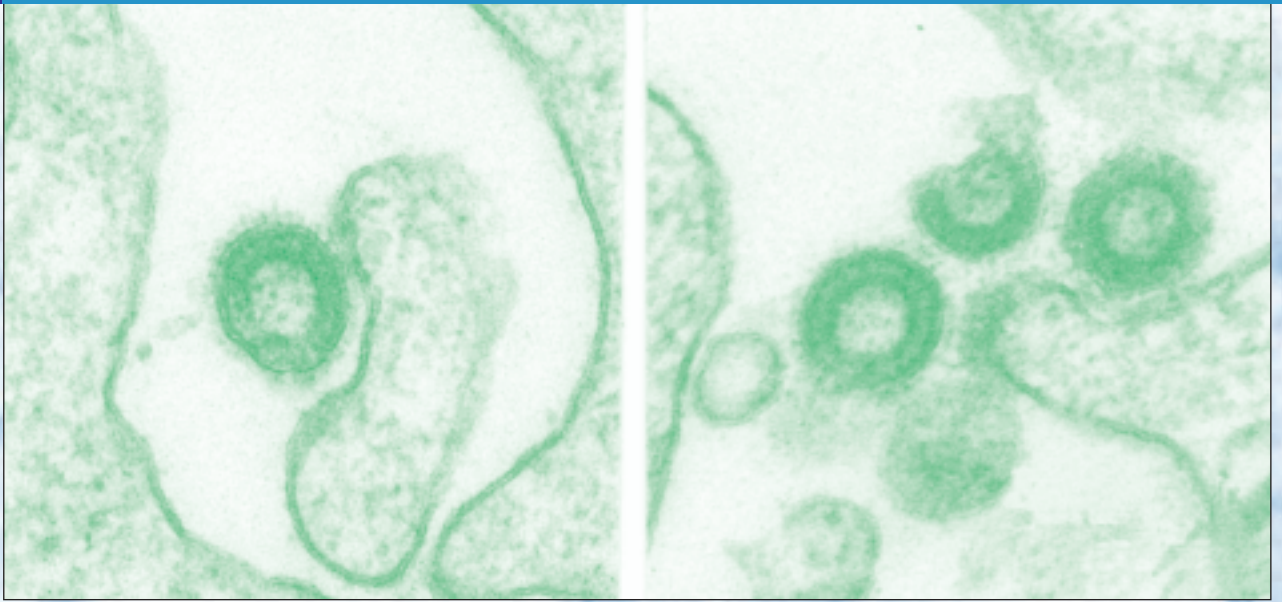


VOM SCHLÜSSEL zur Funktion



Genforschung in der GSF





Im Genom zwischen den Zeilen lesen

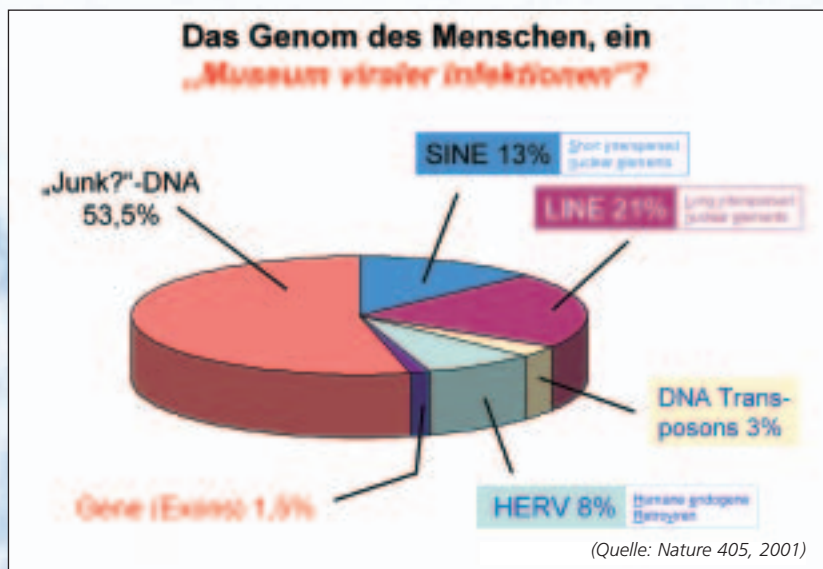
Zu den neuesten Erkenntnissen in der Genomforschung zählt das Wissen um die genauere Herkunft großer Bestandteile des menschlichen Erbguts. So stammen mindestens acht Prozent des Genoms aus Viren: Ihr Erbgut steuert seit Millionen Jahren im Körper mit - ein Schritt weiter beim Verständnis von Krebs und Aids. Am Institut für Molekulare Virologie beschäftigen sich Wissenschaftler unter der Leitung von Volker Erfle mit Teilen dieser einstigen Parasiten, die im Genom wichtige Steuerungsfunktionen übernommen haben. Diese Untersuchungen können auch wertvolle Hinweise darauf liefern, wie andere Viren, beispielsweise der Aids-Erreger HIV, sich in manchen Zellen verstecken.

Mit der Entschlüsselung des menschlichen Genoms haben die Forscher offenbar auch ein wenig Respekt davor verloren: Die Zahl der Gene, die den Menschen ausmachen sollen, ist auf 30.000 bis 40.000 zusammengeschmolzen, und nur einhalb Prozent des gesamten Erbguts machen diese Gene aus. Der Rest: „Schrott-DNA“ - zumindest hat sich dieser Begriff rasch eingebürgert für die Sequenzen, die scheinbar keine Bauanleitung für Proteine ent-

halten, die scheinbar nur aus endlosen und nutzlosen Wiederholungen von irgendwann einmal eingebauten DNA-Resten bestehen.

Aber warum sollte der Körper so viel Ballast so lange mit sich herumtragen? Dagegen spricht nach Ansicht vieler Forscher der hohe Energieaufwand, der dafür nötig ist - bei jeder Zellteilung muss schließlich die gesamte DNA verdoppelt werden. Acht Prozent des Erbguts stammen aus Viren und nehmen immerhin vier

Mal mehr Platz ein als die Sequenzen, die derzeit als kodierende Bestandteile für notwendig gehalten werden. Vielleicht stammt sogar noch mehr Information aus dem Erbgut von Viren - das lässt sich jedoch nicht mehr zurück verfolgen. Im Laufe der Jahrmillionen haben ständig auftretende geringfügige Mutationen noch ältere Stücke des Erbguts so stark verändert, dass Vergleiche mit dem Erbgut anderer Organismen kaum mehr möglich sind.



Die viralen Sequenzen, die wir heute noch erkennen können, stammen von Erregern, die vor etwa 70 bis 30 Millionen Jahren unsere Vorfahren als Wirt genutzt haben. Sie haben sich dann in Keimzellen eingenistet und ihre genetische Information dort eingebaut. Damit verschmolz ihr Erbgut untrennbar mit dem der damaligen Primaten und wurde schließlich auch Bestandteil des menschlichen Genoms.

Solche Sequenzen müssen dem Menschen aber nicht unbedingt schaden - im Gegenteil: „Die schädigende Wirkung ist im Laufe der Jahrtausende weitgehend verloren gegangen, und es gibt mehr und mehr Hinweise darauf, dass der Wirt Mensch diese Eindringlinge im Laufe der Zeit für sich zu nutzen gelernt hat: Er hat ihre Regulationsmechanismen, ihre Schalter umfunktioniert zu Schaltern für den eigenen Stoffwechsel und sie kreuz und quer in seinem Genom verteilt“, beschreibt dies Christine Leib-Mösch, Gruppenleiterin am Institut für Molekulare Virologie.

Warum schmeckt Brot nach längerem Kauen süß? Weil das Enzym Amylase dabei die Stärke in ihre ein-

zelnen Bestandteile zerlegt - in Zuckermoleküle. Die meisten Säugetiere produzieren dieses Enzym nur in der Bauchspeicheldrüse.

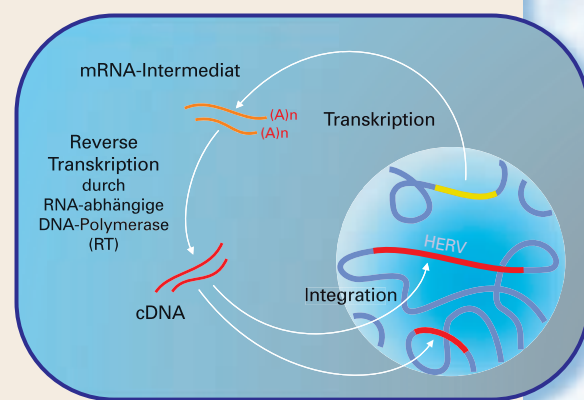
Ein Retrovirus-Relikt lässt Brot süß schmecken

Der Mensch erhielt im Laufe der Evolution - wenn man in entwicklungsgeschichtlichen Zeiträumen denkt, relativ spät - einen Selektionsvorteil: Als sich Altweltaffen und Neuweltaffen voneinander trennten, muss ein Retrovirus ins Genom gelangt sein. An einer bestimmten Stelle unmittelbar vor drei Genen, die für die menschliche Amylase zuständig sind, übernahm ein Bruchstück dieses Retrovirus, den Befehl, in welcher Umgebung diese Gene zur Amylaseproduktion eingeschaltet werden - beim Menschen von da an nicht nur in der Bauchspeichel- sondern auch in der Speicheldrüse.

Derartige Zusammenhänge erschließen sich, wenn man die verschiedensten humanen Gene auf Ähnlichkeiten mit Bruchstücken aus den humanen endogenen Retroviren

Endogene Retroviren - Blinde Passagiere im Erbgut

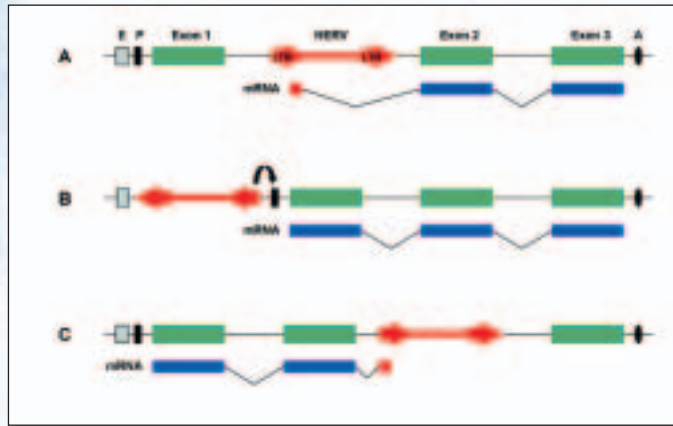
Retroviren enthalten keine DNA als Bauanleitung, sondern RNA. Infiziert ein Retrovirus eine Zelle, dann erstellt das Enzym Reverse Transkriptase von dieser RNA eine DNA-Kopie, diese DNA wird dann in die DNA der befallenen Zelle eingebaut und mit jeder Zellteilung weitergegeben. Gelangen solche Viren in Keimzellen, dann kann die Kopie des Virus-Erbguts von Generation zu Generation weitergegeben werden - der Organismus trägt das Virus also schon von Anfang an mit sich herum. Im Gegensatz zu exogenen Viren, die von außen auf einen Wirt losgehen, nennt man die blinden Passagiere „endogene Retroviren“, beim Menschen sind es „humane endogene Retroviren“ oder HERVs. Sie brauchen die Wirtszelle gar nicht zu verlassen, um neue Zellen zu infizieren - die „Schläfer“ im Genom werden abgelesen und in kleine DNA-Stücke übersetzt. Diese cDNA-Stücke schmuggeln sich sofort wieder in das Wirtsgenom - auf diese Weise können sich einzelne Passagen eines HERV hundertfach im Erbgut verewigen.



(HERV) vergleicht. Am Institut für Molekulare Virologie entdeckt die Arbeitsgruppe um Christine Leib-Mösch immer neue Hinterlassenschaften von HERVs: Ein solches charakteristisches Stückchen taucht an den verschiedensten Stellen im Genom auf - es ist dort aber immer assoziiert mit Genen für ein Protein, das in den Mitochondrien, den Kraftwerken der Zelle gebraucht wird. So können die GSF-Forscher aus diesen Gemeinsamkeiten ein Netz von Regulationsmechanismen aufdecken, wel-

Regulation der Genexpression durch HERV LTRs

- A** Veränderung eines Genproduktes durch Promotorinsertion (verkürztes Protein)
- B** Modifizierung der Gewebespezifität eines Gens durch einen HERV Enhancer (Beispiel: Amylasegene)
- C** Veränderung eines Genproduktes durch vorzeitige Terminierung (E) Enhancer, (P) Promotor, (A) Polyadenylierungssignal



che die Ablesung und Übersetzung von Genen in Proteine steuern. Dies liefert Antworten auf eine Fülle von Fragen - wie unterscheiden sich „gesund“ und „krank“ voneinander oder wie haben sich die einzelnen Spezies auseinander entwickelt?

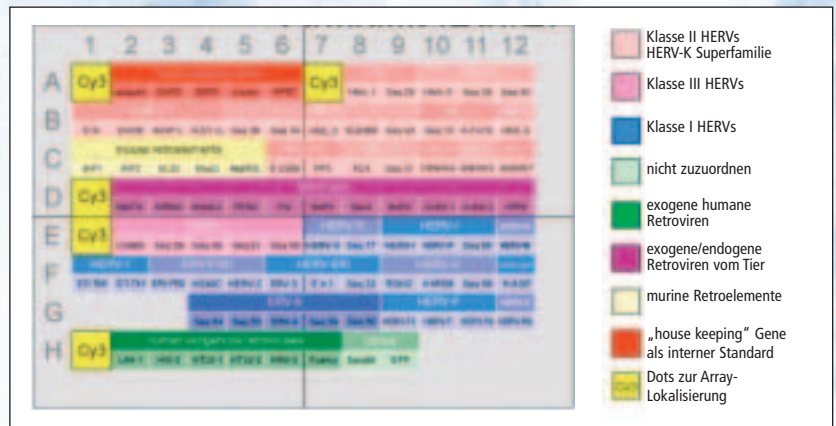
Die Fülle an retroviralen Sequenzen half dem Menschen offenbar im Laufe der Evolution bei seiner Anpassung an die Umwelt. Dafür spricht auch, dass viele dieser Schalter von Stressfaktoren wie UV-Licht oder Hormonen aktiviert werden. Immer mehr zeichnet sich ab, dass nicht allein die einzelnen Proteine den Unterschied zwischen den Arten ausmachen, sondern ihre Regulation. Warum hat der Schimpanse Haare am ganzen Körper, der Mensch nicht

mehr? Weil beim Menschen die Haarproduktion in den meisten Hautzellen abgeschaltet ist. Und so kommt man allmählich auch der Frage näher, warum der Mensch weder wie ein Affe noch wie eine Maus oder ein Fadenwurm aussieht, auch wenn,

wie immer wieder berichtet, ihre Gene in spektakulär hoher Zahl übereinstimmen.

Meister im Versteckspiel - das HI-Virus

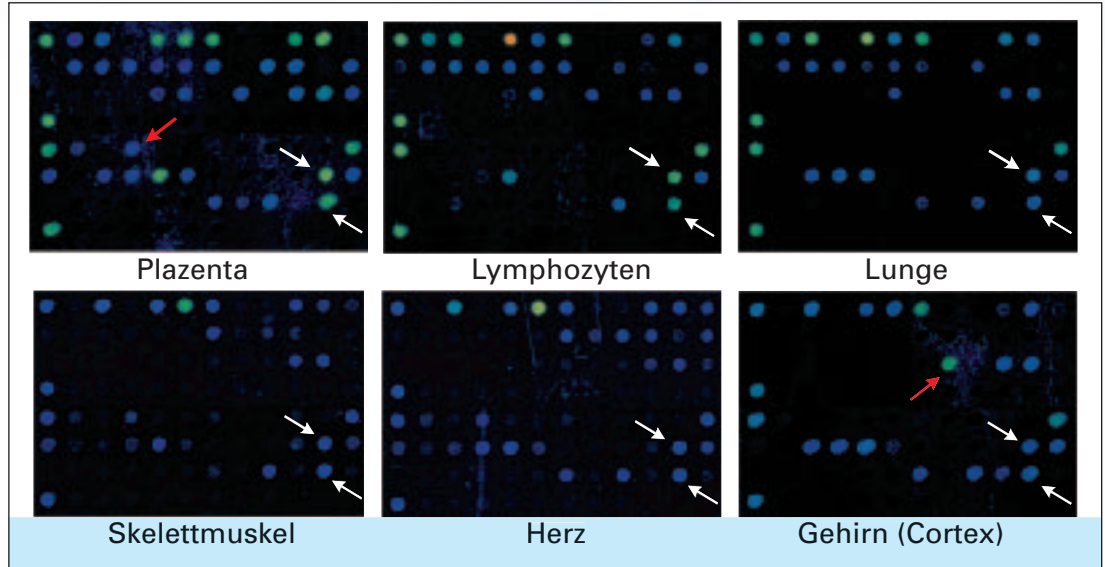
Diese Erkenntnisse aus Untersuchungen an HERV macht man sich am Institut für Molekulare Virologie nun auch in der HIV-Forschung zunutze: Der Erreger der Immunschwäche Aids, das HI-Virus kann bestimmte Zellen, beispielsweise Astrozyten, infizieren, ohne sich darin zu vermehren - es baut lediglich sein Erbgut in das der Wirtszelle ein. So kann das Virus längere Zeiträume „schlafend“ überdauern, um dann ganz plötzlich aktiv zu werden.



Retrovirus-Chip zum Nachweis aktiver HERV-Sequenzen

HERV Expression in humanen Geweben

Mit Hilfe eines Retrovirus-spezifischen DNA-Chips (s. Abb. Mitte) werden HERV-Expressionsprofile für verschiedene menschliche Gewebe ermittelt. Der Chip erfasst alle bekannten HERV-Typen. Aktive HERV-Sequenzen sind als fluoreszierende Punkte sichtbar, weiße Pfeile markieren HERVs, die in allen untersuchten Gewebetypen exprimiert wurden, die mit roten Pfeilen gekennzeichneten HERVs sind spezifisch nur in einem Zelltyp aktiv.



Diese Strategie verfolgen viele Viren - wer an Herpes leidet, kennt sie zur Genüge. Warum passiert in dieser Ruhephase nichts? Eine Reihe von Zellen kann die Expression, d.h. ihre Ablesung und Übersetzung drosseln. So beobachten Wissenschaftler am Institut für Molekulare Virologie häufig, dass infizierte Zellen virale Steuerungsfaktoren enthalten, ohne Viruspartikel zu produzieren. Wie funktioniert diese Bremse? Schlüsselfaktor für die Vervielfältigung ist ein Protein namens Rev. Rev bindet sowohl an bestimmte Strukturelemente in HIV RNA Moleküle als auch an Exportin, ein Eiweiß, das erst zusammen mit Rev überhaupt entdeckt wurde. Es stellte sich heraus, dass Exportin - wie es schon der Name erahnen lässt - für den Transport einer Reihe von Proteinen aus dem Zellkern in das Zytoplasma verantwortlich ist. „Dieses Beispiel zeigt, wie man virale Bestandteile nutzen kann, um Funktionen von zellulären Genen aufzuklären“, erklärt Ruth Brack-Werner. Am Institut für Molekulare Virologie beschäftigt sich die Arbeitsgruppenleiterin mit dem Immunschwächevirus und seinen Tricks. „Wir beobachten, dass Viren zelluläre Funktionen stören oder sie nutzen - und erst dadurch wissen wir von diesen Funktionen.“

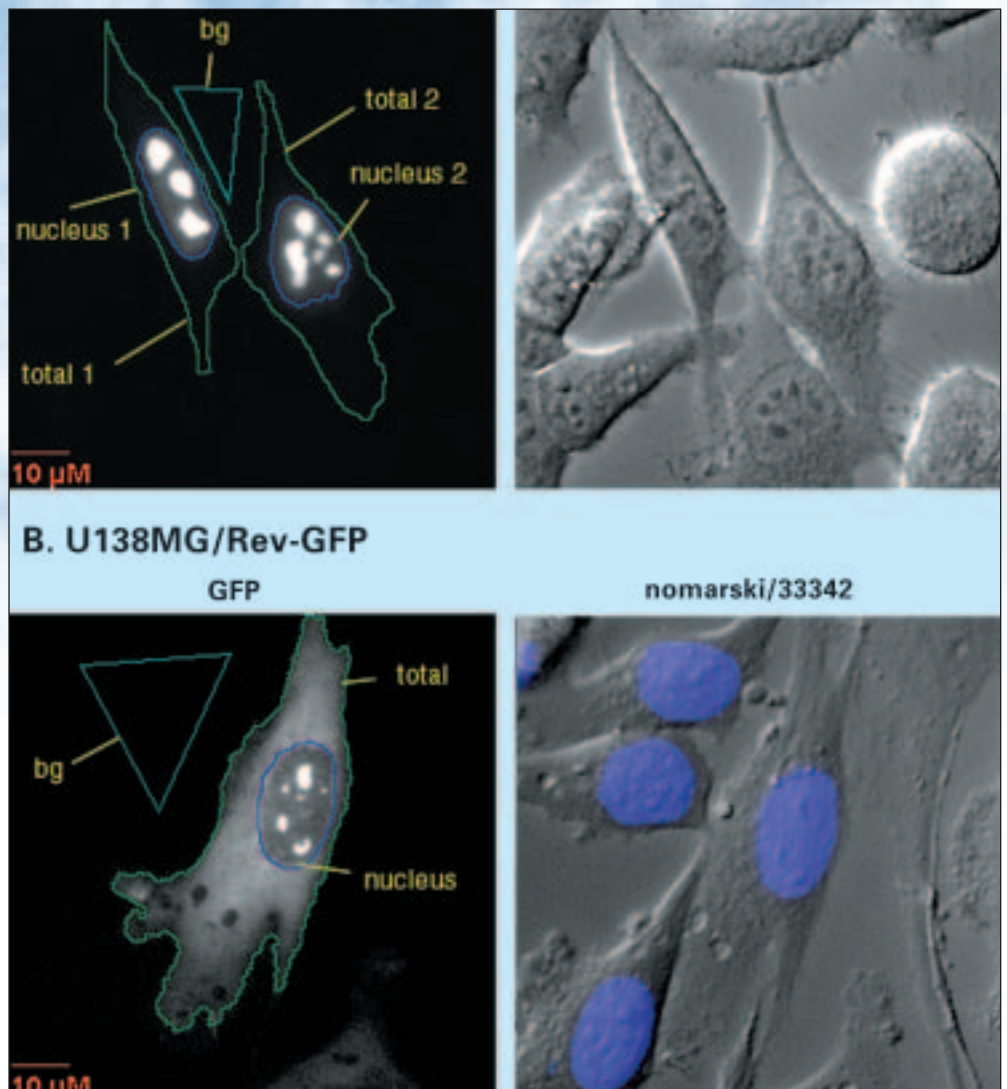
Sie fand heraus, dass Rev, das eigentlich bevorzugt im Zellkern vorkommt, sich bei infizierten Astrozyten im Zellplasma ansammelt. Den Zellkern trifft daran keine Schuld - es sind „Faktoren im Cytoplasma“, die den Transport zwischen Kern und Plasma hemmen. Jetzt ist Ruth Brack-Werner auf der Suche nach diesen Störern, sie will aus Astrozyten Rev-haltige Komplexe gewinnen, die darin enthaltenen zellulären Faktoren auf molekularer Ebene charakterisieren und die dazugehörigen Gene aus dem menschlichen Genom isolieren. Vielleicht

lernt man wieder etwas über die Funktion von Zellen, wenn man diese Gene vervielfältigt und dann die Wirkung größerer Mengen der jetzt noch unbekanntenen Faktoren auf andere Zellen testet - für Ruth Brack-Werner zumindest ist es nur noch eine Frage der Zeit, bis auch diese Wissenslücke geschlossen ist. Besonders spannend dabei ist die Aussicht, HIV-inhibierende Faktoren im menschlichen Genom zu identifizieren.

Viren sind bei ihrer Vermehrung zwingend auf die lebenden Zellen des Wirts angewiesen. Dieses Parasiten-

dasein macht sie zu Experten für die Nutzung des Zellstoffwechsels. Gleichzeitig unterliegen sie aber der Kontrolle des Immunsystems, das den Wirtsorganismus vor dem mikrobiellen Eindringling schützen soll.

In Millionen Jahren der Koexistenz mit ihren Wirten haben Viren daher gelernt, wie sie die Immunkontrolle des Wirtes mit Hilfe eigener regulatorischer Proteine manipulieren können. Insbesondere bei Herpes- und Pockenviren, DNS-Viren mit großen Genomen, existiert schon eine beeindruckende Liste von Virusgenen, die



Beispielhafte Darstellung der typischen intrazellulären Lokalisation

von HIV-1 Rev fusioniert mit dem grünen Fluoreszenzprotein (Rev-GFP) in Kontrollzellen (HeLa) und in Astrozytenkulturen (U138MG). Der Anteil von Rev-GFP ist im Zytoplasma der Astrozyten erhöht. Links sind die Fluoreszenz-, rechts die Phasenkontrastbilder gezeigt. Die Kerne der Astrozytenbilder sind im Phasenkontrastbild angefärbt. Die Umriss der Gesamtzelle (total), des Zellkerns (nucleus) und eines Hintergrundsegments (bg) sind angedeutet.

möglicherweise in die Steuerung des Wertsstoffwechsels oder seines Immunsystems eingreifen.

Die Funktion etwa der Hälfte aller in Pockenviren identifizierten Gene ist jedoch noch völlig unbekannt. Auffallende Ähnlichkeiten zu zellulären Genen legen nahe, dass es sich bei einem Teil dieser Gene um „gestohlene“ Wirtsgene handelt, etwa um Kopien der verschiedensten Steuer-moleküle: Von Zytokinen und Chemokinen oder deren Rezeptoren, Komplementfaktoren, IgG-Fc-Rezeptoren, Wachstums- und Angiogenese-faktoren oder Apoptose-Inhibitoren.

Andere regulatorische virale Gene, bei denen bisher keine Ähnlichkeiten zu bekannten Sequenzen gefunden wurden, liefern die Bauanleitung für Proteine, die vielleicht über spezifische Erkennungssequenzen mit Regulationssystemen der Zelle in Kontakt treten können und beispielsweise die Wirkung von Interferonen aufheben können. Damit bekämpft der Wirt normalerweise Viren. Solche Virusproteine könnten durch Co-Evolution entstanden sein. Sie könnten aber auch Beispiele für Virusfaktoren darstellen, deren Vorlagen im Genom

eines Wirts bisher noch nicht beschrieben wurden.

„Gestohlene“ Wirtsgene in Pockenviren?

Kennt man erst die Funktionen (immun)regulatorischer Virusgene, dann sollte es möglich werden, die Wechselwirkung zwischen Erreger und Wirt und die dabei verwendeten Botenstoffe zu bestimmen. Dieses Wissen wiederum kann helfen, die zugrunde liegenden Prinzipien der Zellbiologie und Immunologie zu entschlüsseln. Die gesammelten Daten sind essentiell für ein besseres Verständnis der Entstehung und des Verlaufs von Virusinfektionen. Sie werden dazu beitragen, virale Erkrankungen gezielt behandeln zu können, sichere und wirksame Virusvektoren für Impfung und Gentransfer sowie neue Strategien für therapeutische Immunmodulation zu entwickeln, beispielsweise gegen Autoimmunerkrankungen und Allergien.

Die am Klinikum Rechts der Isar untergebrachte Arbeitsgruppe von Gerd Sutter untersucht, wie Pockenviren das angeborene Immunsystem

des Wirts beeinflussen können. Mit Hilfe des Vacciniavirus, dem Prototypen der Orthopockenviren, wollen die Forscher klären, wie bestimmte Steuerproteine des Virus sowohl Vorgänge innerhalb der befallenen Zelle als auch Wechselwirkungen zwischen den Zellen beeinflussen. Bei einer Entzündung beispielsweise kommunizieren Zellen über Zytokine wie Interleukin oder den Tumornekrosefaktor, auch Interferone fördern oder hemmen entzündliche Prozesse. Die Arbeitsgruppe um Gerd Sutter will nun herausfinden, wie das Virus die Aktivierung von bestimmten Botenstoffen verändert und damit die Kommunikation von Immunzellen beeinflusst. Gentechnologisch modifizierte Vacciniaviren dienen dabei der gezielten Untersuchung einzelner viraler Steuerproteine. Damit könnte man bisher unbekannten Mechanismen der viralen Immunkontrolle auf die Spur kommen.

Mit dem so gewonnenen Wissen wiederum eröffnen sich neue Möglichkeiten bei der rationalen Entwicklung von Virusimpfstoffen und Medikamenten zur Behandlung von Virusinfektionen. ■

Sekretorische Pockenvirusproteine

als Inhibitoren der Immunabwehr des Wirts: Virus-infizierte Zellen sezernieren lösliche Proteine (z.B. vIFN α / β -R, vIFN γ -R, vIL-18BP) die als Antagonisten der Botenstoffe (Interferone und Interleukine) des Immunsystems wirken und somit die Aktivierung von antiviralen Abwehrsystemen verhindern können.

