

Anwendung in der Mikrobiologie/Infektiologie:

Isolierung von Bakterien-Phagosomen aus infizierten Zellen

Die Analyse von isolierten **Phagosomen** aus mit invasiven Keimen infizierten Zellen stellt ein zentrales zellbiologisches Verfahren zur Analyse von Abwehrmechanismen von Zellen gegen Infektionen mit invasiven Bakterien dar. Mit dem HOKImag Magnetkammer - System bietet sich dazu eine ideale Technologie an.

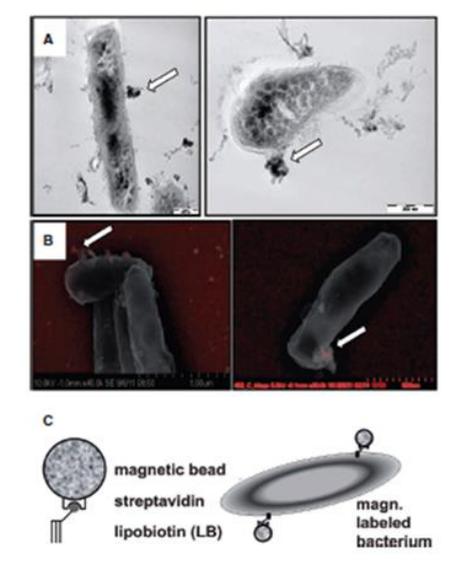
Zur immunomagnetischen Isolierung von Bakterien-Phagosomen werden die Keime mittels Lipobiotin gecoated und anschließend mit Streptavidin magnetischen Microbeads markiert. Nach Infektion von Wirtszellen können die magnetisierten Keime in den gebildeten intrazellulären Phagosomen mittels HOKImag aus den Zellhomogenaten zu unterschiedlichen Zeitpunkten isoliert und biochemisch nach an den spezifisch Wirt - Keim Interaktion beteiligten Proteinen untersucht werden.

Vorteile der „free flow“-Methode mit HOKImag:

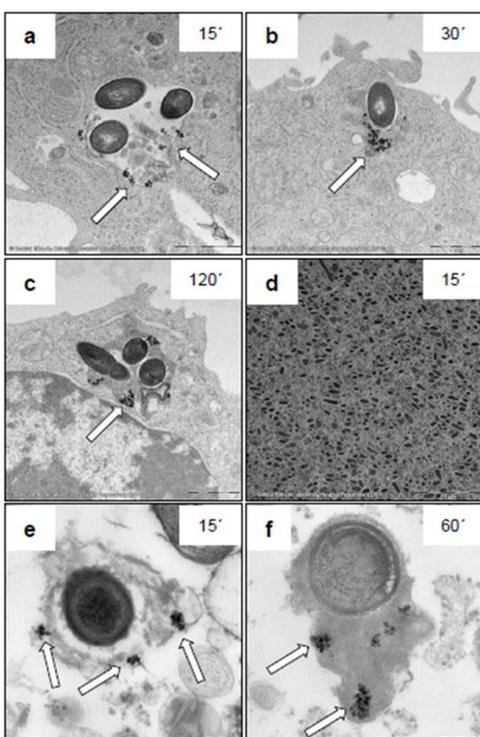
Aufgrund des starken Magnetfelds können kleinsten superparamagnetische Beads in geringer Konzentration zur Markierung der Bakterien verwendet werden. Dadurch werden die Charakteristika der Keim-Wirtszelle Interaktion, die Aufnahme der Keime und die intrazelluläre Wanderung der magnetisierten Bakterien-Phagosomen in den Zellen nicht behindert. Die isolierten Phagosomen sind morphologisch und funktional intakt.

Beispiel der Anwendung des HOKImag-Magnetkammersystems zur Isolierung und Charakterisierung von Phagosomen:

aus: Steinhäuser et al., (2013). Lipid-labeling facilitates a novel magnetic isolation procedure to characterize of pathogen-containing phagosomes. *Traffic*, 14, 321-336



I. Magnetische Markierung von Bakterien mittels Lipobiotin und Streptavidin-Microbeads

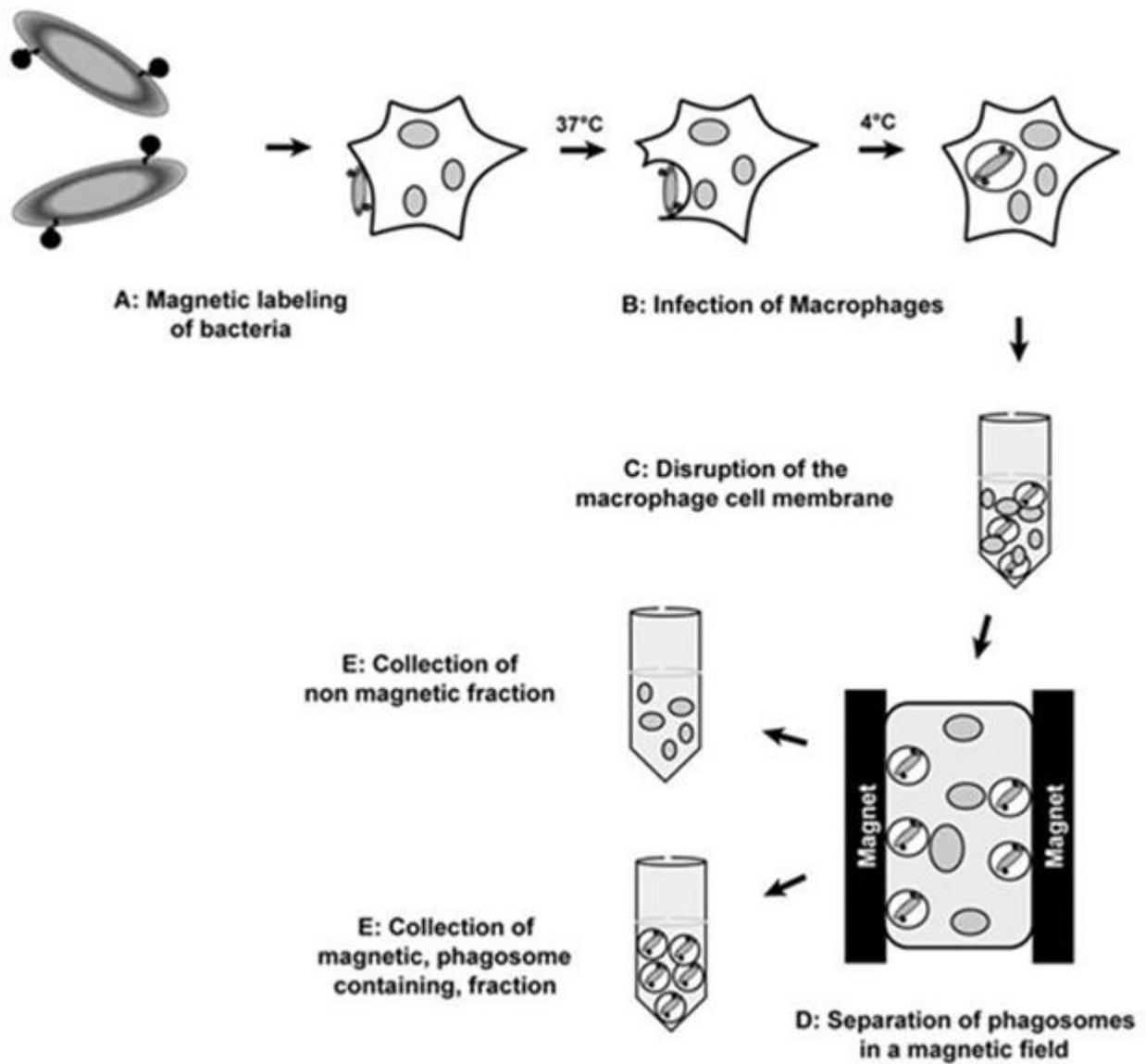


II. Magnetische Isolierung von *Listeria monocytogenes* - enthaltende Phagosomen aus Makrophagen.

a-c: Infektion der Makrophagen

d-f: isolierte Phagosomen

III. Schema der Isolierung von Bakterien - Phagosomen aus infizierten Zellen mit der HOKImag Magnetkammer



Einige der Ergebnisse, bei denen das HOKImag-Magnetkammersystem zur Isolierung und Charakterisierung von Phagosomen eine wesentliche Verwendung gefunden hat:

- Steinhäuser, C., Dallenga, T., Tchikov, V., Schaible, U., Schütze, S., Reilig, N. (2014). Immunomagnetic isolation of mycobacteria-containing phagosomes and apoptotic blebs from primary macrophages. *Curr. Protocols Immunol.* 105:14.36.1-14.36.26
- Steinhäuser, C., Heigl, U., Tchikov, V., Schwarz, J., Gutschmann, T., Seeger, K., Fritsch, J., Schroeder, J., Wiesmüller, K.-H., Rosenkrands, I., Pott, J., Krause, E., Ehlers, S., Schneider-Brachert, W., Schütze, S., Reiling, N. (2013). Lipid-labeling facilitates a novel magnetic isolation procedure to characterize of pathogen-containing phagosomes. *Traffic*, 14, 321-336
- Chang, Y.-Y., Stévenin, V., Duchateau, M., Gianetto, Q.G., Hourdel, V., Rodrigues, C.D., Matondo, M., Reiling, N., Enninga, J. (2020). Shigella hijacks the exocyst to cluster macropinosomes for efficient vacuolar escape. *PLoS Pathog.* 2020 Aug; 16(8): e1008822. Published online 2020 Aug 31. doi: 10.1371/journal.ppat.1008822
- Stévenin, V., Chang, Y.-Y., Le Toquin, Y., Duchateau, M., Gianetto, Q.G., Luk, C.H., Salles, A., Sohst, V., Matondo, M., Reiling, N., Enninga, J. (2020) Dynamic Growth and Shrinkage of the Salmonella-Containing Vacuole Determines the Intracellular Pathogen Niche. *Cell Rep.* 2019 Dec 17; 29(12): 3958–3973.e7. Published online 2019 Dec 17. doi: 10.1016/j.celrep.2019.11.049
- Reiling, N., Homolka, S., Kohl, T.-A., Steinhäuser, C., Kolbe, K., Schütze, S., Brandenburg, L. (2017). Shaping the niche in macrophages: Genetic diversity of the M. tuberculosis complex and its consequences of the infected host. *Int. J. Med. Microbiol.*, 2017 Sep 14. pii: S1438-4221(17)30294-1. doi: 10.1016/ j.ijmm. 2017.09.009. [Epub ahead of print]
- Depke, M., Michalik, S., Rabe, A., Surmann, K., Brinkmann, L., Jehmlich, N., Bernhardt, J., Hecker, M., Wollscheid, B., Sun, Z., Moritz, R.-L., Völker, U., Schmidt, F. A peptide resource for the analysis of Staphylococcus aureus in host pathogen interaction studies. *Proteomics* 2015, 15 (21): 3648-3661