

Virologisches Institut – Klinische und Molekulare Virologie

Lehrstuhl für Klinische und Molekulare Virologie

Adresse

Schlossgarten 4
91054 Erlangen
Tel.: +49 9131 8523563
Fax: +49 9131 8522101
www.virologie.uk-erlangen.de

Direktor

Prof. Dr. med. Klaus Überla

Ansprechpartnerin

Renate Hott
Tel.: +49 9131 8523563
Fax: +49 9131 8522101
renate.hott@uk-erlangen.de

Forschungsschwerpunkte

- retrovirale Infektionen
- Herpesvirusinfektionen
- antivirale Immunität

Struktur des Lehrstuhls

Professuren: 4
Beschäftigte: 106
• Ärzte: 6
• Wissenschaftler: 13
(davon drittmittelfinanziert: 9)
• Promovierende: 16

Klinische Versorgungsschwerpunkte

- infektionsserologische, molekularbiologische und virologische Nachweisverfahren von Virusinfektionen
- Resistenztestung
- Genotypisierung

Forschung

Trotz eines großen Wissenszuwachses in der Virologie und Immunologie in den letzten beiden Jahrzehnten besteht ein dringender Bedarf nach besseren Präventions- und Therapiemöglichkeiten von Erkrankungen durch persistierende Virusinfektionen und Atemwegsviren.

Forschungsschwerpunkt des Instituts ist es daher, auf der Basis molekularer Analysen der Virus-Zellinteraktion und der Interaktion von Viren mit dem Immunsystem neue antivirale Präventions- und Therapiemöglichkeiten auszuloten.

Retrovirale Infektionen

PI: Dr. A. Thoma-Kreß¹, Prof. Dr. U. Schubert², Prof. Dr. K. Überla³, Prof. Dr. T. Gramberg⁴
Beide humanpathogene Retroviren, das Humane T-Zell-Leukämie-Virus (HTLV) und das Humane Immundefizienzvirus (HIV), sind Gegenstand umfangreicher Forschungsarbeiten des Instituts.

Die erste Forschungsgruppe untersucht molekulare Mechanismen der Zell-Zell-Transmission von HTLV-1. Diese Arbeitsgruppe konnte dabei auch neue Messverfahren entwickeln, um die Übertragung der Viren und viraler Proteine während der Zell-Zell-Transmission einfacher und automatisiert untersuchen zu können.

Die zweite Arbeitsgruppe untersucht die Rolle von regulatorischen HIV-1-Proteinen in der Pathogenese von HIV-1, wobei gezeigt werden konnte, dass das HIV-1 p6 Gag-Protein die Membranassoziation, Ubiquitylierung und dadurch den Eintritt der Gag-Strukturproteine in den MHC-I-Antigen-Präsentationsweg reguliert. Während das virale Protein Vpr bei der Entstehung des sogenannten HIV-assoziierten Lipodystrophie-Syndroms eine entscheidende Rolle spielt, vermittelt Vpu die Polyubiquitylierung von bestimmten Wirtszellrezeptoren.

Eine von der dritten Arbeitsgruppe bearbeitete Fragestellung ist, wie Intron-haltige HIV-1 mRNAs im Zellkern festgehalten werden. Ein durchgeführter genomweiter Screen mittels der CRISPR/Cas-Technologie führte zur Identifizierung mehrerer Spliceosom-assoziiierter Proteine. Die Inaktivierung der entsprechenden Gene erhöhte die zytoplasmatischen Spiegel der Intronhaltigen genomischen HIV-1-RNAs bis zu 140-fach.

Der Fokus der vierten Arbeitsgruppe liegt auf den Effekten der antiviralen Restriktionsfaktoren SAMHD1 und TRIM5a auf die Infektion mit HIV-1 und die Retrotransposition mit LINE-1-Elementen. So konnte die Arbeitsgruppe unter Verwendung von Knockout-Mäusen zeigen, dass SAMHD1 eine breit gefächerte antivirale Aktivität aufweist. In weiteren Arbeiten wurde beobachtet, dass SAMHD1 die Retrotransposition mobiler genetischer LINE-Elemente unterbinden kann und somit ebenso zum Schutz und zur Integrität des menschlichen Genoms beiträgt. Im Bereich der Diagnostik steht die Entwicklung phänotypischer Resistenztests für HIV im Vordergrund.

Herpesvirusinfektionen

PI: Prof. Dr. M. Marshall¹, Prof. Dr. T. Stamminger² (bis 12/2017), Prof. Dr. A. Ensser³, PD Dr. B. Biesinger⁴, PD Dr. F. Neipel⁵, Prof. Dr. W. Doerfler⁶

Im Institut werden verschiedene zellbiologische Aspekte der Infektion mit Herpesviren bearbeitet.

Die erste Arbeitsgruppe beschäftigt sich mit der regulatorischen Rolle von Proteinkinasen bei der Replikation des humanen Cytomegalovirus (CMV) und verwandter Herpesviren. Proteinki-

nase-Aktivitäten spielen bei dem nukleo-cytoplasmatischen Egress der viralen Partikel eine tragende Rolle. So konnte die funktionelle Beteiligung der CMV-kodierten Proteinkinase pUL97 an diesem Prozess sowie deren regulatorische Interaktion mit zellulären Cyclinen gezeigt werden. Weitere virale und zelluläre Komponenten des nukleären Egress-Komplexes konnten durch Proteomics-Analysen identifiziert und funktionell charakterisiert werden. Von besonderer Wichtigkeit war der Erfolg der Röntgenstrukturaufklärung des viralen, heterodimeren Cores des Egress-Komplexes als Plattform für das Andocken und die nukleäre Freisetzung der CMV-Kapside.

Die zweite Arbeitsgruppe beschäftigt sich zum einen mit der Aufklärung von immunozellulären Mechanismen, die zur Abwehr von CMV-Infektionen beitragen. So gelang es vor kurzem, dass zelluläre Protein SPOC1 als neuen Faktor der intrinsischen Immunabwehr zu identifizieren. Zum anderen analysiert die Gruppe virale Effektorproteine, die essenzielle Funktionen für die virale Replikation oder Dissemination ausüben.

Bei ihrer Suche nach antiviralen Restriktionsfaktoren zeigte die dritte Arbeitsgruppe, dass das centrosomale Protein TRIM43 Herpesvirusinfektionen durch die Regulierung der Integrität der Zellkern-Lamina begrenzt. In einer langjährigen Zusammenarbeit mit Prof. M. Lehner und Prof. W. Holter (Wien) wurden außerdem neuartige T-Zell-basierte Immuntherapien für das humane Cytomegalovirus untersucht.

Die vierte Arbeitsgruppe erforscht, wie Onkoproteine von Gamma-Herpesviren humane Lymphozyten in Kultur zu permanentem Wachstum transformieren. Diese Onkoproteine interagieren mit TNF-Rezeptor-assoziierten Faktoren (TRAF). Mit deren Hilfe aktivieren sie NF-kappa-B, hemmen aber Interferon-induzierende Signalwege, wodurch sie zur viralen Persistenz beitragen könnten.

Die fünfte Arbeitsgruppe befasst sich mit dem Kaposi-Sarkom-assoziierten Herpesvirus (KSHV). Die Arbeitsgruppe konnte erstmals zeigen, dass die Ephrin-Rezeptortyrosinkinase A2 ein praktisch essentieller zellulärer Rezeptor für KSHV bei der Infektion endothelialer und epithelialer Zellen ist. Neben EphA2 ist auch Integrin alpha V an der Infektion epithelialer Zellen durch KSHV beteiligt.

Die Arbeiten der sechsten Forschungsgruppe Epigenetik befassen sich mit den Folgen des Eindringens fremder DNA oder von Viren für die Stabilität der CpG-Methylierungsprofile zellulärer DNA in Säugerzellen. Da die chromosomale Integration fremder DNA oder die Immortalisie-

zung von Zellen mit dem Epstein-Barr-Virus zu Änderungen in den zellulären CpG-Methylierungsmustern führt, erscheint die Interpretation von Daten aus Arbeiten mit genmanipulierten Zellen problematisch.

Während Herpesviren häufig für schwere Enzephalitiden verantwortlich sind, konnte mittels Next Generation Sequencing im Gehirngewebe eines Patienten mit tödlicher Enzephalitis einen gänzlich unerwarteter Erreger identifiziert werden, das Borna Disease-Virus 1. Hierdurch wurde erstmals nachgewiesen, dass dieses von Spitzmäusen übertragene Virus tatsächlich auch im Menschen pathogen ist.

Antivirale Immunität

PI: Prof. Dr. M. Tenbusch¹, Prof. Dr. M. Mach², Prof. Dr. K. Überla³

Die erste Arbeitsgruppe entwickelt neue, genbasierte Immunisierungsstrategien gegen virale Atemwegsinfektionen. Der Hauptfokus der Arbeit liegt in der Induktion lokaler Immunantworten an den mukosalen Eintrittspforten der Erreger. Die Arbeitsgruppe konnte zeigen, dass die adenovirale Vektorimmunisierung sehr potente antigen-spezifische, gewebsständige Gedächtnis-T-Zellen in der Lunge induzierte, welche einen effizienten Schutz sowohl gegen Infektionen mit einem breiten Spektrum an verschiedenen Influenza A-Viren als auch gegen das respiratorische Synzytial-Virus vermittelten.

Das dominierende Thema in der zweiten Arbeitsgruppe ist die Definition von Schutzmechanismen von Antikörpern gegen CMV. Als Modellsystem dient das murine CMV. Es wurden mehrere monoklonale Antikörper gegen Hüllproteine des Virus isoliert, deren *in vitro*-Neutralisationskapazität sich deutlich unterscheidet. Einige Antikörper zeigten signifikante Schutzwirkung *in vivo*. Der überraschende und neue Befund war, dass die Schutzwirkung der Antikörper vor einer CMV-Infektion *in vivo* nicht mit der Kapazität der Antikörper, das Virus *in vitro* zu neutralisieren, korrelierte. Es wurde eine Reihe von nicht-neutralisierenden Antikörpern gefunden, die ein ähnlich potentes Protektionspotential *in vivo* aufwiesen wie neutralisierende Antikörper.

Die dritte Arbeitsgruppe untersucht Wirkmechanismen der adaptiven Immunität gegen HIV und zielt auf die Entwicklung von HIV-Impfstoffen ab. Die Arbeitsgruppe konnte zeigen, dass Antikörper gegen HIV in der Lage sind, im Tiermodell die Infektion der allerersten Zellen zu verhindern. Für die Vakzinentwicklung nutzt die Arbeitsgruppe Gen-basierte Immunisierungsverfahren, liposomale Impfstoffe, Nanopartikel und Virus-

Partikel-Impfstoffe. Ein Ansatz besteht darin, T-Helfer-Zellantworten, die durch bereits zugelassene Impfstoffe induziert werden, zur Optimierung der Antikörperantwort gegen HIV zu nutzen. Mit Hilfe von B- und T-Zell-Rezeptor-transgenen Mäusen untersucht sie darüber hinaus den Einfluss von partikulären Impfstoffen auf die Aktivierung und Differenzierung von Antigen-spezifischen B-Zellen und follikulären T-Helferzellen. Ziel weiterer Arbeiten ist es, den Einfluss der HIV-Infektion auf die durch Impfung induzierte Immunantworten zu charakterisieren.

Lehre

Die curricularen Pflichtveranstaltungen zur Infektiologie und Immunologie für Studierende der Medizin, Zahnmedizin, Pharmazie und Molekularen Medizin werden vom Virologischen Institut gemeinsam mit dem Mikrobiologischen Institut durchgeführt. In Kooperation mit weiteren Kollegen aus dem UK Erlangen sowie aus Würzburg und Nürnberg beteiligen sich Dozenten des Instituts an der interdisziplinären Ringvorlesung Infektiologie und Immunologie (Q4). Darüber hinaus bietet das Virologische Institut eine Reihe von Wahlpflicht- und Wahlveranstaltungen für Studierende der Medizinischen und auch der Naturwissenschaftlichen Fakultät an. Das Lehrangebot erstreckt sich auch auf die Bachelor- und Masterstudiengänge Molekulare Medizin, Integrated Immunology, Biologie bzw. Zell- und Molekularbiologie, Integrated Life Sciences und Molecular Sciences.

Die Lehrveranstaltungen werden abgerundet durch die Betreuung von Bachelor- und Masterarbeiten sowie von medizinischen und naturwissenschaftlichen Promotionen.

Ausgewählte Publikationen

Bootz A, Karbach A, Spindler J, Kropff B, Reuter N, Sticht H, Winkler TH, Britt WJ, Mach M. Protective capacity of neutralizing and non-neutralizing antibodies against glycoprotein B of cytomegalovirus. *PLoS Pathog* 2017; 13(8):e1006601

Held FE, Guryev AA, Fröhlich T, Hampel F, Kahnt A, Hutterer C, Steingruber M, Bahsi H, von Bojnic-Kninski C, Mattes DS, Foertsch TC, Nesterov-Mueller A, Marschall M, Tso-goeva SB. Facile access to potent antiviral quinazoline heterocycles with fluorescence properties via merging metal-free domino reactions. *Nat Commun* 2017; 8:15071

Elsayed H, Nabi G, McKinstry WJ, Khoo KK, Mak J, Salazar AM, Tenbusch M, Temchura V, Ueberla K. Infrastructural Help: Harnessing T Helper Cells Induced by Licensed Vaccines for Improvement of HIV Env Antibody Responses to Virus-Like Particle Vaccines. *J Virol* 2018; 92(14): e00141-18

Grosskopf AK, Ensser A, Neipel F, Jungnickl D, Schlagowski S, Desrosiers RC, Hahn AS. A conserved Eph family receptor-binding motif on the gH/gL complex of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus and rhesus monkey rhadinovirus. *PLoS Pathog* 2018; 14(2):e1006912

Korn K, Coras R, Bobinger T, Herzog SM, Lücking H, Stöhr R, Huttner HB, Hartmann A, Ensser A. Fatal Encephalitis Associated with Borna Disease Virus 1. *N Engl J Med* 2018; 379(14): 1375-1377

Lapuente D, Bonsmann MSG, Maaske A, Stab V, Heinecke V, Watzstedt K, Hess R, Westendorf AM, Bayer W, Ehrhardt C, Tenbusch M. IL-1 beta as mucosal vaccine adjuvant: the specific induction of tissue-resident memory T cells improves the heterosubtypic immunity against influenza A viruses. *Mucosal Immunol* 2018; 11(4): 1265-1278

Internationale Zusammenarbeit

Prof. J. Ung Jung, University of Southern California, Los Angeles: USA

Prof. W. Britt, University of Alabama, Birmingham: USA

Prof. W.D. Rawlinson, Virology, University of New South Wales, Sydney: Australien

Prof. Dr. A. Balasubramanyam, Division of Endocrinology, Baylor College of Medicine, Houston: USA

Prof. Dr. D. Burton, Scripps Research, La Jolla: USA