

Zusammenfassung

S. aureus ist ein humanes, hauptsächlich nosokomial vorkommendes Pathogen, das aufgrund der stetig steigenden, weltweiten Prävalenz von multiresistenten Stämmen (MRSA) zunehmend an klinischer Relevanz gewinnt. Aufgrund der MRSA-Problematik ist die Entwicklung einer protektiven Vakzine für die Prävention von *S. aureus*-Infektionen von großer klinischer Bedeutung. Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine intravenöse Immunglobulin G Präparation (IVIg) erfolgreich als Quelle für opsonisierende *S. aureus*-Antikörper eingesetzt, um neue, immunogene Vakzinekandidaten zu identifizieren. Zellwandassoziierte Proteine, die gezielt von IVIg erkannt werden, wurden mittels des hier etablierten Verfahrens der „Subtraktiven Proteomanalyse“ (SUPRA) identifiziert. Dabei galten Proteine als vielversprechende Vakzinekandidaten, die ausschließlich mit IVIg vor jedoch nicht nach der Depletion von *S. aureus*-spezifischen IgGs (dSaIVIg) immunreagierten. Die subtraktive Kandidatenauswahl führte schließlich zu der Identifizierung von 39 vielversprechenden Vakzinekandidaten. Drei der Proteinkandidaten, Enolase (Eno), Oxoacyl-Reduktase (Oxo) und das hypothetische Protein, hp2160 wurden als GST-Fusionsproteine exprimiert und aufgereinigt und dienten zur Gewinnung von korrespondierende Antikörper aus IVIg mittels Affinitätschromatographie. Die affinitätsaufgereinigten anti-Eno, anti-Oxo und anti-hp2160 Antikörper zeigten eine ausgeprägte opsonische Aktivität, welche sowohl zur Phagozytose als auch zur Elimination von *S. aureus* durch humane Neutrophile führte. Die Immunisierung mit den rekombinanten Antigenen vermittelte die Produktion hoher Antikörpertiter. Nach Infektion mit *S. aureus* wurde mittels *in vivo* Visualisierung (IVIS) eine Reduktion der staphylokokkalen Ausbreitung in den immunisierten Mäuse beobachtet. Die Bakteriendichte-Bestimmung in den Organen infizierter Mäuse resultierte in einer 10-100fach niedrigeren CFU-Zahl in den Organen der immunisierten Mäuse. Die Immunisierung mit rhp2160 führte zu einer höheren Überlebensrate der Mäuse verglichen mit den Kontrollen. Die *in vitro* und *in vivo* Ergebnisse zeigen, dass SUPRA ein geeignetes proteomisches Verfahren darstellt, um neue Angriffsziele für die Vakzinierung gegen *S. aureus* zu identifizieren.

Abstract

S. aureus is an important human pathogen with an increasing clinical impact due to the extensive spread of antibiotic resistant strains. Therefore the development of a protective vaccine is of great clinical importance. An intravenous immunoglobulin G (IVIG) preparation was employed as a source of antibodies directed against *S. aureus* surface proteins for the identification of novel vaccine protein candidates. IVIG induced a strong opsonophagocytic activity of human neutrophils for *S. aureus*. In order to identify proteins that are targeted by IVIG, subtractive proteome analysis (SUPRA) of *S. aureus* cell wall-associated proteins was performed. Proteins solely reacting with IVIG, but not with IVIG depleted of *S. aureus*-specific opsonising antibodies (dSaIVIG), were assumed to serve as vaccine candidates. By this preselection method 39 promising vaccine candidates were identified using MALDI-TOF analysis. Three of these candidates, enolase (Eno), oxoacyl reductase (Oxo) and hypothetical protein (hp2160), were expressed as GST-fusion proteins, purified and used for the enrichment of corresponding IgGs from IVIG by affinity chromatography. Affinity purified anti-Eno, anti-Oxo and anti-hp2160 antibodies showed strong opsonising activity enabling uptake and killing of *S. aureus* by human neutrophils. High antibody responses were elicited in serum of mice immunised with recombinant antigens. After challenge with *S. aureus*, reduced staphylococcal spread was detected by *in vivo* imaging system. The recovery of *S. aureus* CFUs from organs of immunised mice was diminished by 10-100-fold. The immunisation with rhp2160 resulted in a higher survival rate in mice compared to the controlgroup. The results of this study suggest our approach to be a valuable tool for the identification of novel vaccine candidates.