

# **Institut für Virologie**

**Direktor: Prof. Dr. med. D. H. Krüger**

**Universitätsklinikum Charité  
der Humboldt-Universität zu  
Berlin**

**Schumannstr. 20/21**

**10117 Berlin**

**Postadresse: 10098 Berlin**

**Tel. +49-30-2802-2387**

**Fax +49-30-2802-2180**



**40 Jahre  
Institut für  
Virologie**

# **Jahresbericht 1998**

**Berlin, im Februar 1999**

## Inhalt

	Seite
A. Vorwort	2
B. Kollegium des Instituts	3
C. Lehre	5
D. Übersicht zur Drittmittelinwerbung	6
E. Vorstellung der Forschungsprojekte	7
F. Medizinische Versorgung	17
G. Publikationen	19
H. Vorträge, Poster, Abstractpublikationen	24
I. Verzeichnis der öffentlichen Institutskolloquien	30

Anlage 1	Vor 40 Jahren: Erste Publikation aus dem neugegründeten Institut
Anlage 2	Auszug aus dem Vorlesungsverzeichnis 1998
Anlage 3	Leistungsspektrum in der Krankenversorgung
Anlage 4	„Seminarsprecher des Jahres“ am Institut für Virologie
Anlage 5	Programm des Internationalen Workshops „Chimeric virus-like particles as vaccines“, 01.-04. April 1998

## A. Vorwort

Das Institut für Virologie feierte 1998 sein vierzigjähriges Bestehen. Die Gründungs-urkunde stammt vom 15. Juli 1958. Damit war die Charité eines der ersten Universitätsklinika in Deutschland, an denen das aufstrebende Fachgebiet der Virologie institutionalisiert wurde, weil erkannt worden war, welche praktische Relevanz das Fach für Grundlagenforschung und Klinik besaß (und immer stärker besitzt). Das Institut entfaltete sehr rasch eine rege Publikationstätigkeit, woraus in der Anlage zu diesem Jahresbericht ein – inzwischen historisches – Beispiel präsentiert wird. Anlässlich des internationalen Festsymposiums zur 35-Jahr-Feier 1993 hatte der Gründungsdirektor des Instituts, Ewald Edlinger (heute Antibes/Frankreich), die Jahre des Beginnes eindrücklich geschildert (1). Das 40. Jubiläum beging das Institut mit einer gemeinsamen Wochenendfahrt seiner jetzigen Mitarbeiter.

Ein weiteres Institutereignis im Jahre 1998 war der Internationale Workshop „Chimeric virus-like particles as vaccines“, der im April des Jahres zum zweiten Mal an der Charité durchgeführt wurde. Die Tagung fand wieder breite Resonanz und Anerkennung bei den Kollegen des In- und Auslandes. Das wissenschaftliche Programm ist diesem Forschungsbericht beigelegt. Ausgewählte Übersichten und Originalbeiträge erscheinen als thematisches Heft von „Biological Chemistry“ (2).

Schließlich ist zu erwähnen, daß 1998 unser Labor der Sicherheitsstufe 3 in den Routinebetrieb gegangen ist, so daß wir nun endlich mit biologisch aktiven Hantaviren und HIV arbeiten können.

Der hier vorgelegte Jahresbericht 1998 beinhaltet die Ergebnisse der Anstrengungen des Institutskollegiums in der Forschung, Lehre und medizinischen Versorgung. Gedankt sei den vielen Kooperationspartnern aus klinischen und theoretischen Einrichtungen: Das Zusammenwirken mit ihnen schuf die Grundlage für viele der dargestellten Leistungen.

Berlin, den 23.02.1999

Detlev H. Krüger

- (1) Arber W, Edlinger E, Krüger DH, Thomssen R:  
35 Jahre Institut für Medizinische Virologie.  
In: Charité-Annalen Neue Folge, Band 13, 1993 (Mau H, ed). Akademie-Verlag, Berlin 1995, S. 118-136
- (2) Krüger DH, Ulrich R, Gerlich HW (eds):  
Chimeric virus-like particles as vaccines.  
Biological Chemistry 380 (1999) No. 3

Ich danke Christina Grübel für die technische Redaktion des Jahresberichtes.

## **B. Kollegium des Instituts**

### ***Professoren***

Krüger, Detlev, Univ.-Prof. Dr. med. (Direktor des Institutes)

### ***Arbeitsgruppenleiter(innen)***

Meisel, Helga, Dr. rer. nat. (Stellv. des Institutsdirektors)

Prösch, Susanna, PD Dr. rer. nat.

Reuter, Monika, Dr. rer. nat.

Schroeder, Cornelia, PD Dr. rer. nat.

Ulrich, Rainer, Dr. rer. nat.

### ***Mitarbeiter(innen)***

Arndt, Marco (Mai bis Nov. 98)

Briedigkeit, Lutz, Dr. med. (seit Aug. 98)

Chaves, Ricardo L., Dr. med.

Conrad, Claudia

Dauer, Karin

Dawydowa, Irina, Dipl.-Med. (bis Feb. 98)

Demakowski, Marina

Descher, Marita

Ehrlich, Ilse

Engelhardt, Annett

Fritsch, Eckhard, Dipl.-Biol.

Gras, Christiane (Juli bis Okt. 98)

Grübel, Christina

Grünberg, Marina

Haring, Brita

Heider, Harald, Dr. med.

Jantschak, Joachim, Dr. rer. nat.

Kämmerer, Bettina (seit Sept. 98)

Kerger, Gabriele

Kersten, Sigrid

Knippel, Karl

Koletzki, Diana, Dipl.-Chem.

Koschke, Sylvia

Krahn, Inge (seit Juli 98)

Kupper, Dagmar, Dr. rer. nat. (bis Juni 98)

Lin, Tse-I, Dipl.-Biochem.

Mackeldanz, Petra

Möncke-Buchner, Elisabeth, Dipl.-Biol.

Mücke, Merlind, Dipl.-Chem. (seit April 98)

Muske, Karin

Neifer, Stefan, Dr. med.

Nugel, Elsa

Pohl, Brigitte

Preikschat, Petra, Dipl.-Biochem.

Priemer, Christina, Dipl.-Biol.

Przybyla, Mechthild

Reip, Angela, Dr. med.

Reiser, Pia (bis Juli 98)

Scherneck, Ursula (Leitende MTA)

Schmalcz, Attila (bis Juni 98)

Schories, Astrid

Schröder, Kathlen

Schröpfer, Andrea

Sibold, Claus, Dr. rer. nat.

Sommer, Kerstin

Tromp, Hannelore

Väth, Andreas (seit Juli 98)

Weyer, Christiane, Dipl.-Biol.

Woskobochnik, Ina (z. Z. beurlaubt)

Ziaja, Beate (seit Aug. 98)

***Gastdozenten und Gastmitarbeiter***

Diringer, Heino, Prof. Dr., Robert-Koch-Institut Berlin  
 Esdorn, Friederike, Dr. med., Institut für Mikrobiologie der Charité (bis Nov. 98)  
 Gedvilaite, Alma, Dr., Institute of Biotechnology, Vilnius, Litauen (Nov./Dez. 98)  
 Heider, Alla, Dr. rer. nat. (seit Mai 98)  
 Kazaks, Andris, Biozentrum der Universität Lettlands, Riga (April bis Juni 98)  
 Niedrig, Matthias, PD Dr. rer. nat., Robert-Koch-Institut Berlin  
 Scherneck, Siegfried, PD Dr. rer. nat., Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin, Berlin  
 Sominskaya, Irina, Dr., Biozentrum der Universität Lettlands, Riga (Nov. 98)  
 Tillner, Regina, Zentralbibliothek der Charité  
 Voronkova, Tatyana, Dipl.-Biol., Biozentrum der Universität Lettlands, Riga (Juni 98)  
 Zill, Edith, Dr. med., Institut für Mikrobiologie der Charité (seit Nov. 98)

***Studentische und wissenschaftliche Hilfskräfte***

Brechler, Jan  
 Fischer, Michaela (bis Juli 98)  
 Hardel, Nadine (seit Aug. 98)  
 Hassen Siray, Dipl.-Biochem.  
 Heine, Ann-Kathrin (seit Juli 98)  
 Kostka, Andreas (bis Juni 98)  
 Münter, Sylvia (seit Nov. 98)  
 Preuß, André  
 Reich, Stefanie  
 Richter, Norbert (seit Aug. 98)  
 Schmalcz, Attila (seit Juli 98)  
 Schulz, Daniela (seit Aug. 98)  
 Shamil Musema (bis Juni 98)  
 Wagener, Asja (bis März 98)

***Zivildienstleistende***

Polster, Frank (seit April 98)  
 Schlippe, Christian (bis Jan. 98)  
 Schröter, Tobias (bis März 98)  
 Siebnich, Dirk (seit Feb. 98)

***Auszubildende***

Rother, Kristin (seit Oktober 98)

## C. Lehre

Die Vorlesung Virologie für Humanmediziner wird im Wintersemester und im Sommersemester für die Studenten im 1. Klinischen Semester mit 1 Semesterwochenstunde gehalten. Die Vorlesung beinhaltet Schwerpunkte der Allgemeinen und Klinischen Virologie. Am Ende der Vorlesung wird der Wissensstand der Studenten mittels eines schriftlichen Tests überprüft; das erfolgreiche Bestehen ist Voraussetzung für die Teilnahme am Blockpraktikum im 2. Klinischen Semester.

In jedem Semester findet ein 14-tägiges Blockpraktikum Mikrobiologie/Virologie/Immunologie für Studenten des 2. Klinischen Semesters statt, an dem das Institut pro Durchgang mit 15 Stunden beteiligt ist. Im Wintersemester 97/98 wurde das Praktikum für ca. 240 Studenten, im Sommersemester 98 für 400 Studenten in insgesamt 8 Durchgängen mit jeweils 4 Kursgruppen durchgeführt. Schwerpunkte des Praktikums sind Methoden der Virusdiagnostik (Virusanzucht, Bestimmung von Virustitern und der Empfindlichkeit von Viren gegenüber bestimmten Virostatika, HBs- und anti-HBc-ELISA, Röteln-HHT), Grundlagen der antiviralen Chemotherapie, Verhalten bei Nadelstichverletzung und anderes. Dank der finanziellen Unterstützung durch das Prodekanat für Lehre konnte der praktische Teil des Kurses stark erweitert werden, was von den Studenten sehr begrüßt wird. Um das Praktikum aufzuwerten, wurde im Wintersemester 98/99 eine mündliche Abschlußprüfung für den Kurs eingeführt, das erfolgreiche Bestehen der Prüfung ist Voraussetzung für die Scheinvergabe.

Im Sommersemester 98 wurde eine Vorlesung „Molekulare Virologie“ mit 2 Semesterwochenstunden, im Wintersemester 98/99 ein 14-tägiges Praktikum für Biologiestudenten durchgeführt. Während des Praktikums werden die Studenten in den verschiedenen Arbeitsgruppen des Instituts mit den modernen Methoden der Virusdiagnostik, der klassischen sowie der molekularen Virologie bekannt gemacht.

Für die Studenten der Zahnmedizin im 5. Semester wurde im Sommersemester 98 eine Vorlesung Virologie mit 1 Semesterwochenstunde gehalten, die neben der Allgemeinen Virologie ausgewählte Aspekte der speziellen Virologie mit den Schwerpunkten orale und periorale Infektionen, HIV und Hepatitis beinhaltet. Aufbauend auf die Vorlesung fand im Wintersemester 98/99 ein 2-tägiges Praktikum für die 80 Studenten des 6. Semesters in 4 Seminargruppen statt. Auch hier konnte der praktische Teil des Kurses deutlich erweitert werden.

## D. Übersicht zur Drittmittelinwerbung

### *Außenbegutachtete Drittmittelprojekte 1998*

- 1) DFG: „Molekulare Diversität und Epidemiologie der Hantaviren“
- 2) DFG: „Regulation des IL-10 Promotors in Monozyten“
- 3) DFG: „Struktur-Funktionsbeziehung des Influenzavirus M2-Ionenkanals, eines Targetproteins der antiviralen Chemotherapie“
- 4) DFG: „Untersuchungen zur DNA-Erkennung und Sequenzspezifität der Restriktionsendonuklease *EcoRII* mit synthetischen Peptidscans“
- 5) DFG: „DNA-Substraterkennung durch Typ-III-Restriktionsendonukleasen“
- 6) BMBF: „Rolle der Sequenzheterogenität des Hepatitis-B-Virus in der Pathogenese chronischer Hepatitiden unter Immunsuppression“
- 7) BMBF: „Einfluß von SP-A auf die HCMV-Infektion der Lunge und die Entstehung der Bronchopulmonalen Dysplasie“
- 8) BMBF: „Restriktionsendonukleasen und Genomanalyse“
- 9) Europäische Union: „Virusähnliche Partikel als Träger von Fremdepitopen in der Impfstoffentwicklung“

### *Förderung internationaler Kooperationen*

- BMBF (wiss.-techn. Zusammenarbeit): „Variants of hepatitis B core antigen“
- BMBF (wiss.-techn. Zusammenarbeit): „Virus-ähnliche Partikel“
- DAAD (Austausch Deutschland-Frankreich): „Antivirale Wirkstoffe“
- DAAD (Austausch Deutschland-Schweden): „Hantavirus-Vakzine“

### *Zum Jahresende neu bestätigte Projekte*

- DFG (SFB 421): „Regulation der IE-Genexpression des Humanen Cytomegalievirus in Monozyten“
- EU: „Molekularepidemiologie und pathologische Bedeutung von Varianten des Hepatitis-B- und Hepatitis-C-Virus“
- BMGe: „Prävalenz von Hantavirus-Antikörpern in der deutschen Bevölkerung“

Finanzielle Förderungen erfolgten außerdem durch die Universitäre Forschungsförderung (Medizinische Fakultät der Humboldt-Universität), den Fonds der Chemischen Industrie und die Max-Buchner-Stiftung.

Dank gilt auch der Akademischen Verwaltung Forschung/Drittmittelverwaltung (Leiter: Dr. G. Bodin) und der Zentralbibliothek der Charité (Leiter: Dr. V. Johst) für die Unterstützung und gute Zusammenarbeit.

## **E. Vorstellung der Projekte**

### ***E.1. Molekulare Diversität und Epidemiologie der Hantaviren***

Projektleiter: D. H. Krüger, H. Meisel

Förderung: DFG, Volkswagenstiftung, DAAD, Universitäre Forschungsförderung

Hantaviren gehören zu den durch die WHO als „emerging viruses“ eingestuften Viren. Sie verursachen Hämorrhagisches Fieber mit Renalem Syndrom (HFRS). Die Infektion des Menschen erfolgt im Sinne einer Zooanthroponose durch Übertragung von kleinen Nagetieren, die das Wirtsreservoir darstellen. Für die Entwicklung sowohl von Diagnostika als auch von Vakzinen ist die Kenntnis der Biodiversität der in Mitteleuropa in Nagetieren endemischen Viren eine unbedingt notwendige Voraussetzung.

Im Rahmen der von uns durchgeführten umfangreichen molekularepidemiologischen Studie zur Diversität und Phylogenie von Hantaviren konnten wir erstmalig homologe RNA-Rekombinationsereignisse in der Evolution von Hantaviren nachweisen. Die phylogenetische Analyse der genomischen S-Segmente von Tula-Virusstämmen, die in Kleinnagern der Slowakei endemisch sind, im Vergleich zu S-Segmenten von Stämmen aus Rußland ergab, daß die bisher charakterisierten Tula-Viren zwei getrennten genetischen Linien angehören. Tula-Virusstämme aus der Ostslowakei wurden dagegen je nach Bereich des untersuchten S-Segmentes (kodierende Region oder 3'-nichtkodierende Region) entweder den Tula-Linien I oder II zugeordnet. Der Vergleich der abgeleiteten Aminosäure-Substitutionen aller Tula-Stämme sowie der 3'-nichtkodierenden Region und die Ergebnisse einer als „bootscanning“ bezeichneten Analyse führten zur Identifizierung von mindestens zwei Rekombinationsorten in den S-Segmenten der ostslowakischen Tula-Stämme.

Das Screening der im Osten der Slowakei gefangenen Mäuse unterschiedlicher Spezies führte außerdem zur Identifizierung der Hantavirus-Serotypen Dobrava in der Brandmaus und Puumala in der Rötelmaus. Mit der molekulargenetischen Charakterisierung der S-Genom-Segmente dieser Virusstämme wurde begonnen. Erste Ergebnisse zeigten Unterschiede von bis zu 18 % auf Nukleotidebene zu den bisher bekannten Stämmen des jeweiligen Serotyps. Diese Untersuchungen sind von besonderer Bedeutung für die Weiterentwicklung von Diagnostika, die zur typspezifischen Unterscheidung von Infektionen geeignet sind.

Im Herbst wurde erstmals mit Nagetierfängen zur Identifizierung von in Ostdeutschland endemischen Hantaviren begonnen. Diese fanden in der Region Forst (Niederlausitz) statt. Aus dieser Region stammt der erste von uns in Deutschland nachgewiesene klinische HFRS-Fall, der auf eine Infektion mit dem Serotyp Dobrava zurückzuführen ist. Das serologische Screening der Fänge und nachfolgende RT-PCR-Analysen führten auch zur Identifizierung von mit Tula-Virus infizierten Feldmäusen. Dies ist der erstmalige Nachweis dieses Serotyps in Deutschland. Die ersten phylogenetischen



Analysen eines 455 nt großen S-Segment-Abschnittes ergaben eine nähere genetische Verwandtschaft zur Tula-Linie I, zu der auch die in Rußland identifizierten Tula-Stämme gehören.

Unter Stufe-3-Sicherheitsbedingungen wurde der Fokusreduktionsneutralisationstest etabliert, der erstmalig die Möglichkeit zur Typisierung antikörperpositiver Seren eröffnet. Alle von uns bisher untersuchten mitteleuropäischen Seren, die im ELISA mit Hantaan-Antigen reagieren, erwiesen sich in der Feinanalyse als durch Dobrava-Infektionen bedingt.

Wir gehen jetzt davon aus, daß in Mitteleuropa die Hantavirus-Typen Dobrava, Puumala und Tula koexistieren, wobei Dobrava mittelschwere und Puumala leichtere klinische Verläufe beim Menschen bedingen.

Kooperationen: G. Darai, Institut für Med. Virologie, Universität Heidelberg  
 H. Feldmann, Institut für Virologie, Universität Marburg  
 M. Labuda, Institut für Zoologie, Bratislava  
 Å. Lundkvist, Swedish Institute for Infectious Disease Control, Stockholm  
 A. Plyusnin, A. Vaheri, Dept. of Virology, University Helsinki

## ***E.2. Regulation des IL-10-Promotors in Monozyten***

Projektleiter: C. Platzer (Institut für Anatomie, FSU Jena), S. Prösch, H.-D. Volk (Institut für Med. Immunologie der Charité)

Förderung: DFG, Universitäre Forschungsförderung

In den letzten Jahren wurde zunehmend deutlich, daß das anti-inflammatorische Cytokin IL-10 eine zentrale Rolle für die Regulation der T-Zell-Immunität spielt. Im Gegensatz dazu gibt es nur wenig Daten zur transkriptionellen Regulation der IL-10-Expression bzw. der IL-10-Induktion. Vorangegangene Untersuchungen hatten gezeigt, daß cAMP bzw. cAMP-induzierende Substanzen die Synthese von IL-10 in Monozyten des peripheren Blutes erhöhen.

Mit dem Ziel der Aufklärung des molekularen Mechanismus der cAMP-abhängigen Stimulierung von IL-10 wurde der Einfluß von cAMP auf die Aktivität des IL-10-Promotors untersucht. Mittels Computeranalyse waren im Enhancer des IL-10-Promotors vier „cAMP-responsive elements“ (CREs) identifiziert worden, deren Funktion für die Vermittlung der cAMP-abhängigen Stimulierung des IL-10-Promotors verifiziert werden sollte. In DNA-Protein-Bindungsstudien konnte zunächst gezeigt werden, daß nur drei der potentiellen CREs die Transkriptionsfaktoren CREB-1/ATF-1 binden. Durch PCR-assoziierte *in vitro*-Mutagenese wurden im Berichtszeitraum Enhancer/Promotor-Mutanten hergestellt, die in je einem der CREs oder aber in zwei und drei CREs mutiert sind. Die eingeführten Nukleotidaustausche führten in jedem Fall

zu einem Verlust der CREB-1/ATF-1-Bindungsaktivität. In *in vitro*-Transfektions-experimenten wurde der Einfluß von cAMP auf die Aktivität des Wildtyp- und der Mutanten-Promotoren getestet. Es konnte erstmalig gezeigt werden, daß die CREs für die cAMP-abhängige Stimulierung des IL-10-Promotors entscheidend sind, die einzelnen CREs jedoch unterschiedlich stark in die Vermittlung der cAMP-abhängigen Stimulierung involviert sind.

### ***E.3. Struktur-Funktionsbeziehungen des Influenzavirus M2-Ionenkanals, eines Targetproteins der antiviralen Chemotherapie***

Projektleiter: C. Schroeder

Förderung: DFG, DAAD, Universitäre Forschungsförderung

Die Influenza (die „echte“ Virusgrippe) fordert jährlich mehrere 100.000, in Pandemie-jahren mehrere Millionen Opfer. Um das hochvariable Virus zu beherrschen, sind sowohl verbesserte Impfstoffe als auch ein Arsenal von Virostatica notwendig. Das M2-Protein des Influenzavirus, der erste identifizierte virale Ionenkanal und Target der weltweit zugelassenen Virostatica Rimantadin und Amantadin, ist essentiell für die Etablierung der Virusinfektion und für die Bildung infektiöser Nachkommenviren. Unsere Untersuchungen zur Aufklärung des molekularen Wirkungsmechanismus der Virostatica und der Struktur des viralen Ionenkanals vertiefen unser Verständnis seiner biologischen Funktion und schaffen zugleich die Voraussetzungen für „drug design“.

Im Jahre 1998 wurden folgende Ergebnisse erzielt:

1. Arbeiten zur Strukturuntersuchung. Nach Detergens-Optimierung und „Upscaling“ des Präparationsverfahrens wird M2 im 2-3 mg-Maßstab über FPLC präpariert, so daß ca. 10 mg pro Monat rein gewonnen werden können. Molekulargewichtsbestimmung und Bestimmung der Anzahl Monomere im Komplex erfolgten durch Sedimentationsanalyse, Gelchromatographie und native Elektrophoresen. Das gereinigte M2-Protein wurde auf den Gehalt an nichtkovalent gebundenen Lipiden untersucht.
2. Quantitative Messungen der Protonentranslokation. Bisher war die Messung semi-quantitativ. Jetzt wurden Anfangsgeschwindigkeiten direkt gemessen und erlauben die Berechnung von kinetischen und Hemmkonstanten (für die Virostatica Amantadin und Rimantadin und für andere Inhibitoren wie Polyamine).
3. Selektion und Charakterisierung polyaminresistenter Influenzavirusmutanten. Nach der Entdeckung, daß der Influenzavirus-Ionenkanal durch Polyamine gehemmt wird (Lin et al., 1997), wurden polyaminresistente Influenzaviren isoliert. Die Sequenzierung der M2-Gene dieser Mutanten ist noch nicht abgeschlossen.

Kooperationen: A. Herrmann, Institut für Biophysik der Humboldt-Universität  
M. Knossow, Laboratoire de Biologie Structurale, C.N.R.S.-Université Paris-Sud

#### ***E.4. Untersuchungen zur DNA-Erkennung und Sequenzspezifität der Restriktionsendonuklease EcoRII mit synthetischen Peptidscans***

Projektleiter: M. Reuter, D. H. Krüger

Förderung: DFG, Universitäre Forschungsförderung

Die spezifische Erkennung von DNA-Sequenzen setzt eine äußerst präzise Interaktion von Protein und DNA voraus, deren molekulare Mechanismen noch weitestgehend unbekannt sind. Mit unseren Arbeiten verfolgen wir das Ziel, durch einen neuartigen methodischen Ansatz funktionelle Regionen in der Restriktionsendonuklease *EcoRII* zu identifizieren, die die DNA-Erkennung vermitteln.

*EcoRII* gehört zu den Typ-II-E-Restriktionsendonukleasen, die zur DNA-Spaltung simultan mit zwei Kopien der DNA-Erkennungssequenz wechselwirken müssen – ein Merkmal, das an Proteine erinnert, die an DNA-Replikation, -Rekombination und Transkriptionskontrolle beteiligt sind. Das dimere Enzym überbrückt den Abstand zwischen zwei Orten sehr wahrscheinlich durch DNA-Looping, wobei die Spaltaktivität mit zunehmender Distanz deutlich abnimmt. Da bisher keine funktionellen Domänen von *EcoRII* bekannt sind, haben wir begonnen, mit der Peptid-Spotsynthese eine Struktur-Funktionsanalyse des Enzyms durchzuführen und die DNA-Erkennung auf Aminosäureebene zu untersuchen.

Das Screening synthetischer Peptidscans mit der kompletten *EcoRII*-Aminosäuresequenz in Form benachbarter überlappender Dodecapeptide führte zur Identifizierung von zwei separaten Peptiden (Region I: aa 88-102 und Region II: aa 256-273), die an der sequenzspezifischen DNA-Erkennung (5'CCWGG) des Enzyms beteiligt sind. Beide Regionen teilen das Konsensusmotif KXRXXK. Substitutionen der konservierten Lysine in jeweils einer oder beiden DNA-Bindungsregionen durch Alanin bzw. Glutaminsäure beeinflussten entweder signifikant die DNA-Bindung (Region I) oder/und die Katalyse (Region II). Wir konnten außerdem zeigen, daß Glu<sup>96</sup>, das Teil eines potentiellen katalytischen Motifs ist und in Bindungsregion I liegt, essentiell für die DNA-Bindung und -Spaltung ist. Homologiestudien der Bindungsregion II haben gezeigt, daß funktionell ähnliche DNA-Bindungsregionen in weiteren Restriktionsendonukleasen mit terminalen C:G- oder G:C-Basenpaaren in der Erkennungssequenz existieren könnten.

Kooperationen: J. Alves, Biophysikalische Chemie, Medizinische Hochschule Hannover  
 U. Heinemann, H. Delbrück, Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin, Berlin  
 A. Meisel, Klinik für Neurologie, Charité  
 J. Schneider-Mergener, Inst. für Immunologie der Charité  
 C. Urbanke, Biophysikalische Chemie, Medizinische Hochschule Hannover  
 E. G. Weinhold, MPI für Molekulare Physiologie, Abt. Physikalische Biochemie, Dortmund

### ***E.5. DNA-Substraterkennung durch Typ-III-Restriktionsendonukleasen***

Projektleiter: D. H. Krüger

Förderung: DFG, Universitäre Forschungsförderung

*EcoP15* ist ein Typ-III-Restriktionsenzym, es erkennt die Targetsequenz 5'-CAGCAG und schneidet diese 25-27 bp in 3'-Richtung entfernt innerhalb einer unspezifischen Nukleotidsequenz. Wir haben in den vorangegangenen Arbeiten gezeigt, daß für die endonukleolytische Aktivität von *EcoP15* die Präsenz von 2 invers zueinander im DNA-Molekül orientierten, unmethylierten Erkennungsorten notwendig ist, und die beiden Enzymkomplexe die DNA unter ATP-Hydrolyse translozieren, bis sie miteinander kollidieren und die DNA jeweils an der 3'-Seite der beiden Orte schneiden.

Das Studium der DNA-Wechselwirkungen von *EcoP15* hat nicht nur Bedeutung für das Verständnis der Reaktionsweise dieses DNA-Restriktions- und Modifikationssystems. Auch für eukaryote Zellen sind derartige Proteine und Proteinkomplexe mit 2 DNA-Bindungsstellen bekannt. Interessanterweise spielt hier die 5'-CAG-Nukleotidsequenz ebenfalls eine Rolle: Expansionen des Trinukleotidrepeats 5'-(CAG)<sub>n</sub> in kodierenden Genbereichen können verschiedene neurodegenerative Erkrankungen beim Menschen – so die Chorea Huntington – auslösen, das Trinukleotid in invertierter Doppelstrangorientierung ist auch in den heptameren Rekombinations-Signalsequenzen (RSS) enthalten, die zur V(D)J-Rekombination (Rearrangement von Antigenrezeptor-Genen) notwendig sind.

Im Jahr 1998 erfolgten durch uns Untersuchungen, die vor allem die funktionelle Interaktion zweier Erkennungsorte mit *EcoP15* in Abhängigkeit von deren Abstand zueinander im DNA-Molekül betrafen. Auf der Basis von Selektions- und Identifizierungsschritten mit Hilfe virulenter Bakterienviren haben wir außerdem ein experimentelles System aufgebaut, das das Auffinden einer einzelnen Zelle, die für ein DNA-Modifikations- und Restriktionssystem mit neuer Sequenzspezifität kodiert, unter mehr als 10<sup>6</sup> Zellen erlaubt, die die ursprüngliche DNA-Sequenzspezifität besitzen. Dies ermöglicht zukünftige Untersuchungen zur Veränderung der Sequenzspezifität der Restriktionsendonuklease durch intrazelluläre Mutagenese, was im Zusammenhang mit dem Problemkomplex der „evolutiven Biotechnologie“ von großem Interesse sein dürfte.

Kooperationen: T. A. Bickle, Biozentrum der Universität Basel  
 W. Messer, Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik Berlin  
 S. Müller, Institut für Chemie der Humboldt-Universität Berlin  
 K. Schweiger, E. Wanker, Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik Berlin

## ***E.6. Rolle der Sequenzheterogenität des Hepatitis-B-Virus in der Pathogenese chronischer Hepatitiden unter Immunsuppression***

Projektleiter: H. Meisel

Förderung: BMBF, Universitäre Forschungsförderung

Die Langzeitstudien über die Veränderungen der HBV-Viruspopulationen im Organismus von nierentransplantierten Patienten in Korrelation zum klinischen Verlauf wurden fortgesetzt. 1998 lag das Hauptinteresse in der Bestimmung der Sequenzheterogenität von Viruspopulationen aus Patienten mit mildem Verlauf der Lebererkrankung. Deutlich wurde, daß die in verschiedenen Genombereichen auftretenden Mutationen in den Patienten mit milder oder progressiver Lebererkrankung zunächst sehr ähnlich oder gleich sind. So konnte gezeigt werden, daß das Auftreten und die Akkumulation von HBV-Genomvarianten mit bestimmten Mutationen im Core-Promotor-Bereich ein übliches Ereignis im Verlauf der Langzeitimmunsuppression ist. Die unterschiedliche Pathogenität der Viruspopulationen in den beiden Patientengruppen scheint durch die Akkumulation von Genomen mit definierten Kombinationen der verschiedenen Mutationen bestimmt zu werden. So zeigte die Akkumulation von HBV-Genomen mit gleichzeitig vorliegenden Core-Promotor-Mutationen und C-Gen-Deletionen eine statistisch signifikante Assoziation mit dem fatalen Ausgang der Leberzirrhose.

Zur Aufklärung eines möglichen pathogenetischen Potentials von deletierten HBV-Core-Proteinen wurden *E. coli*-Expressionsstudien und *in vitro*-PCR-Mutagenesen durchgeführt, um den Einfluß von bestimmten Aminosäure-Austauschen auf die Faltung und den Zusammenbau des Core-Proteins zu untersuchen. Die zu guter Partikelbildung fähige Core-Deletions-Variante von 8 Aminosäuren Länge (AS 86-93) wurde in *E. coli* in großen Mengen exprimiert und gereinigt. Das Zusammenwirken von Wildtyp-Core und deletiertem Core bei der Partikelformation wurde in Koexpressionsexperimenten untersucht. Hierzu wurde die Core-Variante mit einer Deletion von 17 Aminosäuren eingesetzt, die die Hauptdeletionsvariante in einem Patienten mit fatalem Ausgang der Leberzirrhose darstellte und nur in unlöslicher Form exprimiert werden konnte. Lediglich die C-terminal verkürzte Variante des Proteins konnte löslich exprimiert werden und eine begrenzte Partikelbildungsfähigkeit wurde gezeigt. Beide Proteinvarianten wurden in *E. coli* mit dem Wildtyp ko-exprimiert, was gleichzeitig zur Synthese des langen deletierten Proteins in löslicher Form führte. Mit elektronenmikroskopischen Aufnahmen konnte die Partikelbildung bewiesen werden. Immunpräzipitationsexperimente zeigten das Vorliegen von Hybridpartikeln, bestehend aus Wildtyp und Variante. Dieses Ergebnis weist auf Pathogenesemechanismen hin, die bei der Koinfektion der Leberzelle mit Wildtyp und Virusvarianten eine Rolle spielen könnten.

Kooperationen: T. Crowther, MRC Laboratory of Molecular Biology, University of Cambridge, UK  
 H. R. Gelderblom, Robert-Koch-Institut, Berlin  
 U. Hopf, Abt. Hämatologie/Onkologie, Charité Campus Virchow-Klinikum  
 P. Neuhaus, Chirurgische Klinik, Charité Campus Virchow-Klinikum  
 H. H. Neumayer, Klinik für Innere Medizin (Nephrologie), Charité  
 P. Pumpens, Universität Lettlands, Riga  
 H. Will, S. Günter, Allgemeine Virologie, Heinrich-Pette-Institut Hamburg

### ***E.7. Einfluß von SP-A auf die HCMV-Infektion der Lunge und die Entstehung der Bronchopulmonalen Dysplasie***

Projektleiter: S. Prösch, P. A. Stevens (Abt. Neonatologie der Charité), D. H. Krüger

Förderung: BMBF, Universitäre Forschungsförderung

Etwa 20-40 % der untergewichtigen Frühgeborenen entwickeln eine Bronchopulmonale Dysplasie (BPD). Infektionen mit dem humanen Cytomegalievirus, die in dieser Patientengruppe sehr häufig sind, werden als ein möglicher Ko-Faktor für die Entwicklung der BPD betrachtet. Im Rahmen des Projektes soll zum einen die Rolle des Surfactant-Proteins A für die Eliminierung bzw. Etablierung einer HCMV-Infektion aufgeklärt werden und zum anderen untersucht werden, welchen Einfluß die Virusinfektion auf die Synthese von SP-A hat.

Im vergangenen Jahr konnte der erste Projektteil zu Untersuchungen zum Einfluß von SP-A auf die HCMV-Infektion abgeschlossen und das Anschlußprojekt erfolgreich verteidigt werden. Die durchgeführten Untersuchungen haben gezeigt, daß SP-A durch Bindung an Oberflächenproteine des HCMV dessen Aufnahme in Pneumozyten und alveoläre Gewebsmakrophagen unterstützt. Dieser Effekt war besonders deutlich in Pneumozyten, deren Infektion entscheidend für die Pathogenese der HCMV-Infektion der Lunge ist. Im Unterschied zu vielen anderen Viren konnte kein Einfluß von SP-A auf die Aufnahme von CMV in alveoläre Makrophagen aus der Lungenlavage nachgewiesen werden. Damit scheint SP-A nicht an der Eliminierung einer CMV-Infektion beteiligt zu sein, wohl aber an der Pathogenese der Infektion. Eine derartige Wirkung wurde bisher nur für *M. tuberculosis* und *P. carinii* nachgewiesen.

Im Rahmen des Anschlußprojektes wurde mit Untersuchungen zum Einfluß von HCMV auf die SP-A-Synthese in Pneumozyten begonnen.

Kooperationen: C. Bruggeman, Institut für Med. Mikrobiologie, Maastricht, Niederlande  
 R. Sabat, H. D. Volk, Institut für Med. Immunologie, Charité Berlin  
 H. Wissel, Abt. Neonatologie, Charité Berlin

## ***E.8. Restriktionsendonukleasen und Genomanalyse***

Projektleiter: M. Reuter, D. H. Krüger

Förderung: BMBF, Universitäre Forschungsförderung

Genomanalysen setzen eine reproduzierbare, komplette und spezifische DNA-Fragmentierung mittels Restriktionsendonukleasen voraus. Probleme und damit auch Fehlinterpretationen von Spaltpatternen können dadurch entstehen, daß einige dieser Enzyme die vorhandenen spezifischen unmethylierten Erkennungsorte nicht schneiden, weil die Orte einzeln oder nur in sehr großem Abstand in einem DNA-Molekül vorkommen. Die von uns entdeckte Möglichkeit, solche Restriktionsendonukleasen durch Zugabe von Aktivator-DNA (z. B. spezifisch erkennbare Oligonukleotid-duplexe) zu aktivieren, ist ein Beitrag zur methodischen Optimierung der Restriktionsanalyse sowie der Bestimmung von Methylierungsmustern von Genomen durch komparative DNA-Spaltung mittels isoschizomerer Restriktionsendonukleasen.

Unsere gegenwärtigen Untersuchungen zum Reaktionsmechanismus von *EcoRII* und zur Lokalisierung potentieller funktioneller Domänen sind Voraussetzung für einen ersten methodischen Ansatz auf dem Weg zur Herstellung matrix-immobilisierter Oligonukleotidduplexe zur Aktivierung von Restriktionsendonukleasen. Die Aktivator-Moleküle, die durch eine chemische Modifikation von dem jeweiligen Enzym zwar erkannt, aber nicht hydrolysiert werden, können so einfach durch Zentrifugation aus dem Reaktionsansatz entfernt und wiederverwendet werden.

Bei der Analyse des Methylierungsmusters ausgewählter Gene des Lymphocystis Disease Virus durch genomisches Sequenzieren konnten wir mit unabhängigen Methoden die 100%ige Cytosin-Methylierung innerhalb des Dinukleotids CpG bestätigen, erhielten allerdings widersprüchliche Ergebnisse hinsichtlich des Vorkommens von 5-Methylcytosin in anderen Dinukleotiden. Die ersten überraschenden Ergebnisse von durchschnittlich 30 % Methylierung außerhalb des CpG-Dinukleotids konnten wir bisher weder mit einem zweiten Primerpaar im Promoterbereich des Gens für die DNA-abhängige RNA-Polymerase, noch an einem unabhängigen Genomabschnitt bestätigen. Offensichtlich muß die PCR-Reaktion an Natriumbisulfid-behandelter DNA als besonders kritisch betrachtet werden.

Kooperationen: G. Darai, Inst. f. Medizinische Virologie, Universität Heidelberg  
A. Meisel, Klinik für Neurologie, Charité  
L-E. Peters, InViTek Gesellschaft für Biotechnik und Biodesign mbH, Berlin-Buch

### ***E.9. Virusähnliche Partikel als Träger von Fremdepitopen in der Impfstoffentwicklung***

Projektleiter: R. Ulrich, D. H. Krüger

Förderung: EU, Fonds der Chemischen Industrie (Doktorandenstipendium), Max-Buchner-Stiftung (Doktorandenstipendium), Universitäre Forschungsförderung, BMBF (wiss.-techn. Zusammenarbeit)

Virus-ähnliche Partikel (VLPs) können eine starke antivirale Immunantwort induzieren. Durch gentechnische Kopplung von Protein-Segmenten (Schaffung „chimärer“ VLPs) kann die Immunogenität der ersteren erhöht werden. Damit können chimäre VLPs die Basis für ein neues Impfstoffdesign bilden. Polyomavirus-abgeleitete VLPs sind außerdem interessante Träger für den Gentransfer. Im Berichtsjahr werden 2 VLP-Träger (Protein des Hepatitis-B-Virus und Hauptkapsidprotein VP1 des Hamsterpolyomavirus) charakterisiert.

**Untersuchungen zur Verpackungskapazität des Hepatitis-B-Virus-Core für Fremdsequenzen an verschiedenen Positionen des Core:** Zur vergleichenden Untersuchung verschiedener Insertionsorte im Coreantigen vom Hepatitis-B-Virus (HBcAg) sind Expressionsvektoren hergestellt worden, die die Insertion von Fremdsequenzen am N-Terminus, in der zentralen immundominanten sogenannten c/e1-Region und hinter Aminosäureposition 144 erlauben. Außerdem wurde ein Vektor konstruiert, der die Suppressor-vermittelte Ko-Expression von HBcAg und HBcAg-Fremdsequenz-readthrough-Protein ermöglicht. Mit Hilfe der genannten Vektoren konnte gezeigt werden, daß die c/e1-Region die Insertion eines 120 Aminosäuren langen N-terminalen Abschnitts des Hantavirus-Nukleokapsidproteins ohne Einfluß auf die Partikelbildungsfähigkeit toleriert. Mit Hilfe von ELISA und Immunelektronenmikroskopie konnte die Oberflächenzugänglichkeit der inserierten Hantavirus-Region belegt werden.

**Bildung von HaPV-VP1-Partikeln in Hefezellen:** Die authentische und eine N-terminal verlängerte VP1-Sequenz des Hamsterpolyomavirus wurde in der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* in großen Mengen synthetisiert. Die Reinigung im Cäsiumchloridgradienten zeigte einen VP1-Peak bei einer für Polyomavirus-Partikel typischen Dichte. Mit Hilfe der Elektronenmikroskopie konnten in den entsprechenden Fraktionen Virus-ähnliche Partikel nachgewiesen werden. Interessanterweise wurden nur im Falle des N-terminal-verlängerten VP1 Partikel im Zellkern der Hefezellen nachgewiesen („Kern-Targeting“).



Kooperationen: C. Frömmel, Institut für Biochemie, Charité  
H. R. Gelderblom, S. Biel, M. Özel, M. Niedrig, Robert-Koch-  
Institut, Berlin  
Å. Lundkvist, Swedish Institute for Infectious Disease Control and  
Department of Virology, Karolinska Institute, Stockholm  
P. Pumpens, G. Borisova, T. Voronkova, Biomedical Research and  
Study Centre, Riga  
K. Sasnauskas, A. Gedvilaite, Institute of Biotechnology, Vilnius  
S. Scherneck, F. Vogel, B. Jandrig, W. Arnold, Max-Delbrück-  
Centrum für Molekulare Medizin, Berlin

## F. Medizinische Versorgung

Mit 212.340 virusdiagnostischen Leistungen 1998 im Vergleich zu 178.000 im Jahr 1997 erfolgte wiederum eine Steigerung der Laboruntersuchungen. Dies steht vor allem im Zusammenhang mit der schrittweisen Übernahme der Virusdiagnostik für den Charité-Campus Virchow-Klinikum. Anforderungen von 21.428 molekulardiagnostischen Untersuchungen betrafen insbesondere PCRs zum quantitativen Nachweis von HCV-, HBV- und HIV-Genomen sowie die Bestimmung von Resistenzen gegenüber therapeutisch eingesetzten Hemmstoffen (Sequenzanalysen der Polymerasen) bzw. im Fall von HIV Resistenzen gegen Reverse Transkriptase-Inhibitoren mittels Westernblots. So wurden bei ca. 70 % der eingesandten HIV-Proben mit Verdacht auf Medikamentenresistenz gegen die Transkriptase-Inhibitoren AZT, ddC und 3TC eine oder mehrere Resistenzen gefunden. Außerdem wurden die Voraussetzungen zur phänotypischen Resistenzbestimmung durch die Kokultivierung von peripheren Zellen von HIV-Patienten und Nabelschnurlymphozyten geschaffen und mit der genotypischen Resistenzbestimmung über die direkte Sequenzierung von Amplifikaten zur Ermittlung der Virusresistenzen gegen Protease-Inhibitoren bzw. nicht-nukleosidische RT-Inhibitoren begonnen.

Jeweils mehr als 8.000 Einsendungen betrafen die Bestätigung reaktiver HIV1/2- sowie HCV-ELISA-Proben mittels Western-Blot und/oder PCR. Der überwiegende Teil der eingesandten „indeterminate“ Blutspenderproben erwies sich sowohl in den von uns verwendeten ELISAs als auch im WB/PCR als negativ.

Ein Schwerpunkt unserer Arbeiten bestand im Ausbau der Virusanzucht, insbesondere von Herpes-, Adeno-, Entero- und Influenzaviren sowie von Methoden zu ihrer Typisierung. Allen Kooperationspartnern, die uns hierbei in Form von Hospitationen, der Bereitstellung von Zellen oder Virusstämmen unterstützt haben (Prof. Schreier und Dr. Timm, Robert-Koch-Institut Berlin; Laborgemeinschaft Dr. Stettinisch in Potsdam; Dr. Adrian, Med. Hochschule Hannover) möchten wir auf diesem Weg sehr herzlich danken.

Unsere Aufmerksamkeit galt 1998 wiederum auch Untersuchungen zur Etablierung verbesserter molekulardiagnostischer und serologischer Nachweisverfahren. So führten wir mehrere klinische Evaluierungen von neuen ELISAs zum Nachweis von HBsAg, CMV-IgM, anti-HIV, anti-HCV wie auch von Immunfluoreszenztests (z. B. HHV-8) und in Zusammenarbeit mit Dr. Zens (DADE-Behring) eine große Studie zur Wertigkeit der Aviditätsbestimmung von anti-EBV-IgG-Antikörpern durch. Die ersten Ergebnisse der klinischen Evaluierung der Methode zum Nachweis von CMV pp67 mRNA (NucliSens®, CMV pp67) lassen vermuten, daß zumindest bei Knochenmarktransplantierten mit der mRNA-Bestimmung im Vergleich zur pp65-Antigen- und CMV-DNA-Bestimmung bessere Aussagen zur Prognose einer klinischen Erkrankung und zur Wirksamkeit antiviraler Therapien möglich sind.  
Einige interessante Fälle 1998:

- Im Rahmen eines Ausbruchs einer Parvovirus-B19-Infektion mit sechs nachweislich Infizierten (4 Kinder, 2 Erwachsene) trat bei einem Kind das Handschuh- und Sockensyndrom (PPGSS) als seltene Manifestation der Parvo-B19-Infektion auf. Dieses Kind hatte kurz vor oder in der Inkubationszeit eine Masern-Mumps-Röteln-Impfung erhalten. Die anderen Infizierten zeigten entweder keine (2/6) oder typische klinische Symptome [Exanthem (2/6), Polyarthropathie (1/6)].
- Nach Auftreten einer Windpockeninfektion auf einer Kinderstation erkrankte eine junge immunkompetente Ärztin an Varizellen (anti VZV IgM-, VZV PCR-positiv verbunden mit einem starken Anstieg von anti VZV IgG), die bereits Jahre zuvor Windpocken durchgemacht hatte und anti VZV IgG positiv war.
- Akute HEV-Infektion bei zwei Deutschen mit prolongiertem Verlauf, der bei einem Fall auch durch eine starke anti-HEV IgM Antwort über 8 Monate begleitet war. Beide Patienten hatten keine Reiseanamnese und mußten so ihre Infektion in Deutschland erworben haben.

## G. Publikationen 1998

### G.1. Original- und Übersichtsarbeiten

**Günther S, Paulij W, Meisel H, Will H:**

Analysis of hepatitis B virus populations in an Interferon- $\alpha$ -treated patient reveals predominant mutations in the C-gene and changing e-antigenicity.

Virology 244 (1998) 146-160

**Hassen Siray, Özel M, Jandrig B, Voronkova T, Jia W, Zocher R, Arnold W, Scherneck S, Krüger DH, Ulrich R:**

Capsid-protein encoding genes of hamster polyomavirus and properties of the viral capsid.

Virus Genes 18 (1998) 39-47

**Koletzki D, Biel SS, Meisel H, Nugel E, Gelderblom HR, Krüger DH, Ulrich R:**

HBV core particles allow the insertion and surface exposure of the entire potentially protective region of Puumala hantavirus nucleocapsid protein.

Biol. Chem. 380 (1999), in press

**Kunz A, Mackeldanz P, Mücke M, Meisel A, Reuter M, Schroeder C, Krüger DH:**

Mutual activation of two restriction endonucleases: Interaction of *EcoP1* and *EcoP15*.

Biol. Chem. 379 (1998) 617-620

**Kunz A, Meisel A, Mackeldanz P, Reuter M, Krüger DH:**

An experimental selection system to identify bacterial cells exhibiting a new DNA host specificity.

Biol. Chem. 379 (1998) 563-566

**Lachmann S, Meisel H, Muselmann C, Koletzki, D, Gelderblom HR, Borisova G, Krüger DH, Pumpens P, Ulrich R:**

Characterization of potential insertion sites in the core antigen of hepatitis B virus by the use of a short-sized model epitope.

Intervirology, in press

**Lechner S, Rispeter K, Meisel H, Kraas W, Jung G, Roggendorf M, Zibert A:**  
Antibodies directed to envelope proteins of hepatitis C virus outside of hypervariable region 1.  
Virology 243 (1998) 313-321

**Meisel H, Lundkvist A, Gantzer K, Bär W, Sibold C, Krüger DH:**  
First clinical case of infection by hantavirus Dobrava in Germany.  
Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 17 (1998) 884-885

**Meisel H, Preikschat P, Reinke P, Hoher B, Budde C, Bechstein WO, Neuhaus P, Krüger DH, Neumayer HH:**  
Disappearance of hepatitis B virus core deletion mutants and successful combined kidney/liver transplantation in a patient treated with lamivudine.  
Transplant. Int. 12 (1999), in press

**Meisel H, Reip A, Krüger DH, Budde K, Fritsche L, Neumayer HH:**  
Long-term investigation of hepatitis G virus infection in renal transplant recipients with and without hepatitis B and hepatitis C co-infection.  
Transplant. Proc. 31 (1999), in press

**Prösch S, Schielke E, Reip A, Meisel H, Volk HD, Einhäupl KM, Krüger DH:**  
Human cytomegalovirus encephalitis in an immunocompetent young person and diagnostic reliability of HCMV-DNA PCR in cerebrospinal fluid of non-immunosuppressed patients.  
J. Clin. Microbiol. 36 (1998) 3636-3640

**Reuter M, Kupper D, Meisel A, Schroeder C, Krüger DH:**  
Cooperative binding properties of restriction endonuclease *EcoRII* with DNA recognition sites.  
J. Biol. Chem. 273 (1998) 8294-8300

**Reuter M, Schneider-Mergener J, Kupper D, Meisel A, Mackeldanz P, Krüger DH, Schroeder C:**  
Regions of endonuclease *EcoRII* involved in DNA target recognition identified by membrane-bound peptide repertoires.  
J. Biol. Chem. 274 (1999) 5213-5221

**Sasnauskas K, Buzaitė O, Vogel F, Jandrig B, Razankas R, Staniulis J, Scherneck S, Krüger DH, Ulrich R:**

Yeast cells allow high-level expression and assembly of polyomavirus-like particles.  
Biol. Chem. 380 (1999), in press

**Sibold C, Meisel H, Krüger DH, Labuda M, Lysy J, Kozuch O, Pejcoch M, Vaheří A, Plyusnin A:**

Recombination in Tula hantavirus evolution: Analysis of genetic lineages from Slovakia.

J. Virol. 73 (1999) 667-675

**Ulrich R, Koletzki D, Lachmann S, Lundkvist A, Zankl A, Kazaks A, Kurth A, Gelderblom HR, Borisova G, Meisel H, Krüger DH:**

New chimaeric hepatitis B virus core particles carrying hantavirus (serotype Puumala) epitopes: Immunogenicity and protection against virus challenge.

J. Biotechnol., in press

**Ulrich R, Lundkvist A, Meisel H, Koletzki D, Brus Sjölander K, Gelderblom HR, Borisova G, Schnitzler P, Darai G, Krüger DH:**

Chimaeric HBV core particles carrying a defined segment of Puumala hantavirus nucleocapsid protein evoke protective immunity in an animal model.

Vaccine 16 (1998) 272-280

**Ulrich R, Nassal M, Meisel H, Krüger DH:**

Core particles of hepatitis B virus as carrier for foreign epitopes.

Adv. Virus Res. 50 (1998) 141-182

## ***G.2. Buchbeiträge und Editionen***

### **Krüger DH, Reuter M:**

Host-controlled modification and restriction.

In: Encyclopedia of Virology, 2nd Edition (Webster RG, Granoff A, eds.). Academic Press, London-New York, in press

### **Krüger DH, Ulrich R, Gerlich HW (eds.):**

“Virus-like Particles as Vaccines and Gene Carriers”.

Thematic Issue of Biological Chemistry, Walter de Gruyter, Berlin, in press

### **Prösch S, Volk HD, Reinke P, Pioch K, Döcke WD, Krüger DH:**

Human cytomegalovirus infection in transplant recipients: Role of TNF- $\alpha$  for reactivation and replication of Human Cytomegalovirus.

In: CMV-Related Immunopathology. (Monographs in Virology, Doerr HW ed, Vol. 21). Karger, Basel, 1998, pp 29-41

### **Schroeder C, Heider H:**

Virostatica.

In: Antibiotika im Alter. (Kaufhold HW & Mertgen P, eds.) Pharmacia & Upjohn Media Bibliothek, Edition Materia Medica, im Druck

### ***G.3. Miscellaneous***

**Darai G, Krüger DH:**

Hantaviren.

In: Leitlinien der Gesellschaft für Virologie zur Virusdiagnostik, im Druck

**Fleckenstein B, Habermehl O, Jahn G, Jilg W, Korn K, Krüger D, Laufs R, Maass G, Mertens T, Neumann-Haefelin D, Schoerner C, Zeichhardt H:**

Checkliste Mikrobiologie und Hygiene: Virologie.

In: Arbeitsgemeinschaft Medizinische Laboratoriumsdiagnostik und Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Medizinprodukten (Hrg.), Handbuch für die Akkreditierung medizinischer Laboratorien. Bernd-Michael Paschke Verlag, Berlin, 1998, Kapitel 10.6

**Krüger DH:**

1. Hantaviren: Neu entdeckte Typen in Amerika - Situation in Europa.

2. Infektion durch Hantavirus Dobrava erstmalig in Deutschland beobachtet.

Epidemiol. Bulletin des Robert Koch Institutes, Nr. 7/98

**Krüger DH, Schroeder C:**

Fachwortschatz Virologie.

In: Langenscheidts Fachwörterbuch Biologie Deutsch-Englisch (Eichhorn M, ed). Langenscheidt, Berlin München Wien Zürich New York, 1999

**Ulrich R, Krüger DH, Koletzki D, Lachmann S, Meisel H, Hassen Siray:**

Neue Strategien der Impfstoffentwicklung: Gentechnische Herstellung von Virus-ähnlichen Partikeln.

Humboldt-Spektrum 3/1998, S. 4-10



## **H. Vorträge, Poster, Abstractpublikationen 1998**

### *H.1. Fachtagungen und Gasteinladungen*

**Brandt E, Prösch S, Kolls J, Volk HD, Riller T:**

Stimulatory and inhibitory action of cytokines on the regulation of the HCMV promoter activity in human cell lines.

Abstr. 9<sup>th</sup> European Students Conference of the Charité, Oct. 1998, Im33

**Briedigkeit L, Meisel H:**

Endobronchiale virale Diagnostik - Was ist sinnvoll? Welche Perspektiven gibt es?

8. Charité-Fiberbronchoskopie-Kurs „Aktuelle und zukünftige Bronchologie“, Berlin, Nov. 1998

**Fritsch E, Müller U, Platzer C, Volk HD, Prösch S:**

Regulation of Interleukin-10 gene expression by cAMP.

Abstr. 9<sup>th</sup> European Students Conference of the Charité, Oct. 1998, Im07

**Hassen Siray, von Eichhain M, Özel M, Voronkova T, Zocher R, Jandrig B, Arnold W, Schmidt MFG, Scherneck S, Krüger DH, Ulrich R:**

The major capsid protein of the hamster polyomavirus expressed in insect cells forms virus-like particles.

Abstr. Jahrestagung Gesellschaft für Virologie, Regensburg, März 1998, 1 P9

**Koletzki D, Lachmann S, Lundkvist Å, Gelderblom HR, Borisova G, Pumpens P, Krüger DH, Meisel H, Ulrich R:**

HBV core particles as carrier for foreign epitopes: Evaluation of potential insertion sites.

Abstr. 2nd International Workshop “Chimeric virus-like particles as vaccines”, Berlin, April 1998, p. 12

**Koletzki D, Lachmann S, Zankl A, Meisel H, Lundkvist Å, Brus Sjölander K, Gelderblom HR, Pumpens P, Krüger DH, Ulrich R:**

HBV mosaic particles carrying an extended segment of hantavirus nucleocapsid protein.

Abstr. Fourth International Conference on HFRS and Hantaviruses, Atlanta, GA, USA, March 1998, p. 91

**Kostka A, Schmalcz A, Neuhaus P, Hopf U, Krüger DH, Meisel H:**

Characterization of HBV variants by full length amplification before and after liver transplantation.

5. Workshop "Methodische Entwicklungen in der mikrobiologischen Nukleinsäure-Diagnostik", Berlin, April 1998

**Krüger DH:**

Virus-Reaktivierungen bei organtransplantierten Patienten: Molekulare Grundlagen und klinische Relevanz.

Wiss. Vortragsveranstaltung der Medizinischen Fakultät der Ruprecht-Karls-Universität, Heidelberg, März 1998

**Krüger DH:**

Hantaviren.

Ringvorlesung "Infektionsmedizin" der Universität Leipzig, Juni 1998

**Krüger DH:**

Virale Infektionen.

Vorlesung Gentechnik, Freie Universität Berlin, Sept. 1998

**Krüger DH, Sibold C, Labuda M, Lundkvist Å, Cifire F, Ulrich R, Meisel H:**

Occurrence of Dobrava, Puumala and Tula viruses in a Central European area: Analysis of clinical cases and risk groups.

Abstr. Fourth International Conference on HFRS and Hantaviruses, Atlanta, GA, USA, March 1998, p. 67

**Meisel H:**

Hepatitis B-Virusvarianten und ihre Rolle in der Pathogenese der Hepatitis B-Infektion bei Nierentransplantierten.

Symposium „1000. Nierentransplantation in Halle“, Universität Halle-Wittenberg, März 1998

**Meisel H:**

Neue Trends in der Hepatitisdiagnostik.

Ärztliche Fortbildungsveranstaltung „DADE Behring“, Halle, April 1998

**Meisel H:**

Zytomegalievirusinfektion in der Schwangerschaft.

Ärztliche Fortbildungsveranstaltung „Virusinfektionen in der Schwangerschaft“  
Schwerin, Juni 1998

**Meisel H:**

„Rätselfall“

29. Berliner Lebertag, „Kontroversen in der nicht-invasiven Diagnostik von Leberkrankheiten“.

Gesellschaft f. Gastroenterologie und Hepatologie Berlin-Brandenburg, Berlin, Juni 1998

**Meisel H:**

Einfluß der antiviralen Therapie auf HBV-Wildtyp und HBV-Varianten bei langzeitimmunsupprimierten Patienten.

„Gastroenterologie 98“, 53. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten, Kiel, September 1998

**Meisel H:**

In Deutschland erworbene Hepatitis E-Fälle.

Klinikkonferenz der Gesellschaft für Gastroenterologie und Hepatologie in Berlin und Brandenburg, Berlin, Okt. 1998

**Meisel H:**

Virusinfektion und Schwangerschaft.

XI. Deutsches IVF-Laborleitertreffen, Berlin, November 1998

**Meisel H, Lundkvist Å, Gantzer K, Bär W, Sibold C, Krüger DH:**

First identified HFRS case in Germany caused by Dobrava virus infection.

Abstr. Fourth International Conference on HFRS and Hantaviruses, Atlanta, GA, USA, March 1998, p. 148

**Meisel H, Reip A, Krüger DH, Budde K, Fritsche L, Neumayer HH:**

Longterm investigation of hepatitis G virus (HGV) infection in renal transplant recipients with and without hepatitis B and C co-infection.

Abstr. XVII. World Congress of The Transplantation Society, Montreal, Juli 1998, p 1689

**Preikschat P, Borschukova O, Borisova G, Dislers A, Pumpens P, Krüger DH, Meisel H:**

Expression and particle formation competence of HBV C-gene deletion variants occurring in infected liver cells.

Abstr. 2nd International Workshop "Chimeric virus-like particles as vaccines", Berlin, April 1998, p. 10

**Preikschat P, Borshukova O, Dishlers A, Pumpens P, Krüger DH, Meisel H:**

Bacterial expression modelling of the folding competence and particle formation of HBV C gene deletion variants occurring in infected liver cells.

Abstr. Jahrestagung Gesellschaft für Virologie, Regensburg, März 1998, p. 1 P57

**Preikschat P, Borshukova O, Dishlers A, Pumpens P, Krüger DH, Meisel H:**

Expression and assembly competence of HBV variants with C-gene deletions isolated from infected liver cells.

Abstr. Internat. Meeting "Molecular Biology of Hepatitis B Viruses", San Diego, Aug. 1998, p. 162

**Preikschat P, Koletzki D, Ulrich R, Krüger DH, Meisel H:**

Generation of a new HBV core expression plasmid by PCR-mediated amplification of a core gene deletion mutant.

5. Workshop "Methodische Entwicklungen in der mikrobiologischen Nukleinsäure-Diagnostik", Berlin, April 1998

**Reip A, Kersten S, Meisel H:**

First clinical experience with NucliSens CMV pp67.

Workshop „Clinical Experiences with NucliSens® CMV pp67“, Hamburg, Aug. 1998

**Sasnauskas K, Buzaitė O, Vogel F, Jandrig B, Razanskas R, Staniulis J, Scherneck S, Krüger DH, Ulrich R:**

Yeast cells allow high-level expression and formation of polyomavirus-like particles.

Abstr. 2nd International Workshop "Chimeric virus-like particles as vaccines", Berlin, April 1998, p. 32

**Sibold C:**

Homologe Rekombination in der Tula Hantavirus Evolution: Phylogenetische Analyse von Hantavirus-Stämmen in *Microtus arvalis*-Populationen der Slowakei.

Gastseminar an der Universität Hohenheim, Institut für Parasitologie, Sept. 1998

**Sibold C, Meisel H, Krüger DH, Labuda M, Kozuch O, Lysy J, Pejcock M, Vaheri A, Plyusnin A:**

Genetic diversity in Tula virus: Distinct phylogenetic clustering of strains and demonstration of putative recombinational events in the genomic S segment.

Abstr. Fourth International Conference on HFRS and Hantaviruses, Atlanta, GA, USA, March 1998, p. 79

**Ulrich R:**

Virus-ähnliche Partikel als Basis für rekombinante Impfstoffe.

Virologisches Seminar am Institut für Virologie der Philipps-Universität Marburg, Okt. 1998

**Ulrich R, Lundkvist Å, Koletzki D, Meisel H, Brus Sjölander K, Gelderblom HR, Darai G, Borisova G, Krüger DH:**

Immunogenicity of chimeric HBV core particles carrying hantavirus nucleocapsid protein sequences.

Abstr. Fourth International Conference on HFRS and Hantaviruses, Atlanta, GA, USA, March 1998, p. 103

**Ulrich R, Lundkvist Å, Koletzki D, Zankl A, Lachmann S, Brus Sjölander K, Gelderblom HR, Darai G, Borisova G, Meisel H, Krüger DH:**

Chimeric and mosaic HBV core particles: Steps towards a hantavirus vaccine.

Abstr. 2nd International Workshop "Chimeric virus-like particles as vaccines", Berlin, April 1998, p. 13

**Vaheri A, Asikainen K, Kukkonen SKJ, Nemirov K, Sibold C, Vapalahti O, Lundkvist Å, Krüger DH, Henttonen H, Plyusnin A:**

Hantaviruses: Genetic variation and origin.

Abstr. 50. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie, Berlin, Okt. 1998, S. 7

**Voronkova T, Hassen Siray, Kazaks A:**

Generation and use of an *E. coli* expression library for mapping of epitopes in the hamster polyomavirus major capsid protein.

Abstr. 9<sup>th</sup> European Students Conference of the Charité, Oct. 1998, V07

**Weyer C, Sabat R, Stevens PA, Krüger DH, Prösch S:**

SP-A-dependent increase of CMV entry into alveolar macrophages and pneumocytes.  
15<sup>th</sup> International Marburg Symposium “Surfactant and alveolar biology”, Marburg,  
Sept. 1998

**Weyer C, Sabat R, Stevens PA, Krüger DH, Prösch S:**

Einfluß von Surfactant Protein A auf HCMV-Infektionen der Lunge.  
Abstr. 50. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie, Berlin,  
Okt. 1998, S. 204

**Weyer C, Stevens PA, Krüger DH, Prösch S:**

Role of surfactant prokin A (SP-A) in CMV infection of the lung.  
Abstr. 23<sup>rd</sup> International Herpesvirus Workshop, York, Aug. 1998, p. 232

***H.2. Öffentlichkeitsarbeit***

**Krüger DH:**

Zur Bedeutung der Hepatitis B und zum Nutzen der Schutzimpfung.  
Interview SAT 1, Sept. 1998

**Krüger DH:**

Kampf gegen die Viren.  
Interview Berliner Kurier, 22. Oktober 1998

**Krüger DH:**

Neue Viren – Neue Viruserkrankungen?  
Festvortrag zur 25-Jahr-Feier des Klinikums Uckermark, Schwedt/Oder, Dez. 1998

**I. Öffentliche Institutskolloquien des Jahres 1998**

<b>Datum</b>	<b>Referent</b>	<b>Thema</b>
--------------	-----------------	--------------

<b>Datum</b>	<b>Referent</b>	<b>Thema</b>
15.01.	<b>Jürgen Alves</b> Institut für Biophysikalische Chemie, Medizinische Hochschule Hannover	Proteindesign an der Restriktions- endonuklease <i>EcoRI</i>
22.01.	<b>Jan ter Meulen</b> Bernhard-Nocht-Institut für Tropen- medizin, Hamburg	Lassa-Fieber: Bedeutung der T-Zell- Immunität für die Vakzineentwick- lung
14.05	<b>Leonid Chernin</b> Department of Plant Pathology and Microbiology, Faculty of Agricul- ture, The Hebrew University of Jeru- salem	Quorum sensing phenomenon in bacteria: genes, products, functions
25.05.	<b>Alexander Plyusnin</b> Department of Virology, Haartman Institute, University of Helsinki	Molecular genetics of European hantaviruses
18.06.	<b>Susanne Polywka</b> Institut für Medizinische Mikrobi- ologie und Immunologie, Universität Hamburg	Neue Hepatitisviren - Bedeutung, Epidemiologie und Diagnostik
26.06.	<b>Susumu Kawamoto</b> Department of Bacteriology, Yoko- hama City University School of Me- dicine, Yokohama	Molecular characterization of gluta- mate receptor channels using viral vector systems
05.10.	<b>Antti Vaheri</b> Department of Virology, Haartman Institute, University of Helsinki	Old and newly discovered European hantaviruses: From carrier rodents to human pathogens
23.10.	<b>Hamilton O. Smith</b> Department of Molecular Biology and Genetics, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland	The complete genomic sequence of <i>Haemophilus influenzae</i> Rd: What have we learned?
05.11.	<b>Stephen Norley</b> Paul-Ehrlich-Institut, Langen	HIV vaccines: New possibilities and new problems



Datum	Referent	Thema
26.11.	<b>Sergej Viazov</b> Institut für Virologie, Universitäts- klinikum Essen	Does TTV infection cause hepatitis non A-C?
03.12.	<b>Andreas Kage</b> Institut für Laboratoriumsmedizin und Pathobiochemie, Universitätskli- nikum Charité, Campus Virchow- Klinikum	Transepitheliale Passage des HIV: Charakterisierung eines neuen Re- zeptors für gp120

## Anlage 2

### *Auszug aus dem Vorlesungsverzeichnis der Humboldt-Universität*

Sommersemester 1998

#### **VIROLOGIE (S-VI, Tel. 2802-2387)**

##### **05 104 Mikrobiologie/Virologie**

VL	Di/Mi	10.00-11.30	n. V.	D. H. Krüger
KU	n. V.	14täg./1	DOR 94	S. Prösch, R. Chaves, H. Heider, J. Jantschak, D. H. Krüger, M. Meisel, S. Neifer, M. Niedrig a. G., A. Reip, M. Reuter, S. Scherneck a. G., C. Schroeder, R. Ulrich

##### **05 105 Allgemeine und molekulare Virologie (DB)**

VL	Mo	10.15-11.45	L-ANA, 1	C. Schroeder, H. Diringer a. G., D. H. Krüger, H. Meisel, M. Niedrig a. G., S. Prösch, M. Reuter, S. Scherneck a. G., R. Ulrich
----	----	-------------	----------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

##### **05 106 Mikrobiologie (Virologie) (3. Stdj. ZM)**

VL	n. V.	wöch.	n. V.	D. H. Krüger, S. Prösch
----	-------	-------	-------	-------------------------

##### **05 229 Probleme der medizinischen und molekularen Virologie (fak.) Tel. 2802-2387**

SE	Do	16-18	n. V.	S-VI	D. H. Krüger, R. Ulrich u. a.
----	----	-------	-------	------	----------------------------------

Wintersemester 1998/99

**VIROLOGIE (S-VI, Tel. 2802-2387)**

**05 112 Mikrobiologie - Virologie (1. klin. Sem. HM)**

VL Di/Mi 10.00-11.30 wöch. S-VI D. H. Krüger

**05 112 Mikrobiologie - Virologie - Immunologie (2. klin. Sem. HM)**

KU n. V. n. V. 14täg./1 DOR 94 S. Prösch, R. Chaves,  
H. Heider, J. Jantschak,  
D. H. Krüger, M. Meisel,  
S. Neifer, A. Reip,  
M. Reuter, C. Schroeder,  
R. Ulrich

**05 114 MP/BF**

VL n. V. n. V. monatl. ZI 5 H. Heider

**05 115 Praktikum molekulare Virus- und Zellbiologie (4. Stdj. DB)**

Virologische Diagnostik (ELISA, Hämagglutinationstests), Nachweis viraler Gene (Hybridisierung, PCR), Virostatika-Testung (Plaquereduktions- und DNA-Polymerasetest), DNA-Klonierung und Sequenzierung

PR Di-Fr 08.00-17.00 14täg./1 S-VI H. Meisel, H. Heider,  
D. H. Krüger, S. Prösch,  
C. Priemer, M. Reuter,  
C. Schroeder, C. Sibold,  
R. Ulrich

Klonierung und Expression viraler Gene

PR Di-Fr 08.00-17.00 14täg./1 S-VI R. Ulrich

**05 281 Mikrobiologie (Virologie) (3. Stdj. ZM)**

KU n. V. 14täg./1 n. V. H. Heider, S. Prösch,  
L. Briedigkeit, R. Ulrich

**05 242 Probleme der medizinischen und molekularen Virologie (fak.) (Tel. 2802-2387)**

SE Do 16.00-18.00 wöch. S-VI D. H. Krüger, R. Ulrich u. a.

## Anlage 4

### *„Seminarsprecher des Jahres“ des Institutes für Medizinische Virologie*

1990	W. H. Gerlich, Göttingen/Gießen
1991	H. Gelderblom, Berlin
1992	A. S. von Kekulé, Martinsried
1993	R. Kurth, Langen
1994	U. Heinemann, Berlin-Buch
1995	T. Mettenleiter, Insel Riems
1996	Å. Lundkvist, Stockholm
1997	L. Gürtler, München
1998	A. Kage, Berlin

Seit 1990 wählen die akademischen Mitarbeiter des Institutes den Gastreferenten der öffentlichen Institutskolloquien, der als „Seminarsprecher des Jahres“ geehrt wird.

Medizinische Fakultät Charité der Humboldt-Universität  
Deutsche Forschungsgemeinschaft  
Deutsche Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten e. V.



## 2nd International Workshop "Chimeric virus-like particles as vaccines"

Berlin, Charité Medical School

April 01-04, 1998

### Program

**Organization:** Dr. Rainer Ulrich, Prof. Dr. Detlev H. Krüger  
Institut für Medizinische Virologie  
Universitätsklinikum Charité  
der Humboldt-Universität  
D-10098 Berlin  
Tel. 030-2802-2387  
Fax 030-2802-2180

### GENERAL INFORMATION

Conference site: Charité main building, lecture hall  
Luisenstraße/Philippstraße  
10117 Berlin (Mitte)  
Phone during conference: +49-30-2802-5274

Registration: March 31: 07:30 a.m. - 05:00 p.m., Institute of Virology  
April 01-04: 08:00 a.m. - 06:00 p.m., Charite main building, foyer in front of lecture hall

Speakers: Please consider that the indicated time includes the discussion period, too.

Slides: Please hand over 20 minutes before session. An overhead projector is also available.

Catering: Coffee, tea, soft drinks and snacks are available during the coffee breaks.  
Lunch on April 02 and 03 in the Charité Catering Center (DM 10.00).

Other events: see program

## ***Wednesday, April 1***

### **Opening**

13:00 D. H. Krüger, Director of the Institute of Virology  
C. Frömmel, Dean for Science and Research of the Charité  
R. Ulrich, Organizer

### **Session I (13:30-16:45)**

Moderation: M.H.V. van Regenmortel, E. Wimmer

### **Strategies for vaccine development**

13:30-13:55	Emerging trends for future vaccines: A global perspective	L. Jodar, WHO, Geneva, Switzerland
13:55-14:20	Quality and safety of vaccines: lessons from the past	J. Löwer, Langen, Germany
14:20-14:45	Virus-like particles, DNA vaccines and live viruses: Comparisons and combinations	S. Gilbert, Oxford, UK
<b>14:45 -15:30</b>	<b><i>Coffee Break</i></b>	
15:30-15:55	Immunological basis for vaccine development	J. Hess, Berlin, Germany
15:55-16:20	The role of proteasome modulator PA28 in MHC class I presentation of viral epitopes	P.-M. Kloetzel, Berlin, Germany

16:20-16:45	Vaccines based on epitope mimicry with synthetic peptides	M. H. V. van Regenmortel, Strasbourg, France
-------------	-----------------------------------------------------------	----------------------------------------------

### **17:00-19:00 Opening wine and cheese party**

## ***Thursday, April 2***

### **Session II (09:00-10:55)**

Moderation: H. R. Gelderblom, K. Murray

### **Hepatitis B virus-derived VLPs (I)**

09:00-09:25	The structure of the hepatitis B virus core shell: A rational basis for engineered derivatives	R. A. Crowther, Cambridge, UK
09:25-09:40	Hepatitis B virus assembly	M. Nassal, Freiburg, Germany
09:40-09:55	Chaperones involved in hepatitis B virus particle morphogenesis	R. Prange, Mainz, Germany
09:55-10:10	Folding competence and particle formation of HBV c-gene deletion variants occurring in infected liver cells	P. Preikschat, Berlin, Germany

10:10-10:25	Antigenicity and immunogenicity of chimeric particles based on hepatitis B cores with deletions within the major immunodominant region	P. Pumpens, Riga, Latvia	12:10-12:25	Chimeric hepatitis B core particles and problems of their self-assembly	L. I. Karpenko, Koltsovo, Russia
10:25-10:40	HBV core particles as carrier for foreign epitopes: Evaluation of potential insertion sites	D. Koletzki, Berlin, Germany	12:25-12:40	Alternative processing of exogenous hepatitis B surface antigen (HBsAg), but not processing of endogenous HBsAg, generates an immunogenic K <sup>b</sup> -binding epitope	R. Schirmbeck, Ulm, Germany
10:40-10:55	Chimeric and mosaic HBV core particles: Steps towards a hantavirus vaccine	R. Ulrich, Berlin, Germany	12:40-12:55	T-cell and antibody response characterisation of a new recombinant pre-S1, pre-S2 and SHBs antigen containing hepatitis B vaccine: Demonstration of superior anti-SHBs antibody induction in responder mice	M. Page, London, UK

**10:55-11:30**     *Coffee Break*

**Session III** (11:30-13:10)

Moderation: R. A. Crowther, W. H. Gerlich

**Hepatitis B virus-derived VLPs (II)**

11:30-11:55	Immune responses to peptide sequences fused to HBV core antigen	K. Murray, Edinburgh, UK	12:55-13:10	Expression of human papilloma virus oncogene E7 epitopes on the HBs, HBc and RNA-phage carriers	K. Sasnauskas, Vilnius, Lithuania
11:55-12:10	Polyhistidine-tagged hepatitis B core particles as carriers of HIV-1/gp120 epitopes of different HIV-1 subtypes	A. von Brunn, Munich, Germany	<b>13:10-15:00</b>	<b>Lunch</b>	

#### Session IV (15:00-17:30)

Moderation: M. Nassal, P. Roy

#### RNA-virus-derived VLPs

- |             |                                                                                                     |                                |
|-------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|
| 15:00-15:25 | Use of orbivirus tubules and VLPs as vehicles for cell-mediated and humoral responses               | P. Roy, Oxford, UK             |
| 15:25-15:50 | Rotavirus VLPs administered parenterally or mucosally induce active protective immunity             | M. Conner, Houston, USA        |
| 15:50-16:15 | Vaccines from plants: A new harvest                                                                 | T. Turpen, Vacaville, USA      |
| 16:15-16:40 | Plant virus and virus-like particles as candidate vaccine carriers in veterinary and human medicine | T. M. A. Wilson, Dundee, UK    |
| 16:40-17:05 | Structure-based refinement of epitope presentation on the surface of cowpea mosaic virus            | K. Taylor, Norwich, UK         |
| 17:05-17:30 | Virus-like particles as a vaccine for hepatitis C virus                                             | E. Gowans, Brisbane, Australia |
| 17:30-18:00 | <i>Coffee break</i>                                                                                 |                                |
| 18:00-20:00 | <b>Round table discussion: VLPs as future vaccines?</b>                                             |                                |

#### *Friday, April 3*

#### Session V (09:00-10:35)

Moderation: L. Gissmann, W. M. Kast

#### Papillomavirus-derived VLPs

- |             |                                                                                                                                 |                                                         |
|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| 09:00-09:25 | Chimeric papillomavirus-like particles as a universal antigen delivery system                                                   | W. M. Kast, Maywood, USA                                |
| 09:25-09:50 | CVLPs of human papillomavirus type 16 (HPV16): Vaccine for primary prevention and therapy of cervical cancer                    | I. Jochmus, Heidelberg, Germany/M. Müller, Maywood, USA |
| 09:50-10:05 | A virus-like particle vaccine against human papillomavirus                                                                      | A. Shaw, West Point, USA                                |
| 10:05-10:20 | Chimeric L1/E2 and L1/E6 virus-like particles of the cottontail rabbit papillomavirus (CRPV) as a therapeutic vaccine-candidate | R. Kirnbauer, Vienna, Austria                           |
| 10:20-10:35 | Human papillomavirus-16 E6/E7-like particles as vaccines                                                                        | D. Labeit, Mannheim, Germany                            |
| 10:35-11:00 | <i>Coffee break</i>                                                                                                             |                                                         |



**Session VI (11:00-12:25)**

Moderation: D. H. Krüger, P. Pumpens

**Polyomavirus- and phage-derived VLPs**

11:00-11:25	Mosaic Q $\beta$ cores as a new presentation model	P. Pumpens, Riga, Latvia
11:25-11:40	Yeast allows the high-level expression and formation of polyomavirus-like particles	K. Sasnauskas, Vilnius, Lithuania
11:40-11:55	Generation of virus-like particles derived from polyomavirus VP1	U. Schmidt, Halle, Germany
11:55-12:10	Polyomacapsids for specific T-cell stimulation	W. Bertling/J. Walter, Erlangen, Germany
12:10-12:25	Obtaining antigenic and immunogenic virus mimetics by phage display libraries	A. A. Ilyichev, Koltsovo, Russia

**12:25-15:00 Lunch**

**Session VII (15:00-16:40)**

Moderation: B. Wahren, C. Y. Kang

**Retrovirus-derived VLPs**

15:00-15:25	Assembly and maturation of HIV particles in tissue culture and in <i>in vitro</i> systems	H.-G. Kräusslich, Hamburg, Germany
-------------	-------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------

15:25-15:50 Structural aspects of HIV Gag protein assembly M. V. Nermut, Herts, UK

15:50-16:15 Role of the group specific antigen in HIV-replication and pathogenesis: Implications for vaccine development R. Wagner, Regensburg, Germany

16:15-16:40 Development of HIV/AIDS vaccine using Gag-Env chimeric virus-like particles C. Y. Kang, London, Canada

**16:40-17:15 Coffee Break**

**Session VIII (17:15-19:00)**

Moderation: F. Schödel, G. F. Arnold

**Recombinant live vaccines**

17:15-17:40 Chimeric picornaviruses as agents for vaccination and gene therapy E. Wimmer, Stony Brook, USA

17:40-17:55 Chimeric influenza virus replicating predominantly in the murine upper respiratory tract induces local immune responses against HIV-1 in the genital tract T. Muster, Vienna, Austria

17:55-18:20	Replication deficient vaccinia virus recombinants as vaccine candidates	L. Wyatt, Bethesda, USA	09:15-09:30	A tissue-specific vector based on the B-lymphotropic papovavirus	M. Pawlita, Heidelberg, Germany
18:20-18:45	Engineering human rhinoviruses to immunologically mimic dangerous pathogens for the development of vaccines	G. F. Arnold, Piscataway, USA	09:30-09:45	Baculovirus vectors for gene delivery into hepatocytes	C. Hofmann, Berlin, Germany
18:45-19:00	Oral vaccination with urease-expressing <i>Salmonella</i> protect mice against a <i>Helicobacter pylori</i> infection	D. Bumann, Berlin, Germany	09:45-10:00	Transport of DNA through the nuclear pore	M. Kann, Gießen, Germany
			10:00-10:25	A DNA vaccine producing whole non-infectious SIV particles: Immunization and challenge	L. Henderson, Frederick, USA
			10:25-10:40	DNA plasmids with introduced regulatory genes as immunogens	B. Wahren, Stockholm, Sweden
			10:40-10:55	Pharmaceutical manufacturing (GMP) of plasmid DNA for genetic vaccination	M. Schleef, Hilden, Germany

**20:00 Reception in the Rudolf Virchow Building**

***Saturday, April 4***

**Session IX (09:00-10.55)**

Moderation: L. Henderson, H. Wolf

**DNA vaccines and gene therapy**

09:00-09:15	Importance of virus-like particles of the major structural protein VP1 of the human polyomavirus JCV for diagnostic, vaccine development and gene therapy	W. Lüke, Göttingen, Germany
-------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------

**10:55-11:05 Concluding remarks**

We would like to thank the following organizations and companies  
for their support:

Deutsche Forschungsgemeinschaft

Deutsche Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten

Universitätsklinikum Charité

Merck Research Laboratories, USA

Behringwerke AG

Chiron Behring GmbH & Co.

Eppendorf-Netheler-Hinz GmbH

MWG Biotech

Nunc GmbH

Qiagen GmbH

Sorin Biomedica AG

TIB Molbiol

Biochrom GmbH

Difco Laboratories GmbH

Schleicher & Schuell GmbH

Greiner GmbH

Roth GmbH