

CHEMISCHE ÖKOLOGIE

Bakterienenzym schützt Zecken vor der Hautflora ihrer Säugetierwirte

Während der Blutmahlzeit nehmen Zecken auch Bakterien der Hautflora ihrer Säugetierwirte auf, die nach neusten Erkenntnissen für Zecken pathogen sind. Um sich gegen diese Erreger zu schützen, bilden die Zecken ein lytisches Enzym, das vor allem die in der Hautflora vorkommenden Staphylokokken mit hoher Effizienz abtötet. Das zugehörige Gen *dae2* ist keine Eigenentwicklung der Zecke, sondern wurde durch horizontalen Gentransfer von Bakterien auf die Vorfahren der Zecken übertragen. Vermutlich hat erst dieses Gen den Zecken eine blutsaugende Lebensweise ermöglicht.

Sich von Blut anderer Tiere zu ernähren, ist ein gefährlicher Lebensstil, denn der innige Kontakt zum Wirt birgt das Risiko, sich bei der Mahlzeit mit fremden Erregern zu infizieren. Dies gilt im besonderen Maße für Schildzecken (*Ixodes* sp.), deren Blutmahlzeiten oft länger als eine Woche dauern. Während dieser Zeit bleibt die Zecke in der Haut ihres Wirtes verankert und ist den Erregern des Wirtes permanent ausgesetzt. Teil dieser für Zecken potenziell pathogenen Erreger sind die auf der Haut von Säugetieren lebenden Bakterien. Um sich gegen fremde Erreger ihrer Blutwirte zu schützen, haben Zecken im Laufe ihrer Evolution antibakterielle Abwehrmechanismen entwickelt.

Vor etwa 40 Millionen Jahren haben die Vorfahren der heutigen Zecken von Bakterien ein Gen für ein wirksames antibakterielles Enzym durch horizontalen Gentransfer erworben. Dieses Gen namens *dae2* (*domesticated amidase effector 2*) stammt von dem Bakterien-Gen *tae2* (*type VI secretion (T6S) amidase effector 2*) ab, das ein die Bakterienzellwand lysierendes Enzym codiert [1]. Bakterien nutzten dieses Enzym, um Zellwandpeptidoglycane anderer Mikroorganismen abzubauen und so das Wachstum benachbarter Konkurrenten zu hemmen. Welche Rolle *dae2* in Zecken spielt, war bislang unbekannt. Zwar wurde schon früher festgestellt, dass die Expression von *dae2* in der Hirschzecke (*I. scapularis*) hochreguliert wird, wenn die Zecke humanpathogene Bakterien der Art *Borrelia burgdorferi* mit der Blutmahlzeit aufnimmt, aber die Induktion der Expression wurde durch mit dem Blut aufgenommenes Interferon und nicht direkt durch die Borrelien vermittelt [2]. Darüber hinaus scheint *B. burgdorferi* ein kommensales Bakterium von Zecken zu sein, das weder von deren Immunsystem beseitigt wird noch deren Fitness negativ beeinträchtigt.

Nun haben amerikanische und britische Wissenschaftler unter der Leitung der University of California San Francisco die Funktion des von *dae2* codierten Enzyms Dae2 in der Hirschzecke herausgefunden [3]. Um die Rolle von Dae2 in Zecken aufzuklären, wurden zunächst die Unterschiede zwischen dem Zeckenenzym Dae2 und dem Bakterienenzym Tae2 ermittelt. Nach Proteinstrukturanalysen sind die katalytisch aktiven Aminosäuren im Zeckenenzym zugänglicher als im Bakterienenzym. Dieses Ergebnis führte zu der Vermutung, dass das Dae2-Enzym im Vergleich zum Tae2-Enzym eine breitere Substratspezifität haben könnte, was wichtig für die immunologische Funktion von Dae2 in der Zecke ist. Denn der Aufbau der Zellwand verschiedener Bakteriengruppen unterscheidet sich erheblich. Die breitere Substratspezifität von Dae2 wurde schließlich durch Aktivitätsstudien bestätigt. So war Dae2 aus *I. scapularis* in der Lage, Peptidoglycan-Strukturen von Gram-negativen und Gram-positiven Bakterien zu lysieren, während Tae2 aus

Salmonella enterica nur Peptidoglycan-Strukturen von Gram-negativen Bakterien abbauen konnte. Die erweiterte Substratspezifität von Dae2 deutet daraufhin, dass das Enzym dahingehend evolvierte, dass es eine größere Vielfalt von Mikroben lysieren kann. Dies schließt die Mikroorganismen ein, die auf der Haut der Zeckenwirte zu finden sind und mit denen die Zecken während der lang anhaltenden Blutmahlzeit in engem Kontakt stehen. Um zu untersuchen, ob Dae2 Organismen der Hautflora von Säugetieren abtöten kann, wurden die kommensalen Gram-positiven Hautbakterien *Staphylococcus epidermis* (zwei verschiedene Stämme), *Sta. hominis* und *Corynebacterium propinquum* mit dem Enzym inkubiert. Die Konzentration des Enzyms (2 µM) entsprach dabei der physiologisch relevanten Konzentration von Dae2 im Speichel von *I. scapularis*. Alle getesteten Hautbakterien wurden umgehend von dem Enzym lysiert. Das mit *C. propinquum* verwandte Hautbakterium *C. jeikeium* und das Gram-positive Atemwegsbakterium *Streptococcus pneumoniae* wurden jedoch nicht von Dae2 lysiert, was darauf hinweist, dass die Spezifität des Enzyms zwar ausgedehnt, aber nicht uneingeschränkt ist. Auch das Gram-negative Zeckenbakterium *B. burgdorferi* wurde von dem Enzym nicht beeinträchtigt. Diese Ergebnisse zeigen, dass das eukaryotische Dae2-Enzym im Vergleich zum prokaryotischen Tae2-Enzym eine größere, aber deutlich definierte Anzahl von Mikroben attackiert und dass Dae2 die häufigsten Hautbakterien ihrer Säugetierwirte mit hoher Wirksamkeit abtötet.

Als Nächstes wurde untersucht, ob das Dae2-Enzym während der Blutmahlzeit mit dem Speichel in den Säugetierwirt gelangt. Dazu wurde das Blutserum von Mäusen, an denen zuvor Hirschzecken gefüttert wurden, auf Antikörper analysiert. Im Gegensatz zum Serum von Mäusen, die nicht Zecken ausgesetzt waren, konnten in Seren der Zecken-infestierten Mäusen anti-Dae2-Antikörper nachgewiesen werden. Darüber hinaus wurde festgestellt, dass die *dae2*-Expression in juvenilen und adulten Zecken nach einer Blutmahlzeit dramatisch hochreguliert war. All dies deutet daraufhin, dass das Dae2-Enzym während der Blutmahlzeit eine antibakterielle Funktion an der Bissstelle erfüllt.

Um zu zeigen, dass Dae2 für die Entwicklung und das Überleben der Zecken wichtig ist, wurde die Expression von *dae2* mittels RNA-Interferenz (RNAi) unterdrückt. Dazu wurden *I. scapularis*-Nymphen vor der Fütterung an Mäusen siRNA-Moleküle (si = *small interfering*) gegen *dae2* injiziert. Um das im Speichel und im Mitteldarm vorhandene Dae2-Enzym zu blockieren, wurden die Mäuse 24 Stunden vor der Fütterung zusätzlich passiv mit anti-Dae2-Antikörpern immunisiert. Nach drei Tagen Blutmahlzeit beherbergten Nymphen, bei denen die Dae2-Aktivität unterdrückt worden war, eine deutlich größere Menge an Staphylokokken als Kontrollnymphen. Zudem waren die siRNA-behandelten Nymphen leichter im Vergleich zu Kontrollnymphen, was darauf schließen lässt, dass die Wirtsbakterien die Nahrungsaufnahme behindert hatten. Um zu überprüfen, ob Dae2 auch eine wichtige Rolle im Darm hat, wurden *I. scapularis*-Nymphen über die Analöffnung 100 *Sta. epidermis*-Bakterien und neutralisierende anti-Dae2-Antikörper injiziert. Kontrollnymphen erhielten nur die Bakterien. Vier Stunden später hatten die Dae2-inhibierten Nymphen dreimal so viele Staphylokokken in ihren Därmen als die Kontrollnymphen. In den folgenden 24 Stunden war zudem die Sterblichkeit der Dae2-inhibierten Nymphen mehr als doppelt so hoch wie die der Kontrollnymphen. Demnach sind Staphylokokken für Zecken pathogene Erreger, die ihre Fitness beeinträchtigen.

Im Rahmen dieser Studie wurden für Zecken pathogene Erreger und ein dagegen gerichteter, erworbener Abwehrmechanismus identifiziert. Während der Blutmahlzeit kommen Zecken in Kontakt mit den Organismen der Hautflora ihrer Säugetierwirte. Diese Hautbakterien sind für den Säugetierwirt ungefährlich, aber für Zecken pathogen. Der durch horizontalen Gentransfer erworbenen Abwehrfaktor Dae2 tötet sowohl von der Zecke aufgenommene als auch in die Bissstelle gelangte Hautbakterien ab (Abb.). Vermutlich hat Dae2 es den Schildzecken erst ermöglicht, sich vom Blut von Säugetieren zu ernähren. Dass Zecken einen Abwehrmechanismus gegen Hautbakterien entwickelt haben, könnte daraufhin deuten, dass Säugetiere unter anderem deshalb eine Hautflora entwickelten, um sich gegen lästige Ektoparasiten zu schützen.

[1] S. Chou et al., Nature **518**, 98 (2015). – [2] A. A. Smith et al., Cell Host Microbe **20**, 91 (2016). – [3] B. M. Hayes et al., Cell. **183**, 1562 (2020).

PD Dr. Dietmar Steverding, Norwich, England

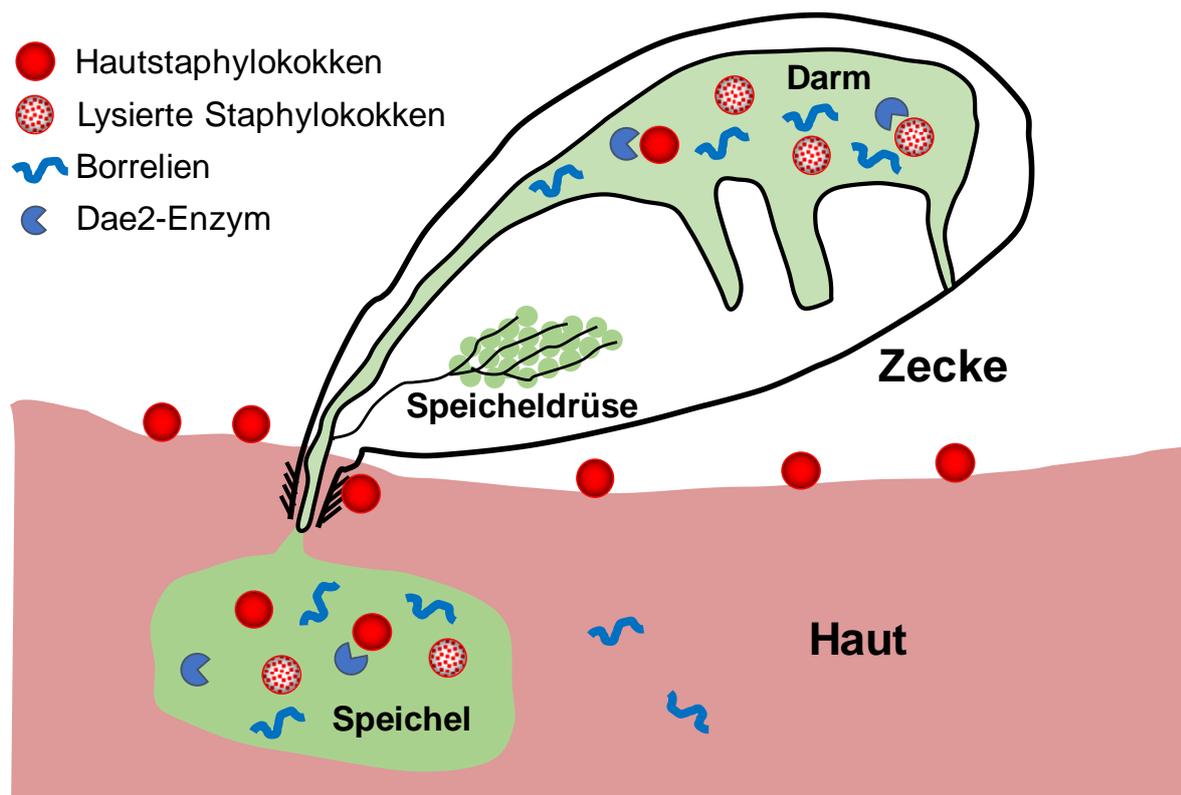


Abb. Hautbakterien von Säugetieren können pathogen für Zecken sein. Durch horizontalen Gentransfer haben Zecken jedoch den Abwehrfaktor Dae2 erworben, der Bakterien der residenten Hautflora effizient abtötet. Dae2 gelangt mit dem Speichel in die Haut des Wirtes und in den Darm der Zecke, wo es als Abwehrenzym insbesondere Hautstaphylokokken (z.B. *St. epidermis*) lysiert, aber Borrelien (z.B. *B. burgdorferi*) nicht attackiert. Graphik Steverding, nach [3]