

Virologisches Institut – Klinische und Molekulare Virologie

Lehrstuhl für Klinische und Molekulare Virologie

Adresse

Schlossgarten 4
91054 Erlangen
Tel.: +49 91318523563
Fax: +49 9131 8522101
www.virologie.uk-erlangen.de

Direktor

Prof. Dr. med. Klaus Überla

Ansprechpartnerin

Renate Hott
Tel.: +49 91318523563
Fax: +49 9131 8522101
renate.hott@uk-erlangen.de

Forschungsschwerpunkte

- retrovirale Infektionen
- Herpesvirusinfektionen
- antivirale Immunität

Struktur des Lehrstuhls

Professuren: 4
Beschäftigte: 132
• Ärzte: 7
• Wissenschaftler: 17
(davon drittmittelfinanziert: 13)
• Promovierende: 28

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, wie die COVID-19 Pandemie belegt, ein dringender Bedarf nach besseren Präventions- und Therapiemöglichkeiten von Erkrankungen durch Atemwegsviren und persistierenden Virusinfektionen. 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. Im einzelnen wurden folgende Schwerpunkte gesetzt:

SARS-CoV-2 Infektion

PI: Prof. Dr. K. Überla¹, Prof. Dr. A. Ensser², Prof. Dr. T. Gramberg³, Prof. M. Marschall⁴, Prof. Dr. U. Schubert⁵, Prof. Dr. M. Tenbusch⁶.

In Reaktion auf die COVID-19 Pandemie wurde umgehend die virologische Diagnostik etabliert und eine Reihe von Forschungsprojekten initiiert. In Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Jäck wurden humane neutralisierende Antikörper gegen SARS-CoV-2 entwickelt, die im Tiermodell sowohl prophylaktisch als auch therapeutisch wirksam sind. Gemeinsam mit Prof. Ralf Wagner von der Universität Regensburg wurde

die Seroprävalenz im Hotspot Tirschenreuth bestimmt. Es gelang ferner, rekombinante SARS-CoV-2-Mutanten herzustellen, die für nachfolgende Untersuchungen zur Molekularbiologie und Pathogenese wichtig sind. Es wurden mehrere Inhibitoren der SARS-CoV-2-Vermehrung in Zellkultur identifiziert, deren Wirkmechanismus und therapeutisches Potential Gegenstand aktueller Untersuchungen ist. Ziel ist es auch, Hinweise auf die Rolle weltweit gefundener SARS-CoV-2-Mutationen zu gewinnen. Im Tiermodell wird ferner die Bedeutung der mukosalen Immunantwort nach Gabe viraler COVID-19 Vektor- und mRNA-Impfstoffe bestimmt.

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 Mechanismen der Zell-Zell-Transmission von HTLV-1 und konnte dabei molekulare Details der Übertragung der Viren und viraler Proteine aufklären. Langfristig zielt die Gruppe darauf ab, Präventionsstrategien für die Übertragung von HTLV-1 von Mutter zu Kind zu entwickeln. Darüber hinaus untersucht die Gruppe die Regulation der viralen Transkription. Die zweite Arbeitsgruppe untersucht die Rolle von kleinen HIV-1-Proteinen in der Pathogenese von HIV-1, wobei gezeigt werden konnte, dass das HIV-1 p6 Gag-Protein das erste bekannte virale Substrat für das Insulin-degradierende Enzym (IDE) darstellt, wobei p6 ca. 100-fach besser durch die IDE degradiert wird als das evolutionäre Substrat Insulin. Dieses Phänomen wird durch den N-Terminus von p6 reguliert und ist spezifisch für pandemische HIV-1 M-Isolate.

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 Intron-haltigen genomischen HIV-1-RNAs bis zu 140-fach.

Der Fokus der vierten Arbeitsgruppe liegt auf dem Einfluss intrinsischer antiviraler Restriktionsfaktoren auf die virale Infektion und auf mobile genetische Elemente. So konnte die Gruppe mit Hilfe von Knockout-Mäusen zeigen, dass der anti-HIV-Faktor SAMHD1 ebenso die Replikation von murinem CMV *in vivo* inhibiert und durch die virale Kinase inaktiviert wird. Weiter konnte gezeigt werden, dass der antivirale Faktor TRIM5 α LINE-1-Retroelemente erkennt und inhibiert und somit zur Aufrechterhaltung der Integrität des menschlichen Genoms beiträgt. Im Bereich der Diagnostik steht die Entwicklung phänotypischer Resistenztests für HIV im Vordergrund.

Herpesvirusinfektionen

PI: Prof. Dr. M. Marschall¹, Prof. Dr. A. Ensser², PD Dr. B. Biesinger³, PD Dr. F. Neipel⁴, Prof. Dr. W. Doerfler⁵

Im Institut werden verschiedene zellbiologische Aspekte der Infektion mit Herpesviren bearbeitet. Die erste Arbeitsgruppe beschäftigt sich mit der regulatorischen Rolle von Proteinkinasen (PKs) bei der Replikation des humanen Cytomegalovirus (CMV) und anderer Herpesviren sowie der Nutzung von PK-Inhibitoren für die antivirale Therapie. PK-Aktivitäten spielen in viralen Replikationsprozessen eine tragende Rolle, wie bei dem nukleären Partikel-Egress, der Interaktion mit dem Zellzyklus sowie der viralen Pathogenese. Eine vielschichtige funktionelle Beteiligung der CMV-kodierten PK pUL97, insbesondere durch pUL97-Interaktion mit Cyclinen, wurde unlängst nachgewiesen. Weitere virale und zelluläre Komponenten des nukleären Egress-Komplexes (NEC) konnten durch Proteomics-Analysen identifiziert werden, und Struktur-Funktionsanalysen führten zu dessen Validierung als antivirales Target. Kürzlich konnte der Prototyp eines NEC-inhibierenden Small Molecules beschrieben werden.

Bei ihrer Suche nach antiviralen Restriktionsfaktoren zeigte die zweite 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 dritte 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 vierte Arbeitsgruppe befasst sich mit dem Kaposi-Sarkom-assoziierten Herpesvirus (KSHV). Die Arbeitsgruppe konnte zeigen, dass die Ephrin-Rezeptortyrosinkinase A2 ein Rezeptor für KSHV bei der Infektion endothelialer und epithelialer Zellen ist. In Zusammenarbeit mit der Gruppe von Prof. Felix Rey (Institute Pasteur) konnte kürzlich die Struktur des Komplexes aus gH/gL und EphA2 aufgeklärt und für die Interaktion entscheidende Aminosäuren identifiziert werden. Diese Kenntnisse werden zur Zeit verwendet, um gezielt inhibitorische Antikörper zu entwickeln.

In Zeiten von Covid-19 hat sich die Epigenetik-Gruppe (5) mit der Analyse von weltweit gefundenen SARS-CoV-2 Mutationen befasst. Zwischen März/Mai, Mai/September und dann bis Dezember 2020 traten viele neue Mutanten auf, inkl. der Varianten aus UK, Süd-Afrika, Brasilien. Da >50% der Mutanten C-T-Transitionen waren, könnten die Deaminasen im APOBEC-Komplex der Zelle von antiviral zu mutagen pervertiert worden sein.

Während Herpesviren häufig für schwere Enzephalitiden verantwortlich sind, konnte mittels Next Generation Sequencing im Gehirngewebe eines Patienten mit tödlicher Enzephalitis ein 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, PD Dr. V. Temchura⁴
Die erste Arbeitsgruppe entwickelt neue, gen-basierte Immunisierungsstrategien gegen virale Atemwegsinfektionen und analysiert die besondere Bedeutung der lokalen Immunität an den mukosalen Eintrittspferten der Erreger. Durch mukosal verabreichte Vektorimpfstoffe werden sehr potente, antigen-spezifische, gewebsständige Gedächtnis-T-Zellen in der Lunge induziert, die einen effizienten Schutz gegen eine Vielzahl von Influenza A-Viren, dem respiratorischen Syncytial-Virus und vermutlich auch gegen SARS-CoV-2 vermitteln können. Darüber hinaus werden in der Arbeitsgruppe serologische Testverfahren zur Bestimmung verschiedener Immunglobulinklassen gegen Influenza, RSV und SARS-CoV-2 entwickelt. Das dominierende Thema in der zweiten Arbeitsgruppe ist die Definition von Schutzmechanismen von Antikörpern, die u.a. gegen das Fusionsprotein gB von HCMV gerichtet sind. Durch Verwendung Virus-neutralisierender gB-spezifischer monoklonaler Antikörper (MAbs) konnte gezeigt werden, dass Synzytium-Bildung, vermittelt durch ein intrinsisch fusions-aktives gB/VSV-G Chimär, ausschließlich von den MAbs unterbunden wird, die gegen eine bestimmte Antigen-Domäne von gB gerichtet sind. Diese Beobachtung deutet auf differentielle Mechanismen neutralisierender anti-gB MAbs hin und suggeriert, dass die Blockade der Membranfusion einen Mechanismus von Antikörper-vermittelter Neutralisation darstellt.

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. Ziel weiterer Arbeiten ist es, den Einfluss der HIV-Infektion auf die durch Impfung induzierten Immunantworten zu charakterisieren.

Die vierte Arbeitsgruppe untersucht mit Hilfe von B- und T-Zell-Rezeptor-transgenen Mäusen den Einfluss von nano-partikulären Impfkandidaten und immunmodulierenden Substanzen auf die Aktivierung und Differenzierung von Antigen-spezifischen B-Zellen und follikulären T-Helferzellen. Das weitere Ziel ist die Anwendung von antiviralen nano-partikulären Impfstoffen zur Verbesserung der Antikörperantworten.

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 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, für die ein strukturiertes Ausbildungsprogramm durch das GRK2504 "Novel antiviral approaches" angeboten wird.

Ausgewählte Publikationen

Deutschmann J, Schneider A, Gruska I, Vetter B, Thomas D, Kießling M, Herrmann A, Wittmann S, Schindler M, Milbradt J, Ferreirós N, Winkler TH, Wiebusch L, Gramberg T. A viral kinase counteracts in vivo restriction of murine cytomegalovirus by SAMHD1. *Nat Microbiol* 2019; 4:2273-228.

Donhauser N, Socher E, Millen S, Heym S, Sticht H, Thoma-Kress AK. Transfer of HTLV-1 p8 and Gag to target T-cells depends on VASP, a novel interaction partner of p8. *PLoS Pathog* 2020; 16(9):e1008879.

Full F, van Gent M, Sparrer KMJ, Chiang C, Zurenski MA, Scherer M, Brockmeyer NH, Heinzerling L, Stürzl M, Korn K, Stamminger T, Ensser A, Gack MU. Centrosomal protein TRIM43 restricts herpesvirus infection by regulating nuclear lamina integrity. *Nat Microbiol* 2019; 4:164-176.

Klessing S, Temchura V, Tannig P, Peter AS, Christensen D, Lang R, Überla K. CD4+ T cells induced by tuberculosis subunit vaccine H1 can improve the HIV-1 Env humoral response by Intracellular Help. *Vaccines* (2020); 8: 604; doi:10.3390/vaccines8040604.

Lapuente D, Maier C, Irrgang P, Hübner J, Peter AS, Hoffmann M, Ensser A, Ziegler K, Winkler TH, Birkholz T, Kremer AE, Steininger P, Korn K, Neipel F, Überla K, Tenbusch M. Rapid response flow cytometric assay for the detection of antibody responses to SARS-CoV-2. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2020; Oct 20:1-9. doi: 10.1007/s10096-020-04072-7. Online ahead of print.

Muller YA, Häge S, Alkhashrom S, Höllriegel T, Weigert S, Dolles S, Hof K, Walzer SA, Egerer-Sieber C, Conrad M, Holst S, Lösing J, Sonntag E, Sticht H, Eichler J, Marshall M. High-resolution crystal structures of two prototypical β - and γ -herpesviral nuclear egress complexes unravel the determinants of subfamily specificity. *J Biol Chem* 2020; 295: 3189-3201.

Internationale Zusammenarbeit

Prof. Dr. Jan Gettemans, University of Ghent, Belgium

Prof. Felix Rey, Institute Pasteur, France

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

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

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