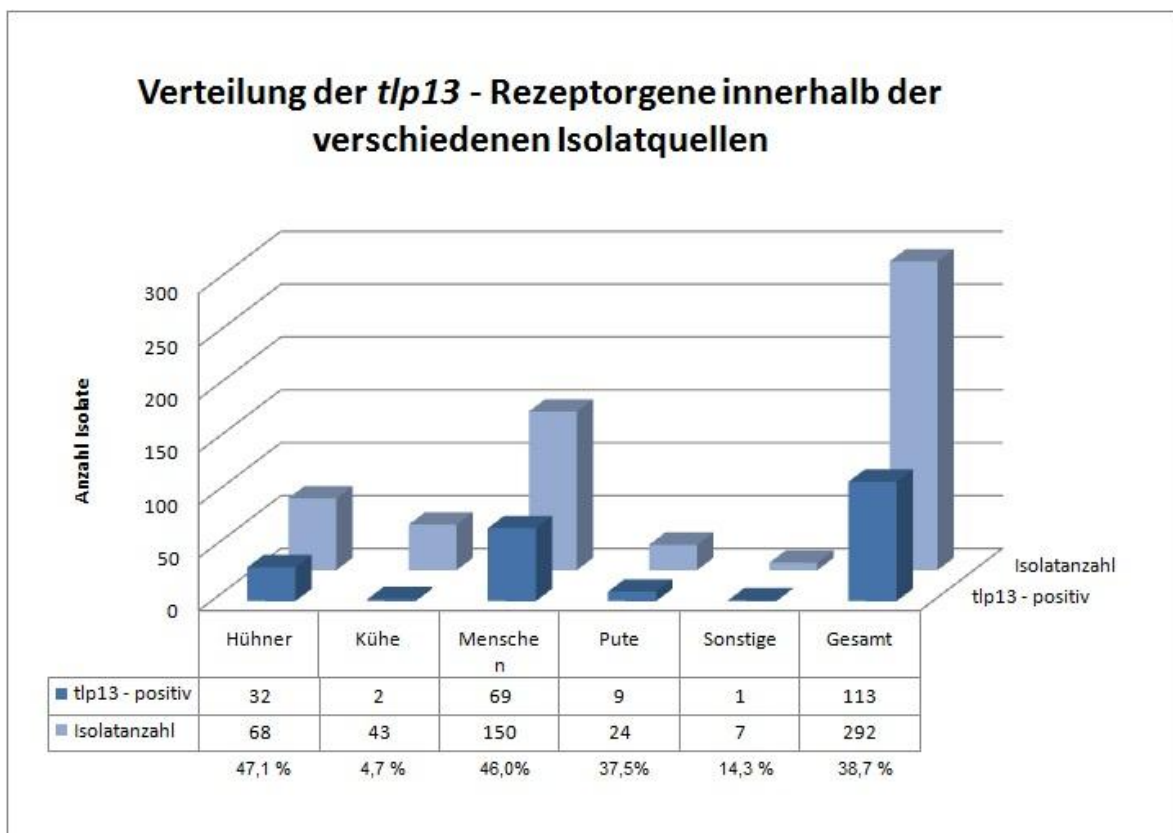
***Tlp12***: Die PCR zur Detektion des Chemorezeptorgens *tlp12* waren für 29,5 % (86/292) aller Isolate positiv. Im Gegensatz zu *tlp4* und *tlp11* war *tlp12* überwiegend in den klonalen Komplexen bzw. Sequenztypen ST50, CC354, ST2192, CC257, ST464 und CC1332 (s. Tab. 10 und Abb. 10) präsent. Interessanterweise war *tlp12* signifikant ( $p < 0,05$ ) seltener in bovinen Isolaten vorzufinden; so ist es in 11,6 % (5/43) innerhalb der Gesamtheit der aus Rindern isolierten Proben positiv getestet worden. Nur 5,8 % (5/86) der für *tlp12* positiv getesteten Isolate entfielen in die Kategorie Rinderisolate. Abgesehen von den bovinen Isolaten verteilten sich die *tlp12*-positiven Isolate in Bezug auf die prozentuale Verteilung der *tlp12*-positiven Isolate innerhalb der Anzahl der insgesamt untersuchten jeweiligen Isolatgruppe relativ gleichmäßig auf Hühnerisolate mit 33,8 % (23/68), auf Menschenisolate mit 34,0 % (51/150) und auf Putenisolate mit 29,2 % (7/24) (vergleiche Abb. 13).



**Abb. 13: Verteilung der *tlp12*-Rezeptorgene innerhalb der verschiedenen Isolationsquellen**

Verteilung der *tlp12*-positiven Isolate im Vergleich mit der gesamten Probenanzahl der jeweiligen Isolatgruppe sowie deren prozentualen Anteil. In der Gruppe "Sonstige" wurden Isolate aus dem Wasser, von Hunden, Schafen und Wildvögeln zusammengefasst.

**Tlp13:** *Tlp13* wurde in 38,7 % (113/292) aller Isolate gefunden. Es wurde signifikant öfter in ST53, CC52, CC446, CC257, ST464, CC658, CC22 und CC1332 beobachtet (s. Tab. 10 und Abb. 10). Bovine Isolate waren signifikant ( $p < 0,001$ ) weniger oft positiv für *tlp13*, es wurden lediglich 4,7 % (2/43) aller bovinen Isolate positiv für dieses Rezeptorgen getestet. Weiterhin waren nur 1,8 % (2/113) aller *tlp13* positiv getesteten Proben bovine Isolate. Knapp hinter den Hühnerisolaten mit 47,1 % (32/68) waren die Menschenisolate mit 46,0 % (69/150) vertreten. Putenisolate machten einen Anteil von 37,5 % (9/24) aus (s. Abb. 14).



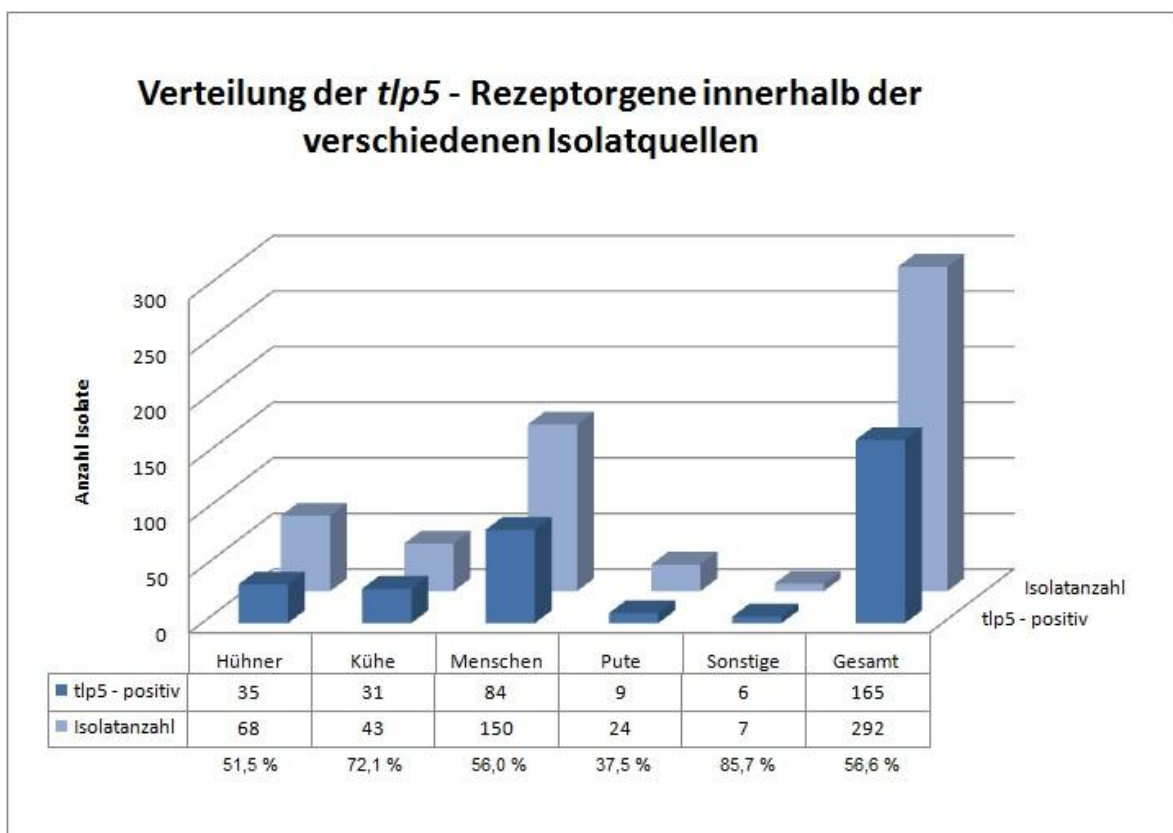
**Abb. 14: Verteilung der *tlp13*-Rezeptorgene innerhalb der verschiedenen Isolationsquellen**

Verteilung der *tlp13*-positiven Isolate im Vergleich mit der gesamten Probenanzahl der jeweiligen Isolatgruppe sowie deren prozentualen Anteil. In der Gruppe "Sonstige" wurden Isolate aus dem Wasser, von Hunden, Schafen und Wildvögeln zusammengefasst.

### 3.6.3 Das *transducer-like*-Proteingen *tlp5*

Zusätzlich zu dem intakten *tlp5*-Gen wurde ein wesentlich kürzeres *tlp5*-Pseudogen gefunden, bei dem die zytoplasmatische Signaldomäne fehlte. Die in dieser Studie verwendeten *tlp5*-PCR-Primer sind hergestellt worden, um sowohl das intakte *tlp5*-Gen als auch das

*tlp5*-Pseudogen zu erfassen. Alle der getesteten 292 Isolate waren für eines dieser beiden Gene positiv. Insgesamt 56,6 % (165/292) aller Isolate stellten sich als positiv für das intakte *tlp5*-Gen heraus, wohingegen 43,4 % (127/292) positiv für das Pseudogen waren. Die Isolate, welche das intakte *tlp5*-Gen enthielten, waren vorwiegend in CC21, CC45, CC283 und CC42 mit einem Signifikanzlevel von jeweils  $p < 0,001$  zu finden (s. Tab. 10 und Abb. 10). Zusätzlich war dieses Gen signifikant ( $p < 0,05$ ) mit bovinen Isolaten assoziiert. Es waren insgesamt 72,1 % (31/43) aller untersuchten Rinderisolate *tlp5* positiv (s. Tab. 10 und Abb. 15). Gleichermäßen ergab sich, dass 18,8 % (31/165) aller für das intakte *tlp5*-Gen positiven Proben Rinderisolate waren.



**Abb. 15: Verteilung der *tlp5*-Rezeptorgene innerhalb der verschiedenen Isolationsquellen**

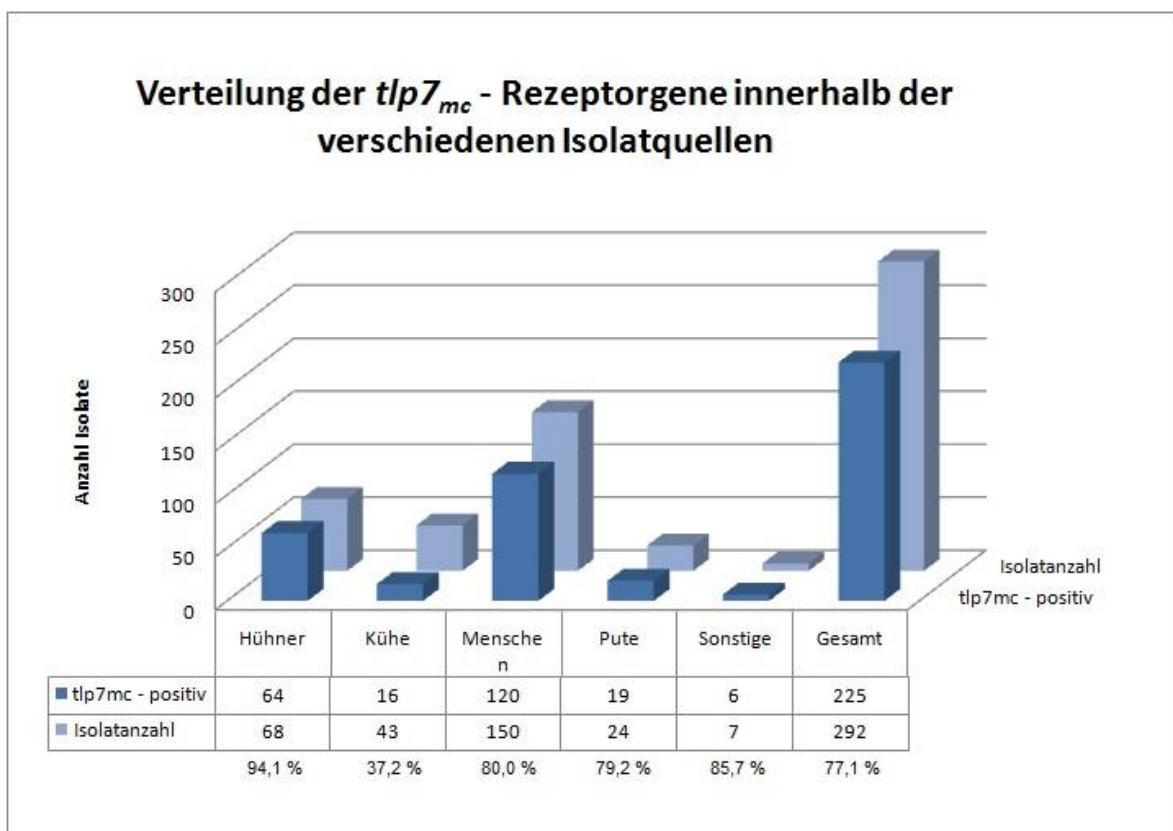
Verteilung der *tlp5*(intakte Gen-Variante)-positiven Isolate im Vergleich mit der gesamten Probenanzahl der jeweiligen Isolatgruppe sowie deren prozentualen Anteil. In der Gruppe "Sonstige" wurden Isolate aus dem Wasser, von Hunden, Schafen und Wildvögeln zusammengefasst.

### 3.6.4 Das *transducer-like*-Proteingen *tlp7*

Das *transducer-like*-Proteingen *tlp7* war ubiquitär vorhanden, trat jedoch in zwei verschiedenen Varianten auf. Zum einen kam es als für ein ein 58 kDa schweres Protein codieren-

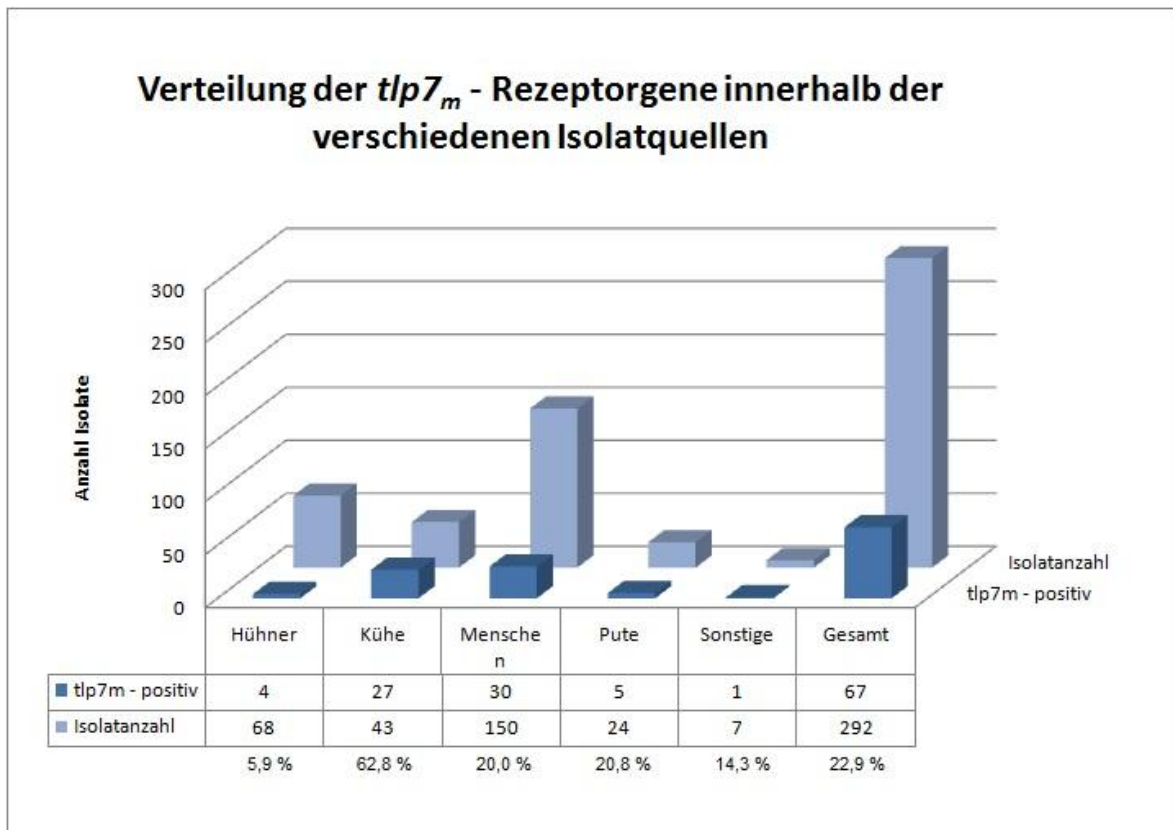


des Gen vor, was im Folgenden auch als *tlp7<sub>mc</sub>* bezeichnet wird. Zum anderen kam es als zweigeteilte Variante mit einem für ein 25 kDa und für einem für ein 33 kDa schweres Protein codierendes Gen vor, die als *tlp7<sub>m</sub>* bzw. *tlp7<sub>c</sub>* betitelt wurden. Diese zweigeteilte Variante entstand als Resultat eines unterbrechenden Stopcodons, welches die kodierende Sequenz (CDS) in zwei ORFs teilte (Abb. 7C). Die Variante *tlp7<sub>m</sub>/tlp7<sub>c</sub>* wurde in 22,9 % (67/292) aller Isolate gefunden; diese befanden sich mit einem Signifikanzlevel von jeweils  $p < 0,001$  überwiegend in Isolaten, die den drei Gruppen ST21, ST53, CC61 sowie in Isolaten der Gruppe ST38 (vergleiche Tab. 10 und Abb. 10). Betreffend der Isolatequellen wurde bei *tlp7<sub>m</sub>/tlp7<sub>c</sub>* entdeckt, dass sie mit 5,9 % (4/68) signifikant selten ( $p < 0,001$ ) in Hühnerisolaten, jedoch mit 62,8 % (27/43) signifikant häufig ( $p < 0,001$ ) in bovinen Isolaten (siehe Tab. 10 und Abb. 17) vorzufinden waren. Das größere intakte Rezeptorgen *tlp7<sub>mc</sub>* war in 77,1 % (225/292) aller untersuchten Proben vorhanden. Es kam signifikant häufiger in Hühnerisolaten vor. 94,1 % (64/68) aller aus Hühnern isolierten Proben waren positiv für das Chemorezeptorgen *tlp7<sub>mc</sub>*. Auch in Menschenisolaten mit 80,0 % (120/150) und Putenisolaten mit 79,2 % (19/24) war dieses Gen signifikant häufiger vertreten (vergleiche Abb. 16).



**Abb. 16: Verteilung der *tlp7<sub>mc</sub>*-Rezeptorgene innerhalb der verschiedenen Isolationsquellen**

Verteilung der *tlp7<sub>mc</sub>*-positiven Isolate im Vergleich mit der gesamten Probenanzahl der jeweiligen Isolatgruppe sowie deren prozentualen Anteil. In der Gruppe "Sonstige" wurden Isolate aus dem Wasser, von Hunden, Schafen und Wildvögeln zusammengefasst.



**Abb. 17: Verteilung der *tlp7<sub>m</sub>*-Rezeptorgene innerhalb der verschiedenen Isolationsquellen**

Verteilung der *tlp7<sub>m</sub>*-positiven Isolate im Vergleich mit der gesamten Probenanzahl der jeweiligen Isolatgruppe sowie deren prozentualen Anteil. In der Gruppe "Sonstige" wurden Isolate aus dem Wasser, von Hunden, Schafen und Wildvögeln zusammengefasst.

### 3.6.5 Die Verteilung der *tlp*-Rezeptorgene innerhalb der verschiedenen Speziesgruppen

Im Folgenden wird die Verteilung der *tlp*-Chemotaxisrezeptorgene innerhalb der verschiedenen Wirtsspezies näher beleuchtet; hierbei finden die ubiquitär vorhandenen Rezeptorgene keine Beachtung, sie werden nicht für jede Isolatquellengruppe einzeln erwähnt.

**Bakterienisolate von Hühnern:** Innerhalb der von Hühnern isolierten Bakterien zeigte sich eine deutliche Dominanz des vorherrschenden Chemorezeptorgens *tlp7<sub>mc</sub>* mit 94,1 % (64/68), gefolgt von dem Vorkommen von *tlp5* (intaktes Gen), welches mit 51,5 % (35/68)

in den untersuchten Hühnerisolaten präsent war. Für *tlp13* wurde 47,1 % (32/68) und für *tlp12* 33,8 % (23/68) der Isolate positiv getestet. Deutlich geringer ausgeprägt war das Vorkommen von *tlp4* mit 26,5 % (18/68) sowie von *tlp7<sub>m</sub>* und *tlp11* in Isolaten dieser Speziesgruppe mit jeweils nur 5,9 % (4/68).

**Bakterienisolate von Rindern:** In bovinen Isolate dominierten vor allem *tlp5* (intaktes Gen) mit 72,1 % (31/43) und *tlp7<sub>m</sub>* mit 62,8 % (27/43). *Tlp11* war mit 55,8 % (24/43) vorzufinden. Die Rezeptorgene *tlp7<sub>mc</sub>* mit 37,2 % (16/43) und *tlp4* mit 32,6 % (14/43) waren seltener innerhalb der Rinderisolate vertreten. Die Häufigkeit des Auftretens von *tlp12* war in dieser Gruppe mit 11,6 % (5/43) nicht so gering wie die Häufigkeit von *tlp13* mit lediglich 4,7 % (2/43).

**Bakterienisolate von Menschen:** Die aus dem Stuhl von Menschen gewonnenen Isolate wiesen mit 80,0 % (120/150) einen hohen Anteil von *tlp7<sub>mc</sub>*-positiven Isolaten auf. Mit nur 56,0 % (84/150) Positivität war das *tlp5*-Rezeptorgen deutlich seltener in dieser Isolategruppe anzutreffen. Unwesentlich geringer zeigte sich die Präsenz der Rezeptorgene *tlp13*, welches mit 46,0 % (69/150) vertreten war und *tlp4*, welches in 40,7 % (61/150) der untersuchten Isolate zu finden war. Das Chemorezeptorgen *tlp12* besaß einen Anteil von 34,0 % (51/150) der untersuchten menschlichen Isolate, *tlp7<sub>m</sub>* war in 20,0 % (30/150) vorhanden. Den geringsten Anteil hatte das Chemorezeptorgen *tlp11*; dieses stellte mit nur 13,3 % (20/150) die kleinste positive Gruppe dar.

**Bakterienisolate von Puten:** Das Rezeptorgen *tlp7<sub>mc</sub>* besaß den größten Anteil innerhalb der aus Putenexkrementen, Kloakenabstrichen und Fleischproben gewonnenen Isolate mit 79,2 % (19/24). Die restlichen Chemotaxisrezeptorgene waren abgesehen von den ubiquitär vorkommenden Rezeptorgen nur spärlich vertreten. So waren die nächsthäufigsten Chemorezeptorgene *tlp5* und *tlp13* mit jeweils 37,5 % (9/24) präsent. *Tlp12* war mit nur 29,2 % (7/24) vorhanden, *tlp7<sub>m</sub>* mit 20,8 % (5/24) und *tlp11* mit lediglich 12,5 % (3/24). *Tlp4* zeigte sich mit 8,3 % (2/24) als der seltenste Vertreter innerhalb der untersuchten von Puten stammenden Bakterienisolate.

### 3.6.6 Gemeinsames Auftreten von Chemotaxisrezeptorgen

#### 3.6.6.1 Gemeinsames Auftreten von *tlp7<sub>m</sub>* und *tlp11*

Die Verteilung der *tlp7*-zwei-ORF-Variante *tlp7<sub>m</sub>* / *tlp7<sub>c</sub>* und des Gens *tlp11* innerhalb der Isolatekollektion zeigte eine statistische Korrelation. In den erhobenen Daten zeigte sich, dass 71,6 % (48/67) der *tlp7<sub>m</sub>*-positiven Proben auch für *tlp11* positiv ausfielen. Umgekehrt waren 92,3 % (48/52) der *tlp11*-positiven Isolate auch für *tlp7<sub>m</sub>* positiv. Während für *tlp7<sub>m</sub>*

22,9 % (67/292) aller untersuchten Proben positive Ergebnisse aufwiesen, waren für *tlp11* 17,8 % (52/292) der untersuchten Isolate positiv. Das gemeinsame Vorkommen dieser beiden Rezeptorgene kam in insgesamt 16,4 % (48/292) der Isolate vor.

Die Mehrheit der *tlp7<sub>m</sub>*- und *tlp11*-positiven Isolate war in ST21, ST53, CC48 und CC61 beheimatet (s. *Tab. 10* und *Tab. 10 (Fortsetzung)* sowie *Abb. 10*). Das gleichzeitige Auftreten dieser beiden *transducer-like*-Proteingene *tlp7<sub>m</sub>* und *tlp11* korrelierte signifikant ( $p < 0,001$ ) mit Proben bovinen Ursprungs. Die Rinderisolate wurden im Vergleich zu anderen Wirtsgruppen signifikant häufiger für *tlp7<sub>m</sub>* mit 62,8 % (27/43) und für *tlp11* mit 55,8 % (24/43) positiv getestet. Damit übereinstimmend konnten 51,2 % (22/43) der Isolate bovinen Ursprungs für diese beiden Gene *tlp7<sub>m</sub>* und *tlp11* positiv getestet werden. Im Gegensatz dazu waren beide Chemorezeptorgene signifikant ( $p < 0,001$ ) seltener in Hühnerisolaten zu finden. Lediglich 5,9 % (4/68) der Hühnerproben waren positiv für *tlp7<sub>m</sub>*. Ebenfalls 5,9 % (4/68) wurden für *tlp11* positiv getestet und nur 2,9 % (2/68) der Isolate enthielten beide Rezeptorgene *tlp7<sub>m</sub>* und *tlp11*.

Im Allgemeinen war das gemeinsame Auftreten von *tlp7<sub>m</sub>* und damit auch *tlp11* mit *tlp4* und *tlp12* selten. Nur 6,8 % (20/292) der Isolate wurden für das gemeinsame Auftreten von beiden Genen *tlp7<sub>m</sub>* und *tlp4* positiv getestet. Ähnlich gestalteten sich die Ergebnisse für das gemeinsame Erscheinen von *tlp7<sub>m</sub>* und *tlp12*, hier wurden lediglich 2,1 % (6/292) der Isolate als positiv für beide Rezeptorgene befunden. Das gleichzeitige Erscheinen von *tlp7<sub>m</sub>* und *tlp13* war ebenfalls selten. So wurden nur 4,8 % (14/292) als positiv für diese Rezeptorgenkombination getestet.

### **3.6.6.2 Die Chemorezeptorgengruppe *tlp4-tlp11-tlp12-tlp13***

Die Chemorezeptorgengruppe *tlp4-tlp11-tlp12-tlp13* eingehend zu betrachten und Gemeinsamkeiten sowie Unterschiede heraus zu kristallisieren erwies sich als besonders interessant, da diese vier Gene auf dem gleichen Genlocus in der Nähe des *zupT*-Gens lokalisiert waren (vergleiche *Abb. 7A*).

In den zuvor genannten für *tlp4* oder *tlp11* positiven Proben wurde *tlp12* signifikant seltener gefunden (9,4 %; 9/96). Nur 2,1 % (6/292) aller Isolate waren positiv für *tlp4* und *tlp12* und lediglich 0,7 % (2/292) der untersuchten Isolate fielen beim Betrachten des gleichzeitigen Auftretens von *tlp11* und *tlp12* positiv aus. Das gemeinsame Erscheinen von *tlp4* und *tlp11* war in nur 1,7 % (5/292) aller untersuchten Proben der Fall.

Positiv für die beiden Gene *tlp12* und *tlp13* waren 14,4 % (42/292) aller Isolate, diese erwiesen sich allerdings als negativ für *tlp4* und *tlp11*. Diese Isolate wurden vor allem in

ST257 und ST464 gefunden. Weiterhin waren 12,9 % (35/292) aller Isolate und dementsprechend 31,0 % (35/113) aller *tlp13*-positiven Isolate positiv für *tlp13* und negativ für *tlp4*, *tlp11* oder *tlp12*. In 9,9 % (29/292) kam das *tlp13*-Gen gemeinsam mit *tlp4* vor, vor allem in CC45. Vorwiegend ST53-Isolate waren positiv für die beiden Chemorezeptorgene *tlp11* und *tlp13*, jedoch lediglich mit einer Präsenz von 3,4 % (10/292). Bemerkenswerterweise waren 11,3 % (33/292) aller Isolate sowohl negativ für *tlp4*, *tlp11*, *tlp12* als auch für *tlp13*. Dies zeigte sich insbesondere auftretend in CC353 und CC45. Dahingegen waren nur 2,4 % (7/292) der Isolate positiv für das gleichzeitige Auftreten von drei Rezeptorgenen der Gengruppe *tlp4-tlp11-tlp12-tlp13*. Erstaunlicherweise stellte sich heraus, dass keiner der Isolate positiv für alle vier Gene der *tlp4-tlp11-tlp12-tlp13*-Gruppe getestet wurde (s. Tab. 10, Tab. 10 (Fortsetzung), Tab. 11 sowie Abb. 10).

**Tabelle 11: Häufigkeit des Auftretens der verschiedenen Rezeptorgenkombinationen**

<b>tlp</b>	<b>4</b>	<b>7<sub>m</sub></b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>
<b>4</b>	-	6,8 (20)	1,7 (5)	2,1 (6)	9,9 (29)
<b>7<sub>m</sub></b>	6,8 (20)	-	16,4 (48)	2,1 (6)	4,8 (14)
<b>11</b>	1,7 (5)	16,4 (48)	-	0,7 (2)	3,4 (10)
<b>12</b>	2,1 (6)	2,1 (6)	0,7 (2)	-	14,4 (42)
<b>13</b>	9,9 (29)	4,8 (14)	3,4 (10)	14,4 (42)	-

Angaben in Prozent; die Zahlen in den Klammern stellen die absoluten Anzahlen dar.

## 4 Diskussion

Für die Pathogenität von *C. jejuni* ssp. *jejuni* ist neben dem flagellaren Bewegungsapparat sowie neben den Adhäsionsproteinen auch die Chemotaxis ein wichtiger Bestandteil (Engelmann 1881; Miller *et al.* 2009). Diese wird maßgeblich durch die Chemotaxisrezeptoren bestimmt, welche auch als *transducer-like*-Proteinrezeptoren bezeichnet werden. Zu Beginn dieser Studie waren 13 *transducer-like*-Proteinrezeptorgene bekannt, diese wurden in drei Gruppen eingeteilt. Gruppe A bestand aus *tlp1-4*, *tlp7* mit zwei Varianten, *tlp7<sub>m</sub>* und *tlp7<sub>mc</sub>*, *tlp10* und *tlp11*. Gruppe B setzte sich zusammen aus *tlp9* und zweier Aerotaxisrezeptoren, die *tlp9* enthalten. *Tlp5*, *tlp6*, *tlp7<sub>c</sub>* und *tlp8* formten zusammen Gruppe C (Zautner *et al.* 2012a; Day *et al.* 2012; Tareen *et al.* 2010).

In dieser Arbeit wurde mit Hilfe der BLAST-Suche für alle 13 bisher beschriebenen *transducer-like*-Rezeptorgene nach Homologen und Paralogen in 142 *C. jejuni* ssp. *jejuni* Genomsequenzen der NCBI Genomdatenbank gesucht (s. Kap. 3.1.1).

Zusätzlich wurde das Vorhandensein dieser 13 bekannten Chemotaxisrezeptorgene in 292 *C. jejuni*-Isolaten (siehe *Tab. A1* im Anhang und *Abb. 10*) getestet. Die untersuchten Isolate stammten hauptsächlich von Menschen, Hühnern, Puten und Rindern.

### 4.1 Gruppe A-Chemotaxisrezeptorgene

Die aus dieser Studie gewonnenen Daten zeigten ein ubiquitäres Vorkommen von *tlp1* (*ccaA*) und *tlp3* (*ccmL*) und ein nahezu ubiquitäres Vorkommen von *tlp2*, welches in 97,3 % aller getesteten Isolate enthalten war und *tlp10*, das in 97,9 % aller getesteten Proben präsent war (s. Kap. 3.6.1 und *Abb. 6*).

#### 4.1.1 Nahezu ubiquitäres Auftreten der Rezeptorgene *tlp2* und *tlp10*

Das fast uneingeschränkte Vorkommen von *tlp2* und *tlp10* kann auf zwei Möglichkeiten basieren. Zum einen könnten die in dieser Studie verwendeten Primer für dieses Ergebnis ursächlich sein. Die Primerpaare wurden so positioniert, dass sie an konservierte Genomsequenzen binden. Folglich könnten die negativ getesteten *tlp2*- und *tlp10*-Gene vermutlich eine Mutation in der Primerbindestelle haben, was in einem negativen Testergebnis resultieren würde, obwohl das Gen eigentlich vorhanden wäre.

Zum anderen könnte diese Abweichung tatsächlich durch das Fehlen dieser Rezeptorgene *tlp2* und *tlp10* in den negativ getesteten Isolaten entstehen. Demzufolge sollten sich dieser

Studie weitere anschließen, um zu verstehen, ob und wie die Funktionen dieser eventuell fehlenden Chemorezeptoren kompensiert werden könnten.

#### **4.1.2 Das *transducer-like*-Proteingen *tlp4***

Das für Tlp4 kodierende Gen konnte in nur 33,6 % aller Isolate gefunden werden und war somit nicht ubiquitär vorhanden (s. *Abb. 11*). Ein eindeutiger Grund für das eingeschränkte Vorkommen konnte aus den Ergebnissen nicht ersehen werden, da Funktion und Effekte dieses Rezeptorgens *tlp4* auf die Chemotaxis weiterhin ungeklärt bleiben. Dieses Chemorezeptorgen konnte den acht klonalen Komplexen CC22, CC42, CC45, CC283, CC48, CC49, CC206 und CC52 zugeordnet werden (s. *Tab. 10* und *Abb. 10*).

#### **4.1.3 Zuordnung des Rezeptorgens *tlp11* zu klonalen Komplexen und Wirtszugehörigkeit**

Auch das *transducer-like*-Proteingen *tlp11* war mit 17,8 % aller getesteten Isolate nur in der Minderheit vorhanden (s. *Abb. 6*). Die *tlp11*-positiven Isolate waren vor allem in drei klonalen Komplexen auffindbar: CC21 (ST21 und ST53), CC48 (ST38) und CC61 (s. *Tab. 10 (Fortsetzung)*). Diese Gruppen wurden interessanterweise von Zautner *et al.* (2011) als hauptverantwortlich für die menschliche Campylobacteriose beschrieben. Des Weiteren wurde festgestellt, dass 55,8 % dieser Isolate von einem Rinderwirt stammten. Demzufolge könnte *tlp11* ein Marker für bovinen Isolatusprung sein.

Im Jahr 2016 wurde von Day *et al.* herausgefunden, dass das Chemotaxisrezeptorgen *tlp11* für einen Galaktoserezeptor von *C. jejuni* kodiert. Die Sensordomäne dieses *transducer-like*-Rezeptors stellte die Zucker bindende Domäne dCache\_1 dar.

Eine weitere interessante Beobachtung konnte in dieser Arbeit bezüglich des gemeinsamen Auftretens von *tlp11* und der Zwei-ORF-Variante des *tlp7*-Gens, auch als *tlp7<sub>m</sub>* bezeichnet, gemacht werden. Die Datenanalyse zeigte, dass 92,3 % (48/52) aller *tlp11*-positiven Isolate ebenfalls positiv für die Zwei-ORF-Variante des *tlp7*-Gens waren (s. Kap. 3.6.6.1). Auch die Zwei-ORF-Variante von *tlp7* ist ein Biomarker, der mit bovinem Isolatusprung assoziiert ist; er kam mit 62,8 % (27/43) signifikant häufig ( $p < 0,001$ ) in bovinen Isolaten vor (s. Kap. 3.6.4). Die biologische Signifikanz dieses Phänomens bleibt jedoch unklar, sodass an diesem Punkt weitere Forschungen folgen sollten, um diesen Zusammenhang besser verstehen zu können.

#### 4.1.4 Die beiden neu entdeckten Chemotaxisrezeptorgene *tlp12* und *tlp13*

Sowohl *tlp12* als auch *tlp13* wurden bis heute außerhalb dieser Studie noch nicht beschrieben. Sie wurden in der benachbarten Region des *zupT*-Gens gefunden. Wie in Abb. 7A dargestellt, wurden die vier verschiedenen Chemorezeptorgene *tlp4*, *tlp11*, *tlp12* und *tlp13* in dieser Region gefunden. Ihre Funktion ist bisher noch nicht vollständig erforscht. Allerdings wäre es aufgrund der genomischen Nähe dieser Chemorezeptoren denkbar, dass die Rezeptoren Tlp4, Tlp12 und Tlp13 wie Tlp11 ebenfalls Galaktoserezeptoren sein könnten. Einige der Isolate wurden negativ für alle vier dieser Chemorezeptorgene getestet, weswegen sie wahrscheinlich nicht essentiell für das Überleben von *C. jejuni* sind. Andererseits wurden Isolatgruppen entdeckt, die positiv für einzelne Gene oder eine Kombination von zwei oder drei dieser vier Chemorezeptoren waren (s. Kap 3.6.6.2 und Abb. 10).

Das neu beschriebene Chemorezeptorgen *tlp12* war in 29,5 % aller getesteten Isolate enthalten. Es zeigte sich eine deutliche Dominanz der Isolate der Gruppe ST50 für dieses Rezeptorgen (s. Tab. 10 (Fortsetzung)). Aufgrund der signifikanten Unterschiede in der Aminosäuresequenz der Sensordomäne (s. Abb. 8) ist ein funktioneller Unterschied zwischen *tlp12* zu *tlp4* höchstwahrscheinlich vorhanden.

In einem Nachfolgeprojekt dieser Arbeit charakterisierte die *Campylobacter*-Arbeitsgruppe aus Göttingen den Chemorezeptor Tlp12 mithilfe eines Knockout-Mutanten des *C. jejuni*-Isolats A17; in diesem Isolat sind natürlicherweise Tlp4, Tlp11 und Tlp13 nicht vorhanden (Lübke *et al.* 2018). Somit konnte der Chemorezeptor Tlp12 unabhängig von seinen verwandten *transducer-like*-Rezeptoren untersucht werden. Tlp12 wurde als Rezeptor für die Chemoattraktanzien Glutamat und Pyruvat detektiert. Glutamat spielt eine große Rolle in dem Metabolismus von *C. jejuni* (Chandrashekar *et al.* 2017). Zum einen kann Glutamat durch die Aminotransferase AspB in Aspartat umgewandelt werden, welches in der Energiegewinnung der Herstellung von ATP dient. Aspartat kann wiederum durch die Aspartase AspA in Fumarat umgewandelt werden, welches ebenfalls an der Herstellung von ATP beteiligt ist (Guccione *et al.* 2008). Zum anderen kann Glutamat mit freiem Ammoniak reagieren; durch die Glutaminsynthetase GlnA wird Glutamin hergestellt (Stahl *et al.* 2012). Somit spielt Glutamat und damit Tlp12 als Glutamat-detektierender Chemorezeptor eine Rolle in der Stickstoffaufnahme sowie in der Verbindung zwischen Stickstoff- und Kohlenstoffmetabolismus von *C. jejuni*. Des Weiteren wurde bei dem Tlp12-Knockout-Mutanten eine erhöhte Motilitätsrate und eine Steigerung der Invasionsrate festgestellt. Die Wachstumsrate zeigte sich jedoch bei dem Knockout-Mutanten deutlich reduziert im Vergleich zum Tlp12-Wildtyp (Lübke *et al.* 2018).



Der zweite neue Vertreter aus der Gruppe A der Chemorezeptorgengruppen war *tlp13*, welcher in 38,7 % aller getesteten Isolate vorhanden war. Die Sequenzidentität zwischen *tlp11* und *tlp13* war wesentlich größer als zwischen *tlp4* und *tlp12*, wohingegen funktionelle Unterschiede durch die Variationen in der Sensordomäne zwischen *tlp11* und *tlp13* nicht auszuschließen waren (s. Abb. 8). Auch hierauf sollte durch weitere Forschung und Rezeptorcharakterisierung näher eingegangen werden.

Die Chemotaxisrezeptoren *tlp12* und *tlp13* zeigten sich insbesondere mit Hühnern als Wirt assoziiert. Bei *tlp12* stammten 33,8 % und bei *tlp13* 47,1 % aller der für diese Rezeptoren positiv getesteten Isolate aus Hühnerisolaten. Das Hühnerintestinum gilt als Glutamat- bzw. Glutamin- und Pyruvatreich (Parsons *et al.* 1983; Guccione *et al.* 2008; Lübke *et al.* 2018). Um in Erfahrung zu bringen, ob *tlp13* ebenfalls als Glutamat-detektierender Chemorezeptor eine Rolle spielt, sollte sich eine Charakterisierung dieses *transducer-like*-Rezeptors an diese Arbeit anschließen.

Es zeigte sich, dass die genomische Region, die das *zupT*-Gen benachbart, die variabelste Region im Hinblick auf die Chemorezeptorgene darstellt. Aufgrund ihrer hohen Sequenzhomologie und ihrer engen nachbarschaftlichen Beziehung zu der genomischen Region *zupT* kann davon ausgegangen werden, dass diese vier Rezeptorgene Paraloge sind, welche von einem gemeinsamen *transducer-like*-Proteingen als Vorfahren abstammten und durch Anpassung an ökologische Nischen entstanden sind (s. Abb. 7A und Abb. 9).

Überblickend betrachtet vermittelt die Verteilung der vier Rezeptoren Tlp4, Tlp11, Tlp12 und Tlp13 den Eindruck, dass die einzelnen Rezeptoren dieser Gruppe sich zu einem gewissen Grad gegenseitig substituieren. Darauf sollte durch weitere Forschung näher eingegangen werden.

## 4.2 Gruppe B- und C-Chemotaxisrezeptorgene

*Tlp9/CetA*-, *Aer1*- und *Aer2*- Chemorezeptorgene der Gruppe B waren in der gesamten Testpopulation ubiquitär vorhanden, ebenso wie die Gruppe C Rezeptorgene *tlp6* und *tlp8*. Diese Beobachtung ist auf die biologische Rolle zurückzuführen, die die Chemorezeptoren der Gruppe B und C zusammenwirkend spielen. Beispielsweise zeigte eine im Jahr 2013 veröffentlichte Studie, die die Energietaxis-Subsysteme von *C. jejuni* untersuchte, dass diese Bakterienspezies mit zwei Energietaxis-Subsystemen ausgestattet ist. Diese sind erstens CetABC (CetA=*tlp9*, CetB=*Aer2* und CetC=*Aer1*) und zweitens CetZ=*tlp8* (Reuter und van Vliet 2013).

Dieses Energietaxis-Subsystem kontrolliert die *C. jejuni*-Fortbewegung auf eine gut koordinierte Weise. Es ist anzunehmen, dass die einzelnen Subsysteme in der Lage wären, den Ausfall einer Komponente zu kompensieren. In dieser Arbeit stellte die einzige nicht ubiquitär vorkommende Ausnahme der Gruppe C Rezeptoren das Rezeptorgen *tlp5* dar, welches sowohl als intaktes Gen als auch als geteiltes Pseudogen auftrat. Das geteilte Pseudogen kam in 43,5% aller getesteten Isolate vor (s. Kap. 3.6.3). Dieses Ergebnis wies darauf hin, dass *tlp5* in manchen ökologischen Nischen nicht essentiell für das Überleben von *C. jejuni* sein könnte. Signifikant war, dass das intakte *tlp5*-Gen vor allem in bovinen Isolaten verbreitet war (s. *Abb. 15*).

### **4.3 Ergebnisse dieser Studie im Kontext der aktuellen Literatur**

Die in dieser Studie gewonnenen Daten zeigten, dass ein Großteil der *C. jejuni*-Chemotaxisrezeptoren unabhängig von Wirt, Isolationsquelle und klonalem Komplex ubiquitär vorhanden waren.

#### **4.3.1 Vergleich mit einer von Day *et al.* veröffentlichten Studie bezüglich Variation der Chemosensorrezeptoren in *C. jejuni*-Stämmen**

Diese gewonnene Erkenntnis erweitert die ähnliche Beobachtung, die in einer vorhergehenden Forschungsstudie von Day und Arbeitskollegen im Jahr 2012 gemacht wurde. Dort wurde das Vorkommen von Gruppe A Rezeptorgen in einer Isolatgruppe von 33 Isolaten untersucht. Diese setzten sich zusammen aus 13 Isolaten von Menschen, 7 Isolaten von Hühnern sowie 13 labortechnisch hergestellten Referenzstämmen. Day *et al.* zeigten Folgendes: Das ubiquitäre Vorkommen von *tlp1* (*ccaA*), ein höheres, jedoch nicht ubiquitäres Auftreten von *tlp2*, *tlp3* (*ccmL*), *tlp4*, *tlp7* und *tlp10* sowie das seltene Vorkommen von *tlp11* (Day *et al.* 2012).

Die Aussage, dass das Aspartat-Chemorezeptorproteingen *tlp1* (*ccaA*) ubiquitär vorhanden sei (Day *et al.* 2012), konnte anhand der in dieser Studie erhaltenen Ergebnisse bestätigt werden (s. Kap. 3.1.2 und *Abb. 6*). Somit liegt die Interpretation nahe, dass dieser Rezeptor eine essentielle Rolle für das Überleben von *C. jejuni* spiele, wie es auch von Hartley-Tassell *et al.* (2010) demonstriert wurde.

Die ebenso von Day und Kollegen (2012) getätigte Aussage, das Rezeptorgen *tlp3* würde nicht ubiquitär auftreten, konnte den in dieser Forschungsarbeit gewonnenen Ergebnissen zufolge nicht bestätigt werden. In den im Rahmen dieser Dissertation untersuchten 292

Isolaten kam dieses Chemotaxisrezeptorgen ubiquitär vor (s. Kap. 3.1.2 und *Abb. 6*). Ein möglicher Grund für diese Differenz der Resultate könnte darin liegen, dass die zytosolischen Signaldomänen der *transducer-like*-Proteingene *tlp2* und *tlp3* nahezu identisch waren; deshalb wurden für diese Forschung spezielle Primerpaare konzipiert, die fähig waren, in spezifischen Genregionen die periplasmatischen Sensordomänen zu kodieren.

Der gleichen Arbeitsgruppe zufolge war das Chemotaxisrezeptorgen *tlp11* in nur 30,3% (10/33) der untersuchten Isolate vorhanden. Laut den Ergebnissen dieser Arbeit käme *tlp11* sogar deutlich seltener mit 17,8 % (52/292) vor (s. Kap. 3.1.2 und *Abb. 6*). Dieser deutliche Unterschied war höchstwahrscheinlich auf die differierende Anzahl der untersuchten Isolate zurückzuführen. Die Isolatanzahl mit 33 untersuchten Isolaten war zu gering, um daraus ableitend zuverlässige Rückschlüsse über die Verteilung von *C. jejuni* schließen zu können (Day *et al.* 2012).

Des Weiteren wurde in der Publikation von Day und Kollegen nicht die Assoziation zu anderen Faktoren beachtet, wie die Zugehörigkeit zu multilokussequenztypisierten klonalen Komplexen und Sequenztypen (CC/ST) sowie das Vorkommen der *transducer-like*-Proteingene in anderen Wirten als Menschen und Hühnern. Ebenso fanden die gesamten Chemotaxisproteine der Gruppe B- und C-Rezeptorgene in der Arbeit von Day *et al.* keine Erwähnung.

Auch auf die genetischen Varianten der Gene *tlp4*, *tlp7*, *tlp11*, dem *tlp5*-Pseudogen und auf das gemeinsame Auftreten der Rezeptoren wurde von dieser Arbeitsgruppe nicht näher eingegangen (Day *et al.* 2012).

#### **4.3.2 Der klonale Komplex CC21**

Fearnley *et al.* (2008) zeigten, dass der Großteil der hyperinvasiven *C. jejuni*-Isolate dem MLST-Cluster CC21 angehörten. Dies wurde unter anderem damit begründet, dass in diesem klonalen Komplex die Lipooligosaccharidklasse C häufig vertreten war. Auch die für diese Dissertation gewonnenen Daten bestätigten die Annahme, dass der klonale Komplex CC21 ein größeres Potential für eine höhere Virulenz innehatte als andere *C. jejuni*-Gruppen. So war in allen 84 Isolaten dieses Komplexes neben den ubiquitär vorkommenden *transducer-like*-Proteinrezeptoren auch das intakte *tlp5*-Gen zu 100 % (84/84) vorhanden. Das Rezeptorgen *tlp7<sub>m</sub>/tlp7<sub>c</sub>* war hier mit 59,5 % (50/84) signifikant ( $p < 0,001$ ) häufig vorhanden. Besonders hervorzuheben waren die dem CC21 untergeordneten Sequenztypen ST21 und ST53. In dem ST21 war das Rezeptorgen *tlp7<sub>m</sub>* zu 96,8 % (30/31) vertreten und

das Gen *tlp11* war mit 74,2 % (23/31) signifikant ( $p < 0,001$ ) häufiger vorzufinden. In dem Sequenztyp ST53 wurde das Rezeptorgen *tlp7<sub>m</sub>* zu 100 % (8/8) gefunden, *tlp11* und *tlp13* waren jeweils signifikant ( $p < 0,001$ ) öfter mit 87,5 % (7/8) vertreten (s. Tab. 10 (Fortsetzung)).

#### 4.3.3 Die Rezeptorgene *tlp11* und *tlp7<sub>m</sub>* als Virulenz-assoziierte Markergene

Day *et al.* (2012) spekulierten, dass das *transducer-like*-Proteingen *tlp11* ein Virulenz-assoziiertes Marker sein könnte. Sie begründeten diese Annahme mit dem Vorkommen von *tlp11* in den *C. jejuni*-Erregerstämmen 84-25 und 520. Der erstgenannte Erregerstamm 84-25 stamme laut Blaser *et al.* (1986) von einem Campylobacteriosefall mit Meningitis; der andere Stamm 520 wurde von Korolik und Ketley (2008) als hochinvasiv deklariert.

Auch die Ergebnisse dieser Forschungsarbeit bestätigten das Vorkommen von *tlp11* in dem Stamm 84-25, allerdings war dieses Isolat neben den ubiquitär auftretenden Chemotaxisrezeptorgen ebenso positiv für die zwei-ORF-Variante *tlp7<sub>m</sub>*.

Der von Fearnley *et al.* (2008) als hochinvasiv deklarierte Stamm NCTC11168 erwies sich in dieser Dissertationsarbeit ebenso als positiv für *tlp7<sub>m</sub>*.

Der von Tareen *et al.* (2010) durch Gentamicin-Protektionsassays als noch invasiverer Stamm getesteter Erregerstamm B2 wurde in der für diese Dissertation durchgeführten Arbeit auf beide Rezeptorgene *tlp7<sub>m</sub>* und *tlp11* untersucht; auch dieser Erregerstamm stellte sich als positiv für beide Gene dar.

Fearnley und Kollegen (2008) fanden, dass der Großteil der potenten hyperinvasiven Isolate dem MLST-Gencluster CC21 angehörte. Auch in einer Studie von Zautner *et al.* (2011) wurden die Cluster CC21, CC48 und CC61 als diejenigen Isolatgruppen detektiert, die vornehmlich für die Campylobacteriose des Menschen ursächlich waren.

Auffallend war in dieser Untersuchung das signifikant häufige Vorkommen der Zwei-ORF-Variante *tlp7<sub>m</sub>* mit 59,5 % innerhalb des klonalen Komplexes CC21, vor allem in den Sequenztypen ST21 (mit 96,8 %) und ST53 (mit 100 %). Auch in dem dem Cluster CC48 angehörigen ST38 war *tlp7<sub>m</sub>* mit 100 % signifikant oft anzutreffen. In dem klonalen Komplex CC61 war dieses Rezeptorgen mit 90,9 % ebenfalls weit verbreitet (s. Tab. 10).

Auch das Gen *tlp11* war häufig in dem Cluster CC21 vorzufinden, vornehmlich in dessen Sequenztypen ST21 mit 74,2 % und ST53 mit 87,5 %. In dem dem CC48 zugehörigen ST38 war das Rezeptorgen *tlp11* zu 100 % vertreten. Ebenso in dem klonalen Komplex CC61 war dieses Gen mit 90,9 % häufig anzutreffen (s. Tab. 10 (Fortsetzung)).

Der als wenig invasiv detektierte Referenzstamm NCTC81116 (Fearnley *et al.* 2008) war hingegen negativ für beide Chemotaxisrezeptorgene *tlp7<sub>m</sub>* und *tlp11* getestet.

Diesen Erkenntnissen zufolge konnte die Annahme von Day *et al.* (2012), *tlp11* sei möglicherweise ein Invasivitäts-assoziiertes Marker, nach Durchführung der Experimente dieser Forschungsarbeit unterstützt werden.

Hinzukommend lag die Vermutung nahe, dass auch die Zwei-ORF-Variante *tlp7<sub>m</sub>* ein Marker für Virulenz-assoziierte Faktoren darstellte; ihr Vorkommen war häufig in hoch- und hyperinvasiven Stämmen – bzw. dessen Abstinenz in wenig invasiven Erregerstämmen – vorzufinden. Dies wurde in einer Studie von Tareen *et al.* (2010) bestätigt, in der mittels eines *tlp7<sub>m</sub>*-Knockout-Mutanten die Pathogenität des Rezeptorgens *tlp7<sub>m</sub>* untersucht wurde. Dort zeigte sich, dass die *in vitro*-Motilität des B2-Mutantenisolates deutlich geringer ausfiel als die des unveränderten B2-Isolats.

#### **4.3.4 Vergleich der Verteilung innerhalb der Isolationsquellen mit Metabolismus-assoziierten und Pathogenitäts-assoziierten genetischen Markern**

In einer Studie von Zautner *et al.* (2011) wurden sechs Metabolismus-assoziierte genetische Marker auf ihre Verteilung innerhalb der klonalen Komplexe untersucht. Dort wurden die *C. jejuni*-Isolate anhand von Isolationsquellen und MLST-Ergebnissen in sechs Gruppen eingeteilt. Hierbei wurde die Gruppe 2 in zwei Subtypen aufgeteilt, 2a und 2b. Die Gruppe 2a beinhaltete die klonalen Komplexe CC22 und CC42, die Gruppe 2b enthielt CC45 und CC283. Es wurde herausgefunden, dass *ggt* ( $\gamma$ -Glutamyl-Transpeptidase) in der gesamten Gruppe 2 vorkam.

In einer weiteren Studie der Arbeitsgruppe Zautner *et al.* (2012b) wurde die Distribution von Pathogenitäts-assoziierten genetischen Markern innerhalb der *C. jejuni*-Gruppen untersucht. Auch hierbei wurde die Gruppe 2 besonders hervorgehoben. Neben dem hier auftretenden ungewöhnlich hohen Vorkommen von Aminosäuremetabolismus wurde herausgefunden, dass diese Gruppe durch das fehlende *fucP*-Gen (L-Fucose-Permease-Gen) nicht fähig war, L-Fucose zu verwerten.

Analog dazu wurde in der Arbeit für diese Dissertation entdeckt, dass das intakte *tlp5*-Gen ebenfalls in diesen vier genannten klonalen Komplexen CC22, CC42, CC45 und CC283 zu 100 % vertreten war. Auch das Chemorezeptorgen *tlp4* war mit 83,3 % in CC283 (Signifikanzlevel  $p < 0,05$ ) und 57,6 % in CC45 (Signifikanzlevel  $p < 0,001$ ) in der Subgruppe 2b signifikant oft zu finden. Die Rezeptorgene *tlp7<sub>m</sub>* und *tlp11* hingegen waren in dieser

Subgruppe nicht vertreten (s. *Tab. 10* und *Tab. 10 (Fortsetzung)*). Die Frage eines kausalen Zusammenhanges sollte Gegenstand weiterer Forschungsarbeiten sein.

Die von Zautner *et al.* (2011) veröffentlichte Arbeit zeigte ebenfalls, dass mithilfe von *ggt*, *ansB* (Asparaginase mit zusätzlichem *N*-terminalen *sec*-abhängigen Sekretionssignal) und *dmsA* (Dimethyl-Sulfoxid-Oxydoreduktase-Subeinheit A) der klonale Komplex CC21 von seinen Verwandten CC48 und CC206 unterschieden werden konnte, da die beiden letzteren exklusiv für *cj1585c* und *cj1365c* positiv waren. Eine ähnliche Unterscheidung wurde auch anhand der in dieser Studie gewonnenen Daten gemacht. So waren die beiden verwandten klonalen Komplexe CC206 und CC49 positiv für *tlp11*, allerdings war CC206 signifikant häufig positiv für *tlp5* und CC49 negativ für dieses Rezeptorgen. Auch der ebenfalls mit CC206 und CC49 verwandte CC446 war negativ für *tlp11*, jedoch zu 100 % positiv für *tlp13*. Somit wurde eine Differenzierung der Isolate in die unterschiedlichen klonalen Komplexe anhand der *transducer-like*-Proteingene getroffen (s. *Tab. 10* und *Tab. 10 (Fortsetzung)*).

Zautner und Arbeitskollegen (2012b) legten einen weiteren Fokus auf die *C. jejuni*-Gruppe 6, welche aus dem klonalen Komplex CC257 bestand. Diese Gruppe war positiv für *ansB* und *dmsA*, wie es für die Gruppe 2 typisch war, und positiv für *fucP*, wie es für Gruppe 1 typischerweise der Fall war. Für *ggt* wurde die Gruppe 6 negativ getestet. Der klonale Komplex CC257 wurde in dieser Arbeit neben den ubiquitär auftretenden *transducer-like*-Proteingenen nur für die Chemorezeptorgene *tlp12* und *tlp13* positiv getestet. Diese kamen innerhalb der Gruppe 6 mit 80 % für *tlp12* (Signifikanzlevel  $p < 0,05$ ) und 90 % für *tlp13* (Signifikanzlevel  $p < 0,001$ ) signifikant häufig vor. Interessanterweise war der erweiterte Aminosäuremetabolismus mittels *ansB* und *dmsA* ebenfalls mit Hühnern assoziiert (Zautner *et al.* 2011). Hier scheint eine Korrelation zu der Affinität von *tlp12* und *tlp13* zu Hühnerisolaten zu bestehen.

Die Rezeptorgene *tlp4*, das intakte *tlp5*-Gen, *tlp7<sub>m</sub>* und *tlp11* waren in dieser Gruppe nicht vorzufinden (s. *Tab. 10* und *Tab. 10 (Fortsetzung)*). Der Frage einer eventuellen Korrelation zwischen *ansB* und *dmsA* einerseits und *tlp12* und *tlp13* andererseits sollte durch weitere Forschung nachgegangen werden.

## 5 Zusammenfassung

Für die Kontrolle des flagellaren Bewegungsapparates von *C. jejuni* waren bis dato 13 verschiedene Chemotaxisrezeptorgene bekannt, *tlp1* (*ccaA*), *tlp2*, *tlp3* (*ccmL*), *tlp4*, *tlp5*, *tlp6*, *tlp7<sub>mc</sub>*, die zweigeteilte ORF-Variante *tlp7<sub>m</sub>*, *tlp8* und *tlp9/cetABC* (inklusive der beiden zytoplasmatischen Ligandenproteine *cetA*, *cetB/aer2*, *cetC/aer1*) und *tlp10* und *tlp11*. Mittels BLAST-Suche wurde in den 142 *C. jejuni* Genomsequenzen, die in der NCBI-Genomdatenbank hinterlegt waren, nach Homologen und Paralogen für die bis dato bekannten Chemotaxisrezeptorgene gesucht. Hierbei konnte ein *tlp5*-Pseudogen sowie zwei bisher noch nicht beschriebene *tlp*-Gene gefunden werden. Diese beiden Gene befanden sich im *C. jejuni*-Genom an demselben Genlocus wie *tlp4* und *tlp11*, jedoch wies die für die periplasmatische Ligandenbindungsdomäne kodierende Region jeweils signifikante Unterschiede in der Gensequenz auf. Somit wurde von zwei neuen Rezeptorgenen ausgegangen, welche als *tlp12* und *tlp13* bezeichnet wurden. Für das bessere Verständnis des Vorkommens dieser neu entdeckten sowie der bis dato bekannten *transducer-like*-Proteingene wurde die Präsenz aller Rezeptorgene in 292 MLST-typisierten *C. jejuni*-Isolaten unterschiedlicher Isolationsquellen mittels PCR durchgeführt. Die folgenden 5 der 15 Chemotaxisrezeptorgene erwiesen sich als ubiquitär, *tlp1* (*ccaA*), *tlp3* (*ccmL*), *tlp6*, *tlp8* und *tlp9/cetABC* (inklusive der beiden zytoplasmatischen Ligandenproteine *cetA*, *cetB/aer2*, *cetC/aer1*). *Tlp 2* und *tlp10* erwiesen sich als nahezu ubiquitär vorhanden mit jeweils 97,9 %. Mit 77,1 % war *tlp7<sub>mc</sub>* einer der häufig vorkommenden Rezeptoren, seine zweigeteilte ORF-Variante *tlp7<sub>m</sub>* konnte in 22,9 % aller Isolate gefunden werden. Für das intakte *tlp5*-Gen stellten sich 56,6 % aller Isolate als positiv heraus, wohingegen 43,4 % positiv für das Pseudogen waren. Dabei waren alle der getesteten 292 Isolate für eines dieser beiden Gene positiv. *Tlp4*, *tlp11*, *tlp12* und *tlp13* schienen sich weitestgehend gegenseitig auszuschließen. In der Minderheit der Isolate kamen zwei oder drei dieser Rezeptorgene gemeinsam vor. Einige Isolate wurden negativ für alle vier dieser Rezeptorgene getestet. *Tlp4* wurde in 33,6 % aller Isolate gefunden und signifikant weniger oft in Putenisolaten. In 29,5 % aller Isolate wurde *tlp12* gefunden. *Tlp11* kam lediglich in 17,8 % vor, *tlp13* wurde in 38,7 % der getesteten Proben positiv getestet. Bei *tlp 11* stammten 55,8 % und bei *tlp7<sub>m</sub>* 62,8 % der positiven Isolate von einem Rinderwirt; beide Rezeptoren könnten somit ein Biomarker für bovinen Isolaturprung sein. *Tlp12* und *tlp13* waren beide vermehrt mit Hühnerisolaten assoziiert; bei *tlp12* stammten 33,8 % und bei *tlp13* 47,1 % aller der für diese Rezeptoren positiv getesteten Isolate aus Hühnerisolaten

## 6 Anhang

Tabelle A1: 292 MLST-Typisierte *C. jejuni*-Isolate

isolate	origin	MLST-S	MLST-CC	tlp1	tlp2	tlp3	tlp4	tlp5	tlp5PG	tlp6	tlp7mc	tlp7m	tlp8	cetA	cetB	aer1	tlp10	tlp11	tlp12	tlp13
huA02	human	4588	21																	
huA21	human	4588	21																	
huA05	human	507	21																	
huB02	human	53	21																	
huB25	human	53	21																	
huC18	human	53	21																	
bovC207	cow	53	21																	
huBFR3865	human	53	21																	
huBFR3866	human	53	21																	
huBFR3876	human	53	21																	
huBFR3881	human	53	21																	
bovC66	cow	4664	21																	
huA18	human	21	21																	
huC26	human	21	21																	
huD06	human	21	21																	
huD16	human	21	21																	
huE01	human	21	21																	
gal7089RP	chicken	21	21																	
gal7255BY	chicken	21	21																	
gal518	chicken	21	21																	
bovC137	cow	21	21																	
bovC79	cow	21	21																	
bovC536	cow	21	21																	
bovC397	cow	21	21																	
bovC250	cow	21	21																	
bovC567	cow	21	21																	
bovC399	cow	21	21																	
bovC486	cow	21	21																	
bovC401	cow	21	21																	
bovC248	cow	21	21																	
bovC402	cow	21	21																	
bovC086	cow	21	21																	
bovC404	cow	21	21																	
meC0287	turkey	21	21																	
meC0318	turkey	21	21																	
meC0001	turkey	21	21																	
huBFR3869	human	21	21																	
huBFR3872	human	21	21																	
huBFR3883	human	21	21																	
huBFR3898	human	21	21																	
ovBFR3913	ovine	21	21																	
galBFR3935	chicken	21	21																	
huBFR4012	human	21	21																	
huB14	human	4635	21																	
huB24	human	4639	21																	
huA24	human	19	21																	
bovC508	cow	19	21																	
huA31	human	50	21																	
huB15	human	50	21																	
huC01	human	50	21																	
huC06	human	50	21																	
huC23	human	50	21																	
huD07	human	50	21																	
huD08	human	50	21																	
huD20	human	50	21																	
huD21	human	50	21																	
gal7252NI	chicken	50	21																	
gal7278BB	chicken	50	21																	
gal7292BB	chicken	50	21																	
gal7297BB	chicken	50	21																	
gal245	chicken	50	21																	
bovC55	cow	50	21																	
meC0133	turkey	50	21																	
meC0340	turkey	50	21																	
gal7267BB	chicken	4661	21																	
gal7240BW	chicken	4660	21																	
huB17	human	1823	21																	
bovC0172	cow	1823	21																	
meC0438	turkey	1823	21																	
meC0999	turkey	4673	21																	
bovC127	cow	262	21																	
ovBFR3927	ovine	262	21																	
bovC0148	cow	1704	21																	
huC03	human	4640	21																	
huC02	human	760	21																	
huC11	human	2845	21																	
huC19	human	4648	21																	
galBFR3922	chicken	46	206																	
galBFR3926	chicken	46	206																	
galBFR3951	chicken	46	206																	
huA03	human	1519	21																	



isolate	origin	MLST-ST	MLST-CC	tp1	tp2	tp3	tp4	tp5	tp5PG	tp6	tp7mc	tp7m	tp8	cetA	cetB	aer1	tp10	tp11	tp12	tp13	
huA03	human	1519	21																		
huB09	human	4286	21																		
meC0450	turkey	4672	21																		
gal7280BY	chicken	4663	21																		
bovC403	cow	4667	21																		
huNCTC11168	human	43	21																		
huA06	human	4587	49																		
huD14	human	1911	none																		
galHS04	chicken	3529	none																		
galHS12	chicken	3529	none																		
galHS13	chicken	3529	none																		
galHS06	chicken	4657	none																		
meC0128	turkey	2175	none																		
huA22	human	4630	52																		
huC25	human	775	52																		
huB20	human	4637	52																		
huA34	human	572	206																		
huC04	human	4641	607																		
meC0847	turkey	2091	52																		
huC10	human	4644	none																		
gal7090TH	chicken	2274	none																		
ovBFR3871	ovine	52	52																		
huB06	human	4631	446																		
huE12	human	450	446																		
gal4258NI	chicken	450	446																		
gal4116NI	chicken	450	446																		
meC0282	turkey	450	446																		
huA33	human	4590	49																		
huB12	human	4634	49																		
huE02	human	49	49																		
galBFR3948	chicken	49	49																		
huD04	human	4359	none																		
bovC171	cow	4669	none																		
huBFR3874	chicken	1739	22																		
meC0129	turkey	1348	61																		
huA04	human	4626	1034																		
gal509	chicken	977	1034																		
meC0306	turkey	4671	1034																		
meC0816	turkey	1709	1034																		
gal7085NW	chicken	2367	1034																		
huD15	human	5272	1034																		
meC1496	turkey	4674	1034																		
meC1541	turkey	4430	none																		
huD01	human	4907	none																		
gal7258TH	chicken	4676	none																		
huA09	human	354	354																		
huB16	human	354	354																		
gal7270BW	chicken	2288	354																		
meC0130	turkey	2288	354																		
huC21	human	4649	354																		
gal7111BY	chicken	990	257																		
huA11	human	2034	443																		
huC20	human	51	443																		
huC24	human	51	443																		
meC0283	turkey	443	443																		
meC0149	turkey	4675	443																		
huA10	human	122	206																		
huA28	human	122	206																		
huA35	human	122	206																		
huB18	human	122	206																		
gal151003ZH0097	chicken	122	206																		
huA13	human	3188	206																		
huB08	human	4633	206																		
huA20	human	572	206																		
huA26	human	572	206																		
gal7060SN	chicken	572	206																		
bovC159	cow	572	206																		
gal7275RP	chicken	4662	48																		
gal7289BY	chicken	4662	48																		
huC17	human	4647	48																		
bovC323	cow	4647	48																		
huB07	human	4632	206																		
huE13	human	4652	206																		
huE16	human	4654	none																		
huA17	human	221	206																		
galHW1	chicken	2192	206																		
galHW5	chicken	2192	206																		
galHW6	chicken	2192	206																		
huB03	human	535	460																		
bovC539	cow	38	48																		
bovC405	cow	38	48																		
bovC540	cow	38	48																		
bovC0111	cow	3158	48																		
huD03	human	7013	none																		
galHR1	chicken	2897	none																		
galHR4	chicken	2897	none																		
galHR5	chicken	2897	none																		
galHS01	chicken	877	none																		
galHS10	chicken	877	none																		
galHS16	chicken	4659	none																		
huE11	human	4651	none																		
huA16	human	257	257																		
huB11	human	257	257																		
huB13	human	257	257																		
huC28	human	257	257																		
huE23	human	257	257																		
meC0475	turkey	257	257																		
huC22	human	584	257																		
huD18	human	609	none																		
huD19	human	609	none																		
meC0374	turkey	824	257																		
huC16	human	4646	460																		
huA14	human	380	none																		
huB22	human	380	none																		

isolate	origin	MLST-ST	MLST-CC	tip1	tip2	tip3	tip4	tip5	tip5PG	tip6	tip7mc	tip7m	tip8	cetA	cetB	aer1	tip10	tip11	tip12	tip13
huB22	human	380	none																	
huA25	human	4589	52																	
hu84-25	human	185	21																	
huA27	human	464	464																	
huD12	human	464	464																	
huD13	human	464	464																	
galHW2	chicken	464	464																	
galHW3	chicken	464	464																	
galHW4	chicken	464	464																	
galHW7	chicken	464	464																	
meC0680	turkey	464	464																	
huB19	human	4636	none																	
huC05	human	4642	353																	
galHS02	chicken	353	353																	
galHS07	chicken	353	353																	
galHS09	chicken	353	353																	
galHS14	chicken	353	353																	
gal7126RP	chicken	353	353																	
galHS03	chicken	4656	353																	
galHS08	chicken	4658	353																	
huB10	human	48	48																	
huD09	human	48	48																	
huD10	human	48	48																	
huE04	human	48	48																	
gal7073HE	chicken	48	48																	
bovC246	cow	48	48																	
bovBFR3885	cow	48	48																	
bovC090	cow	3203	48																	
huC14	human	4645	48																	
huE05	human	4591	48																	
huE06	human	4591	48																	
galHS05	chicken	1900	658																	
huA29	human	658	658																	
huD05	human	658	658																	
huC07	human	4643	658																	
huB04	human	475	48																	
huB21	human	4638	22																	
huB23	human	22	22																	
huE19	human	22	22																	
gal08B5020	chicken	22	22																	
gal08B5018	chicken	22	22																	
bovC117	cow	4669	22																	
huBFR1764	human	22	22																	
huD11	human	1947	22																	
huE08	human	4625	none																	
huE22	human	696	1332																	
meC1466	turkey	696	1332																	
huA19	human	11	45																	
huBFR4010	human	483	45																	
huA23	human	267	283																	
huBFR3907	human	267	283																	
aqBFR3942	water	267	283																	
hu81116	human	267	283																	
galBFR3950	chicken	564	283																	
huC13	human	583	45																	
bovBFR1780	human	583	45																	
bovBFR1781	human	583	45																	
huB05	human	137	45																	
huE21	human	137	45																	
huE14	human	4653	45																	
gal356	chicken	230	45																	
huC12	human	45	45																	
huC15	human	45	45																	
huC27	human	45	45																	
galHS11	chicken	45	45																	
meC0408	turkey	45	45																	
galBFR4232	chicken	45	45																	
huBFR3867	human	45	45																	
huBFR3868	human	45	45																	
huBFR3880	human	45	45																	
huBFR3894	human	45	45																	
huBFR3895	human	45	45																	
avBFR3897	wild bird	45	45																	
bovBFR3899	cow	45	45																	
canBFR3906	canine	45	45																	
bovBFR3929	cow	45	45																	
galBFR3944	chicken	45	45																	
galBFR3949	chicken	45	45																	
huBFR4007	human	45	45																	
galBFR4009	chicken	3036	45																	
galHB7	chicken	4593	45																	
huC08	human	383	283																	
huE17	human	4655	45																	
huA32	human	538	45																	
galBFR3914	chicken	295	45																	
galBFR4327	chicken	1003	45																	
huA30	human	447	42																	
huE18	human	4592	42																	
gal7107BY	chicken	42	42																	
bovC537	cow	42	42																	
huBFR3918	human	42	42																	
bovC084	cow	4670	42																	
hu81-176	human	913	42																	
huA08	human	677	677																	
avBFR3896	wild bird	54	177																	
huBFR3933	human	563	177																	
huC09	human	1287	1287																	
huE07	human	4650	354																	
huE15	human	4571	257																	
huE03	human	61	61																	
bovBFR3889	cow	61	61																	
bovBFR3912	cow	61	61																	
huBFR3943	human	60	61																	
huBFR3947	human	60	61																	
bovC535	cow	4666	61																	

isolate	origin	MLST-ST	MLST-CC	tp1	tp2	tp3	tp4	tp5	tp5PG	tp6	tp7mc	tp7m	tp8	cetA	cetB	aer1	tp10	tp11	tp12	tp13
bovC535	cow	4666	61																	
bovC277	cow	352	61																	
bovC60	cow	4665	61																	
bovC325	cow	628	61																	
bovC406	cow	4668	61																	
isolate	origin	MLST-ST	MLST-CC	tp1	tp2	tp3	tp4a	tp5	tp5PG	tp6	tp7mc	tp7m	tp8	p9/cet	p9/cet	p9/aer	tp10	tp11a	tp4b	tp11b
			number (abs.)	292	286	292	98	165	127	292	225	67	292	292	292	292	286	52	86	113
			percentage	100	97,95	100	33,56	56,51	43,49	100	77,05	22,95	100	100	100	100	97,95	17,81	29,45	38,7

Überblick über alle in dieser Arbeit verwendeten *C. jejuni*-Isolate und deren Markergen-Präsenz  
(hellgelb = positiv, blau = negativ)

## 7 Literaturverzeichnis

Adler J (1975): Chemotaxis in bacteria. *Annu Rev Biochem* 44, 341-356

Alexander RP, Lowenthal AC, Harshey RM, Ottemann KM (2010): CheV: CheW-like coupling proteins at the core of the chemotaxis signaling network. *Trends Microbiol* 18, 494-503

Allos BM (1997): Association between *Campylobacter* infection and Guillain-Barre syndrome. *J Infect Dis* 176, 125-128

Allos BM (2001): *Campylobacter jejuni* Infections: update on emerging issues and trends. *Clin Infect Dis* 32, 1201-1206

Bacon DJ, Alm RA, Burr DH, Hu L, Kopecko DJ, Ewing CP, Trust TJ, Guerry P (2000): Involvement of a plasmid in virulence of *Campylobacter jejuni* 81-176. *Infect Immun* 68, 4384-4390

Bacon DJ, Alm RA, Hu L, Hickey TE, Ewing CP, Batchelor RA, Trust TJ, Guerry P (2002): DNA sequence and mutational analyses of the pVir plasmid of *Campylobacter jejuni* 81-176. *Infect Immun* 70, 6242-6250

Black RE, Levine MM, Clements ML, Hughes TP, Blaser MJ (1988): Experimental *Campylobacter jejuni* infection in humans. *J Infect Dis* 157, 472-479

Blaser M, Cravens J, Powers BW, Wang WL (1978): *Campylobacter* enteritis associated with canine infection. *Lancet* 2, 979-981

Blaser MJ, Wells JG, Feldman RA, Pollard RA, Allen JR (1983): The Collaborative Diarrheal Disease Study Group. *Campylobacter* enteritis in the United States: a multicenter study. *Ann Intern Med* 98, 360-365

Blaser M, Perez G, Smith P, Patton C, Tenover F, Lastovica A, Wang W (1986): Extraintestinal *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* infections: host factors and strain characteristics. *J Infect Dis* 153, 552-559

Bourret RB, Stock AM (2002): Molecular information processing: lessons from bacterial chemotaxis. *J Biol Chem* 277, 9625-9628

Bren A, Eisenbach M (1998): The N terminus of the flagellar switch protein, FlhM, is the binding domain for the chemotactic response regulator, CheY. *J Mol Biol* 278, 507-514

Bren A, Eisenbach M (2000): How signals are heard during bacterial chemotaxis: protein-protein interactions in sensory signal propagation. *J Bacteriol* 182, 6865-6873

Bundesinstitut für Risikobewertungen (BfR) (2019): Schutz vor lebensmittelbedingten Infektionen mit *Campylobacter*.

[https://www.bfr.bund.de/de/presseinformation/2009/20/campylobacter\\_\\_der\\_haeufigste\\_erreger\\_von\\_bakteriellen\\_durchfallerkrankungen-30417.html](https://www.bfr.bund.de/de/presseinformation/2009/20/campylobacter__der_haeufigste_erreger_von_bakteriellen_durchfallerkrankungen-30417.html), abgerufen am 29.01.2021

Butzler JP, Skirrow MB (1979): *Campylobacter* enteritis. Clin Gastroenterol 8, 737-765

Butzler JP (2004): *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. Clin Microbiol Infect 10, 868-876

Cadranel S, Rodesch P, Butzler JP, Dekeyser P (1973): Enteritis due to „related Vibrio“ in children. Am J Dis Child 126, 152-155

Carvalho ACT, Ruiz-Palacios GM, Ramoscervantes P, Cervantes LE, Pickering LK (2001): Molecular characterisation of invasive and non invasive *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates. J Clin Microbiol 39, 1353–1359

Chandrashekar K, Kassem II, Rajashekara G (2017): *Campylobacter jejuni* transducer like proteins: chemotaxis and beyond. Gut Microbes 8, 323-334

Christie PJ, Vogel JP (2000): Bacterial type IV secretion: conjugation systems adapted to deliver effector molecules to host cells. Trends Microbiol 8, 354-360

Covacci A, Telford JL, Del Giudice G, Parsonnet J, Rappuoli R (1999): Helicobacter pylori virulence and genetic geography. Science 284, 1328-1333

Day CJ, Hartley-Tassell LE, Shewell LK, King RM, Tram G, Day SK, Semchenko EA, Korolik V (2012): Variation of chemosensory receptor content of *Campylobacter jejuni* strains and modulation of receptor gene expression under different *in vivo* and *in vitro* growth conditions. BMC Microbiol 12, 128

Day CJ, King RM, Shewell LK, Tram G, Najnin T, Hartley-Tassell LE, Wilson JC, Fleetwood AD, Zhulin IB, Korolik V (2016): A direct-sensing galactose chemoreceptor recently evolved in invasive strains of *Campylobacter jejuni*. Nat Commun 7, 13206

De Wood D and Pooley C 2008, United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Lizenz: Gemeinfrei.

Dekeyser P, Gossuin-Detrain M, Butzler JP, Stemon J (1972): Acute enteritis due to a related vibrio: first positive stool cultures. J Infect Dis 125, 390-392

Deming MS, Tauxe RV, Blake PA, Dixon SE, Fowler BS, Jones TS, Lockamy EA, Patton CM, Sikes RO (1987): *Campylobacter* enteritis at an university: transmission from eating chicken and from cats. Am J Epidemiol 126, 526-534

- Dingle KE, Colles FM, Wareing DR, Ure R, Fox AJ, Bolton FE, Bootsma HJ, Willems RJ, Urwin R, Maiden MC (2001): Multilocus sequence typing system for *Campylobacter jejuni*. *J Clin Microbiol* 39, 14-23
- Dunlop SP, Jenkins D, Neal KR, Spiller RC (2003): Relative importance of enterochromaffin cell hyperplasia, anxiety, and depression in postinfectious IBS. *Gastroenterology* 125, 1651-1659
- Engelmann TW (1881): Neue Methode zur Untersuchung der Sauerstoffausscheidung pflanzlicher und thierischer Organismen. *Pflügers Arch* 25, 285-292
- Escherich T (1886): Beiträge zur Kenntniss der Darmbakterien. III. Ueber das Vorkommen von Vibrionen im Darmcanal und den Stuhlgängen der Säuglinge. *Muench Med Wochenschr* 33, 815-817
- Fearnley C, Manning G, Bagnall M, Javed MA, Wassenaar TM, Newell DG (2008): Identification of hyperinvasive *Campylobacter jejuni* strains isolated from poultry and human clinical sources. *J Med Microbiol* 57, 570-580
- Fouts DE, Mongodin EF, Mandrell RE, Miller WG, Rasko DA, Ravel J, Brinkac LM, DeBoy RT, Parker CT, Daugherty SC *et al.* (2005): Major structural differences and novel potential virulence mechanisms from the genomes of multiple campylobacter species. *PLoS Biol* 3, e15
- Gegner JA, Graham DR, Roth AF, Dahlquist FW (1992): Assembly of an MCP receptor, CheW, and Kinase CheA complex in the bacterial chemotaxis signal transduction pathway. *Cell* 70, 975-982
- Guccione E, Leon-Kempis Mdel R, Pearson BM, Hitchin E, Mulholland F, van Diemen PM, Stevens MP, Kelly DJ (2008): Amino acid-dependent growth of *Campylobacter jejuni*: key roles for aspartase (AspA) under microaerobic and oxygen-limited conditions and identification of AspB (Cj0762), essential for growth on glutamate. *Mol Microbiol* 69, 77-93
- Guerry P, Alm RA, Power ME, Trust TJ (1992): Molecular and structural analysis of *Campylobacter* flagellin. In: Nachamkin I, Blaser MJ, Tompkins LS (Hrsg.): *Campylobacter jejuni*: Current Status and Future Trends. ASM Press, Washington DC 1992, 267-281
- Hartley-Tassell LE, Shewell LK, Day CJ, Wilson JC, Sandhu R, Ketley JM, Korolik V (2010): Identification and characterization of the aspartate chemosensory receptor of *Campylobacter jejuni*. *Mol Microbiol* 75, 710-730
- Hendrixson DR (2006): A phase-variable mechanism controlling the *Campylobacter jejuni* FlgR response regulator influences commensalism. *Mol Microbiol* 61, 1646-1659

- Hermans D, Pasmans F, Messens W, Martel A, Van Immerseel F, Rasschaert G, Heyndrickx M, Van Deun K, Haesebrouck, F (2012): Poultry as a host for the zoonotic pathogen *Campylobacter jejuni*. *Vector Borne Zoonotic Dis* 12, 89-98
- Heywood W, Henderson B, Nair SP (2005): Cytolethal distending toxin: creating a gap in the cell cycle. *Int J Med Microbiol* 54, 207-216
- Hickey TE, McVeigh A, Scott DA, Michielutti RE, Bixby A, Carroll SA, Bourgeois AL, Guerry P (2000): *Campylobacter jejuni* cytolethal distending toxin mediates release of interleukin-8 from intestinal epithelial cells. *Infect Immun* 68, 6535-6541
- Hu L, Kopecko DJ (1999): *Campylobacter jejuni* 81-176 associates with microtubules and dynein during invasion of human intestinal cells. *Infect Immun* 67, 4171-4182
- Jolley KA, Chan MS, Maiden MC (2004): mlstdbNet - distributed multi-locus sequence typing (MLST) databases. *BMC Bioinformatics* 5, 86
- Karlyshev AV, Linton D, Gregson NA, Lastovica AJ, Wren BW (2000): Genetic and biochemical evidence of a *Campylobacter jejuni* capsular polysaccharide that accounts for Penner serotype specificity. *Mol Microbiol* 35, 529-541
- Karlyshev AV, Wren BW (2001): Detection and initial characterization of novel capsular polysaccharide among diverse *Campylobacter jejuni* strains using alcian blue dye. *J Clin Microbiol* 39, 279-284
- Karmali MA, Fleming PC (1979): *Campylobacter* enteritis in children. *J Pediatr* 94, 527-533
- Konkel ME, Garvis SG, Tipton SL, Anderson Jr DE, Cieplak Jr W (1997): Identification and molecular cloning of a gene encoding a fibronectin-binding protein (CadF) from *Campylobacter jejuni*. *Mol Microbiol* 24, 953-963
- Konkel ME, Kim BJ, Rivera-Amill V, Garvis SG (1999): Bacterial secreted proteins are required for the internalisation of *Campylobacter jejuni* into cultured mammalian cells. *Mol Microbiol* 32, 691-701
- Korlath, JA, Osterholm MT, Judy LA, Forfang JC, and Robinson RA (1985): A point-source outbreak of campylobacteriosis associated with consumption of raw milk. *J Infect Dis* 152, 592-596
- Korolik V, Ketley JM (2008): Chemosensory signal transduction pathway of *Campylobacter jejuni*. In: Nachamkin I, Symanski C, Blaser MJ (Hrsg.): *Campylobacter*. ASM Press, Washington DC 2008, 351-366

- Krause-Gruszczynska M, van Alphen LB, Oyarzabal OA, Alter T, Hänel I, Schliephake A, König W, van Putten JP, Konkel ME, Backert S (2007a): Expression patterns and role of the CadF protein in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *FEMS Microbiol Lett* 274, 9-16
- Krause-Gruszczynska M, Rohde M, Hartig R, Genth H, Schmidt G, Keo T, König W, Miller WG, Konkel ME, Backert S (2007b): Role of samII Rho GTPases Rac1 and Cdc42 in host cell invasion of *Campylobacter jejuni*. *Cell Microbiol* 9, 2431-2444
- Larson CL, Samuelson DR, Eucker TP, O'Loughlin JL, Konkel ME (2013): The fibronectin-binding motif within FlpA facilitates *Campylobacter jejuni* adherence to host cell and activation of host cell signaling. *Emerg Microbes Infect* 2, e65
- Lee MD, and Newell DG (2006): *Campylobacter* in poultry: filling an ecological niche. *Avian Dis* 50, 1-9
- Lertsethtakarn P, Ottemann KM, Hendrixson DR (2011): Motility and chemotaxis in *campylobacter* and *helicobacter*. *Annu Rev Microbiol* 65, 389-410
- Lin J, Michel LO, Zhang Q (2002): CmeABC functions as a multidrug efflux system pump in *Campylobacter jejuni*. *Antimicrob agents Chemother* 46, 2124-2131
- Li W, Cowley A, Uludag M, Gur T, McWilliam H, Squizzato S, Park YM, Buso N, Lopez R (2015): The EMBL-EBI bioinformatics web and programmatic tools framework. *Nucleic Acids Res* 43, 580-584
- Li Z, Lou H, Ojcius DM, Sun A, Sun D, Zhao J, Lin X, Yan J (2014): Methyl-accepting chemotaxis proteins 3 and 4 are responsible for *Campylobacter jejuni* chemotaxis and jejuna colonization in mice in response to sodium deoxycholate. *J Med Microbiol* 63, 343-354
- Logan SM, Trust TJ, Guerry P (1989): Evidence for posttranslational modification and gene duplication of *Campylobacter* flagellin. *J Bacteriol* 171, 3031-3038
- Longstreth GF, Thompson WG, Chey WD, Houghton LA, Mearin F, Spiller RC (2006): Functional bowel disorders. *Gastroenterology* 130, 1480-1491
- Louwen R, Heikema A, van Belkum A, Ott A, Gilbert M, Ang W, Endtz HP, Bergman MP, Nieuwenhuis EE (2008): The sialylated lipooligoaccharide outer core in *Campylobacter jejuni* is an important determinant for epithelial cell invasion. *Infect Immun* 76, 4431-4438
- Louwen R, Hays JP (2013): Is there an unrecognised role for *Campylobacter* infections in (chronic) inflammatory diseases? *World J Clin Infect Dis* 3, 58-69
- Lübke AL, Minatelli S, Riedel T, Lugert R, Schober I, Spröer C, Overmann J, Groß U, Zautner AE, Bohne W (2018): The transducer-like protein Tlp12 of *Campylobacter jejuni* is involved in glutamate and pyruvate chemotaxis. *BMC Microbiol* 18, 111



- Lux R, Shi W (2002): Chemotaxis-guided movements in bacteria. *Crit Rev Oral Biol Med* 15, 155-159
- Maiden MC, Bygraves JA, Feil E, Morelli G, Russell JE, Urwin R, Zhang Q, Zhou J, Zurth K, Caugant DA *et al.* (1998): Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. *Proc Natl Acad Sci USA* 95, 3140-3145
- Marchant J, Wren B, Ketley J (2002): Exploiting genome sequence: predictions for mechanisms of *Campylobacter* chemotaxis. *Trends Microbiol* 10, 155-159
- Middlekamp JM, Wolf HA (1961): Infection due to a „related“ *Vibrio*. *J Pediatr* 59, 318-321
- Miller LD, Russell MH, Alexandre G (2009): Diversity in bacterial chemotactic responses and niche adaptation. *Adv Appl Microbiol* 66, 53-75
- Newell DG (2002): The ecology of *Campylobacter jejuni* in avian and human hosts and in the environment. *Int J Infect Dis* 6, 16-21
- Oelschlaeger TA, Guerry P, Kopecko DJ (1993): Unusual microtubule-dependent endocytosis mechanisms triggered by *Campylobacter jejuni* and *Citrobacter freundii*. *Proc Natl Acad Sci USA* 90, 6884-6888
- Park SF (2002): The physiology of *Campylobacter* species and its relevance to their role as foodborne pathogens. *Int J Food Microbiol* 74, 177-188
- Parker CT, Horn ST, Gilbert M, Miller WG, Woodward DL, Mandrell RE (2005): Comparison of *Campylobacter jejuni* lipooligosaccharide biosynthesis loci from a variety of sources. *J Clin Microbiol* 43, 2771-2781
- Parkhill J, Wren BW, Mungall K, Ketley JM, Churcher C, Basham D, Chillingworth T, Davies RM, Feltwell T, Holyrod S *et al.* (2000): The genome sequence of the food-borne pathogen *Campylobacter jejuni* reveals hypervariable sequences. *Nature* 403, 665-668
- Parsons CM, Potter LM, Brown RD Jr (1983): Effects of dietary carbohydrate and of intestinal microflora on excretion of endogenous amino acids by poultry. *Poult Sci* 62, 483-489
- Pearson BM, Gaskin DJ, Segers RP, Wells JM, Nuijten PJ, van Vliet AH (2007): The complete genome sequence of *Campylobacter jejuni* strain 81116 (NCTC11828). *J Bacteriol* 189, 8402-8403
- Penner JL (1988): The genus *Campylobacter*: a decade of progress. *Clin Microbiol Rev* 1, 157-172

- Pryor WM, Freiman JS, Gillies MA, Tuck RR (1984): Guillan-Barré-Syndrome associated with *Campylobacter* infection. Aust NZ J Med 14, 687-688
- Rahman H, King RM, Shewell LK, Semchenko EA, Hartley-Tassell LE, Wilson JC, Day CJ, Korolik V (2014): Characterisation of a multi-ligand binding chemoreceptor CcmL (Tlp3) of *Campylobacter jejuni*. PLoS Pathog 10, e1003822
- Reuter M, van Vliet AH (2013): Signal balancing by the CetABC and CetZ chemoreceptors controls energy taxis in *Campylobacter jejuni*. PLoS One 8, e54390
- Robert-Koch-Institut (RKI) (2019): Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2018, Berlin 2019
- Robert-Koch-Institut (RKI) (2018): RKI-Ratgeber *Campylobacter*-Enteritis. Epid Bull 23, 213-220
- Sarkar MK, Paul K, Blair D (2010): Chemotaxis signaling protein CheY binds to the rotor protein FliN to control the direction of the flagellar rotation in *Escherichia coli*. Proc Natl Acad Sci USA 107, 9370-9375
- Schmidt-Ott R, Pohl S, Burghard S, Weig M, Groß U (2005): Identification and characterization of a major subgroup of conjugative *Campylobacter jejuni* plasmids. J Infect 50, 12-21
- Schmidt-Ott R, Schmidt H, Feldmann S, Brass F, Krone B, Groß U (2006): Improved serological diagnosis stresses the major role of *Campylobacter jejuni* in triggering Guillain-Barre´ Syndrome. Clin Vaccine Immunol 13: 779-783
- Sievers F, Higgins DG (2014): Clustal omega. Curr Protoc Bioinform 48, 3.13.1–3.13.16
- Skirrow MB (1977): *Campylobacter* enteritis: a „new“ disease. Br Med J 2, 9-11
- Slutsker LA, Ries AA, Greene KD, Wells JG, Hutwagner L, Griffin PM (1997): *Escherichia coli* O157:H7 diarrhea in the United States: clinical and epidemiological features. Ann Intern Med 126, 505-513
- Stahl M, Butcher J, Stintzi A (2012): Nutrient acquisition and metabolism by *Campylobacter jejuni*. Front Cell Infect Microbiol 2, 5
- Szymanski CM, Logan SM, Linton D, Wren BW (2003): *Campylobacter* - a tale of two protein glycosylation systems. Trends Microbiol 11, 233-238
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipowski A, Kumar S (2013): MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. Mol Biol Evol 30, 2725-2729

- Tareen AM, Dasti JI, Zautner AE, Groß U, Lugert R (2010): *Campylobacter jejuni* proteins Cj0952c and Cj0951c affect chemotactic behaviour towards formic acid and are important for invasion of host cells. *Microbiology* 156, 3123-3135
- Terry K, Go AC, Ottemann KM (2006): Proteomic mapping of a suppressor of non-chemotactic *cheW* mutants reveals that *Helicobacter pylori* contains a new chemotaxis protein. *Mol Microbiol* 61, 871-882
- Urwin R, Maiden MC (2003): Multi-locus sequence typing: a tool for global epidemiology. *Trends Microbiol* 11, 479-487
- Van Doorn PA, Ruts L, Jacobs BC (2008): Clinical features, pathogenesis, and treatment of Guillan-Barré-Syndrome. *Lancet Neurol* 7, 939-950
- Vandamme P, de Ley J (1991): Proposal for a new family, *Campylobacteriaceae*. *Int J Syst Bacteriol* 41, 451-455
- Vandamme P, Van Doorn LJ, al Rashid ST, Quint WG, van der Plas J, Chan VL, On SL (1997): *Campylobacter hyoilei* Alderton *et al.* 1995 and *Campylobacter coli* Veron and Chatelain 1973 are subjective synonyms. *Int J Syst Bacteriol* 47, 1055-1060
- Vegge CS, Brondsted L, Li YP, Bang DD, Ingmer H (2009): Energy taxis drives *Campylobacter jejuni* toward the most favorable conditions for growth. *Appl Env Microbiol* 75, 5308-5314
- Wagley S, Newcombe J, Laing E, Yusuf E, Sambles CM, Studholme DJ, La Ragione RM, Titball RW, Champion OL (2014): Differences in carbon source utilisation distinguish *Campylobacter jejuni* from *Campylobacter coli*. *BMC Microbiol* 14, 262
- Wassenaar TM (1997): Toxin production by *Campylobacter* spp. *Clin Microbiol Rev* 10, 466-476
- Wassenaar TM, Blaser M (1999): Pathophysiology of *Campylobacter jejuni* infections of humans. *Microbes Infect* 1, 1023-1033
- Wheeler WE, Borchers J (1961): Vibriotic enteritis in infants. *Amer J Dis Child* 101, 60-66
- Whitehouse CA, Balbo PB, Pesci EC, Cottle DL, Mirabito PM, Pickett CL (1998): *Campylobacter jejuni* cytolethal distending toxin causes a G2-phase cell cycle block. *Infect Immun* 66, 1934-1940
- Yan M, Sahin O, Lin J, Zhang Q (2006): Role of the CmeABC efflux pump in the emergence of fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* under selection pressure. *J Antimicrob Chemother* 58, 1154-1159

- Yao R, Burr DH, Doig P, Trust TJ, Niu H, Guerry P (1994): Isolation of motile and non-motile insertional mutants of *Campylobacter jejuni*: the role of motility in adherence and invasion of eukaryotic cells. *Mol Microbiol* 14, 883-893
- Young DM, Schmiel DH, Miller VL (1999): A new pathway for the secretion of virulence factors by bacteria: the flagellar export apparatus functions as a protein-secretion system. *Proc Natl Acad Sci USA* 96, 6456-6461
- Zautner AE, Herrmann S, Corso J, Tareen AM, Alter T, Groß U (2011): Epidemiological association of different *Campylobacter jejuni* groups with metabolism-associated genetic markers. *Appl Env Microbiol* 77, 2359-2365
- Zautner AE, Tareen AM, Groß U, Lugert R (2012a): Chemotaxis in *Campylobacter jejuni*. *Eur J Microbiol Immunol* 2, 24–31
- Zautner AE, Ohk C, Tareen AM, Lugert R, Groß U (2012b): Epidemiological association of *Campylobacter jejuni* groups with pathogenicity-associated genetic markers. *BMC Microbiol* 12, 171
- Zautner AE, Johann C, Strubel A, Busse C, Tareen AM, Masanta WO, Lugert R, Schmidt-Ott R, Groß U (2014): Seroprevalence of campylobacteriosis and relevant post-infectious sequelae. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 33, 1019-1027
- Zhao R, Collins EJ, Bourret RB, Silversmith RE (2002): Structure and catalytic mechanism of the *E. coli* chemotaxis phosphatase CheZ. *Nat Struct Biol* 9, 570-575

## **Danksagung**

Mein spezieller Dank geht an meinen Doktorvater und Priv. Doz. Dr. med. habil. A. E. Zautner für die Vergabe dieses Dissertationsthemas und die durchweg sehr gute und engagierte Unterstützung bei der Verfassung dieser Arbeit, sowohl im praktischen als auch im theoretischen Teil. Mein weiterer Dank gilt Wycliffe Omurwa Masanta der Arbeitsgruppe Campylobacter sowie allen Mitarbeitern des Instituts für Medizinische Mikrobiologie für die stets angenehme Zusammenarbeit.

Ich möchte mich herzlich bei der Universität Göttingen für das zweimalige Erhalten des Gö4med-Stipendiums der Förderlinie A bedanken.

## Lebenslauf

Am 23. Mai 1990 in Mutambara/Zimbabwe wurde ich als Tochter von Christel Monika Maria Mund, geb. Schüßler und Dieter Willi Mund geboren. Ich habe einen Bruder, Matthias Klaus Peter Mund und eine Schwester, Menen Elisabeth de Vries, geb. Mund. Ab 1996 besuchte ich für vier Jahre die Grundschule Döse in Cuxhaven, verbrachte anschließend die Orientierungsstufe für weitere zwei Jahre an derselben Schule und besuchte ab 1998 das Lichtenberg-Gymnasium in Cuxhaven, um im Jahr 2009 die Allgemeine Hochschulreife zu erlangen. Im selben Jahr nahm ich in Marburg das Studium der Humanmedizin auf. Im Jahr 2011 bestand ich das erste Staatsexamen. Anschließend wechselte ich an die Universität Göttingen, wo ich 2015 das zweite Staatsexamen bestand und am 08. Juni 2016 das dritte Staatsexamen ablegte und somit die Approbation als Ärztin erlangte. Von 2012 bis 2015 führte ich in dem Institut für Medizinische Mikrobiologie Experimente für die Forschung an meinem Dissertationsthema "Assoziation der *Campylobacter jejuni* ssp. *jejuni* Chemotaxisrezeptorgene mit Multilokussequenztypen und Isolationsquellen" durch. Nachfolgend arbeitete ich an der Anfertigung der Dissertationsschrift. Im Jahr 2013 und 2014 erhielt ich für meine Forschungsarbeit an dieser Dissertation ein Gö4med-Stipendium der Förderlinie A der Universität Göttingen. Seit März 2017 bin ich als Ärztin am Zentrum für Geburtshilfe und Frauenheilkunde der Universitätsklinik Bonn tätig. Im Juli 2019 heiratete ich meinen Ehemann Dimitri Emrich.