

*Charité*

**Institut für Virologie**

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

**Nationales Konsiliarlaboratorium für Hantaviren**

**Universitätsklinikum Charité  
der Humboldt-Universität zu Berlin  
Schumannstr. 20/21  
10117 Berlin  
Postadresse: 10098 Berlin**

**Tel. +49-30-450-52 50 92  
Fax +49-30-450-52 59 07  
[www.charite.de/virologie/](http://www.charite.de/virologie/)**

# **Jahresbericht 2001**

**Berichte des Instituts für Virologie, Band 11 (2001)**

**Berlin, im April 2002**

## Inhalt

|  | Seite  |
|--|--|
| A. Vorwort.....  | 2  |
| B. Kollegium des Instituts.....  | 3  |
| C. Schwerpunkte in Lehre, Forschung und Krankenversorgung.....           | 5  |
| D. Übersicht zu Forschungs- und sonstigen Projekten.....                 | 9  |
| E. Vorstellung der Forschungsprojekte.....                               | 12   |
| F. Publikationen.....  | 23   |
| G. Vorträge, Poster, Abstractpublikationen.....                          | 28   |
| H. Verzeichnis der öffentlichen Institutskolloquien/Gastvorlesungen..... | 35   |
| I. Ehrungen, Neuwahl in wissenschaftliche/berufsständische Gremien.....  | 37   |
| <br>   |  |
| Anlage 1   | „40 years ago“: Instituts-Publikation aus dem Jahre 1961   |
| Anlage 2   | Auszug aus dem Vorlesungsverzeichnis 2001  |
| Anlage 3   | Leistungsspektrum in der Krankenversorgung   |
| Anlage 4   | „Seminarsprecher des Jahres“ am Institut für Virologie   |
| Anlage 5   | Programm des vom Institut organisierten 3 <sup>rd</sup> International Workshop<br>„Virus-like particles as vaccines“, September 2001 |

## A. Vorwort

Das Jahr 2001 hat dem Institut eine Reihe von wissenschaftlichen Höhepunkten gebracht. Dazu gehören die erfolgreiche Durchführung des 3. Internationalen Workshops „Virus-like particles as vaccines“ (dessen Programm diesem Jahresbericht beiliegt), die erfolgreiche Verlängerung des Sonderforschungsbereiches 421 und unserer Teilprojekte darin, sowie die erstmalige Veröffentlichung einer Arbeit im high-impact Journal „Immunity“. Entsprechend ist die Summe der Impact-Punkte unserer Publikationen im vergangenen Jahr erfreulich weiter gestiegen. Dieser Bericht gibt zudem Auskunft über die Leistungen und neue Initiativen in der Lehre und Krankenversorgung; dankenswerterweise konnten auch bei Personalausfällen durch gegenseitige Vertretung und konstruktives Miteinander der Mitarbeiter die Aufgaben kontinuierlich erfüllt werden.

In der traditionellen Reihe „40 years ago“ unserer Jahresberichte erinnern wir dieses Mal an eine Publikation aus dem Institut im Jahre 1961, welche die Herstellung und Laboratoriumsprüfung formalininaktivierter Pocken-Vakzine zum Inhalt hat. Das Jahr 2001 hat uns in Erinnerung gebracht, daß als „gelöst“ erschienene Probleme der Verbreitung viraler Erreger wieder von aktueller Brisanz sein können. Die CDC (Centers for Disease Control and Prevention)-Liste von Viren, die als potentielle Biowaffen in Betracht kommen, umfaßt neben den Pockenviren auch mehrere weitere virale Erreger, darunter die Hantaviren.

Es ist mir ein Bedürfnis, allen denjenigen zu danken, die unsere Arbeit im vergangenen Jahr unterstützt haben. Dazu gehören Kooperationspartner, Geldgeber und viele andere, darunter die Akademische Verwaltung der Charité einschließlich der Charité-Bibliothek. Auf weitere gute Zusammenarbeit im neuen Jahr und viele neue Kooperationen und Projekte!

Berlin, 06.05.2002

Detlev H. Krüger

Ich danke Christina Grübel für die technische Redaktion des Jahresberichtes.

## **B. Kollegium des Instituts**

### *Hauptamtliche Professoren*

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

### *Professoren mit Lehrauftrag*

Kurth, Reinhard, Prof. Dr. med. (Robert Koch-Institut Berlin)

Scherneck, Siegfried, Prof. Dr. rer. nat. (Max Delbrück Centrum für Molekulare Medizin, Berlin)

### *Arbeitsgruppenleiter(innen)*

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

Prösch, Susanna, PD Dr. rer. nat.

Reuter, Monika, Dr. rer. nat.

Schönrich, Günther, PD Dr. med.

Ulrich, Rainer, Dr. rer. nat.

### *Mitarbeiter(innen)*

Bauer, Bettina (bis April 2001)

Beutler, Thomas, Dipl.-Biol.

Blaudszun, Sabine (bis Juni 2001)

Braun, Sabine (seit März 2001)

Brehmer, Hildegard

Conrad, Claudia (z. Z. beurlaubt)

Dauer, Karin

Demakowski, Marina

Descher, Marita (bis Aug. 2001)

Dürrenfeld, Astrid

Endres, Anne-Sophie, Dr. med.

Friedrich, Ingrid (seit Juli 2001)

Geldmacher, Astrid, Dipl.-Biol.

Grade, Katrin (seit Sept. 2001)

Grübel, Christina

Grünberg, Marina

Haferkorn, Marion (bis April 2001)

Hanemann, Jeannette (seit Sept. 2001)

Haring, Brita

Hegele, Anna

Heider, Harald, Dr. med.

Jantschak, Joachim, Dr. rer. nat.

Just, Monika

Kerger, Gabriele

Kersten, Sigrid

Klempa, Boris (seit Juli 2001)

Knippel, Karl

Koch, Judith, Dr. med.

Koschke, Sylvia

Kühnaß, Beate (seit Juli 2000)

Lerch, Heike (seit März 2001)

Mackeldanz, Petra

Mertens, Christiane (seit Okt. 2001)

Möncke-Buchner, Elisabeth, Dipl.-Biol.

Mücke, Merlind, Dipl.-Chem. (bis Okt. 2001)

Müller, Dagmar, Dipl.-Biol.

Muske, Karin

Neifer, Stefan, Dr. med. (bis Okt. 2001)

Noack, Ulrike (seit Feb. 2001)

O'Connor, Arthur (seit Feb. 2001)

Piehl, Dirk (seit April 2001)

Pohl, Brigitte

Priemer, Christina, Dipl.-Biol.

Raferly, Martin, Dipl.-Biochem.

Reich, Stefanie, Dipl.-Biol.

Reip, Angela, Dr. med.

Scherneck, Ursula (Leitende MTA)

Schilf, Rita (seit Sept. 2001)

Schories, Astrid

Schröpfer, Andrea

Schweickert, Brigitta, Dr. med.

Sommer, Kerstin (bis Feb. 2001)

Steinführer, Simone (seit Feb. 2001)

Stephan, Christine

Tromp, Hannelore

von Grüner, Annett

Wetzke, Antje (März-Juli 2001)

Wolbert, Anne (bis Nov. 2001)

Woskobochnik, Ina

Wuttke, Antje Regine, Dipl.-Biol.

Ziaja, Beate

***Gastdozenten und Gastmitarbeiter***

Baier, Michael, Dr., Robert-Koch-Institut Berlin  
 Dargeviciute, Ausra, Dr., Institute of Biotechnology, Vilnius, Litauen (Feb.-März 2001)  
 Gedvilaite, Alma, Dr., Institute of Biotechnology, Vilnius, Litauen (Okt./Nov. 2001)  
 Kazaks, Andris, Biozentrum der Universität Lettlands, Riga (Feb., Sept., Dez. 2001)  
 Kraus, Annette, Dipl.-Biol., Klinik für Innere Medizin m. S. Infektiologie, Charité  
 Moter, Annette, Dr. med., Institut für Mikrobiologie und Hygiene, Charité  
 Niedrig, Matthias, PD Dr. rer. nat., Robert Koch-Institut Berlin  
 Petrovskis, Ivars, Dr., Biozentrum der Universität Lettlands, Riga (Feb./März 2001)  
 Razanskas, Raimundas, Institute of Biotechnology, Vilnius, Litauen (Dez. 2001)  
 Sewer, Elena, Dr. (bis März 2001)  
 Skrastina, Dace, Dr., Biozentrum der Universität Lettlands, Riga (Nov./Dez. 2001)  
 Tillner, Regina, Zentralbibliothek der Charité  
 Voronkova, Tatyana, Dr., Biozentrum der Universität Lettlands, Riga (Feb., Nov./Dez. 2001)

***Studentische und wissenschaftliche Hilfskräfte***

|                                     |                                      |
|-------------------------------------|--------------------------------------|
| Diester, Ilka (Aug.-Okt. 2001)      | Milatz, Susanne (Juli/Aug. 2001)     |
| Hertel, Stefanie (Aug.-Okt. 2001)   | Ozar, Yasmin (seit Nov. 2001)        |
| Kießling, C. (bis Mai 2001)         | Petter, Cordula                      |
| Kohl, Stefan (Juli/Aug. 2001)       | Reichel, Annett                      |
| Krenzer, Reinhold (bis Mai 2001)    | Reinhard, Henrike (bis Sept. 2001)   |
| Letzel, Tobias (Sept.-Dez. 2001)    | Ritzi, Andreas (seit Nov. 2001)      |
| Lindner, Iris (Sept.-Dez. 2001)     | Sandmann, Stefanie (seit April 2001) |
| Märschenz, Stefanie (seit Mai 2001) | Siebörger, Johanna                   |
| Marzahn, Ulrike                     | Zelt, Angelika (März-Mai 2001)       |

***Zivildienstleistende***

Fahlbusch, Tim (seit Juli 2001)

***Auszubildende***

Beinlich, Stefanie (bis März 2001)  
 Marjanović, Klaudija (seit Sept. 2001)

### **C. Schwerpunkte in Lehre, Forschung und Krankenversorgung**

Die Virologie ist ein medizinisches Fachgebiet, das eng mit den verschiedensten klinischen Disziplinen (z. B. der Transplantations- und Transfusionsmedizin, Neurologie, Geburtsmedizin und Neonatologie) verbunden ist. Unter allen Infektionserregern liegen die Viren an der Spitze der Morbiditätsstatistik. Es werden zudem immer neue virale und subvirale Krankheitserreger bekannt, die auch in der Öffentlichkeit große Aufmerksamkeit erregen. Das Institut für Virologie besteht seit dem Jahre 1958, es ist damit eines der traditionsreichsten virologischen Hochschulinstitute im deutschsprachigen Raum. Für ein infektionsmedizinisches Institut ideal sind sowohl seine räumliche Nähe zu den Kliniken (schneller Probentransport, Konsiliartätigkeit) als auch die Unterbringung in einem eigenständigen Gebäude (Infektionsschutz). Im Jahre 2000 ist das am Standort Mitte befindliche Gebäude nach kompletter Sanierung seiner Nutzung übergeben worden. Es verfügt jetzt über Infektions- und gentechnische Laboratorien der Sicherheitsstufen 1 und 2, ein Hochsicherheitslaboratorium der Stufe 3 (das die Arbeit mit hochgradig gefährlichen Erregern erlaubt) sowie über Reinsträume zur Zellzucht und Nukleinsäurediagnostik.

Für die Studenten der Medizinischen Fakultät wird das Fach Virologie in den Studienrichtungen Medizin, Zahnmedizin und Medizinpädagogik/Pflegepädagogik unterrichtet. Dazu finden die Hauptvorlesung (die beispielsweise bei der Lehrevaluation Medizin im Wintersemester 2000/01 unter allen Vorlesungen der Fakultät den 4. Platz belegte) sowie umfangreiche Praktika statt. Für letztere wurden eigenständige Lehrmaterialien erarbeitet. Die Praktika werden gemeinsam mit dem Institut für Mikrobiologie und Hygiene und dem Institut für Medizinische Immunologie durchgeführt, so daß den Studenten ein komplexes und infektionsmedizinisch relevantes Herangehen an den Lehrstoff ermöglicht wird. In insgesamt 15 Stunden Kurs pro Studentengruppe werden pro Semester ca. 240 Studierende der Medizin ausgebildet, in 10 Stunden Praktikum pro Studentengruppe außerdem jährlich etwa 60 Studierende der Zahnmedizin. Das Institut ist außerdem aktiv in die Durchführung und den Ausbau der Lehre für den Reformstudiengang Medizin einbezogen. Ein umfangreicher Lehrexport besteht für die

Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät I der Humboldt-Universität. Für den Diplomstudiengang Biologie werden eine Vorlesungsreihe „Molekulare Virologie“ mit zwei Semesterwochenstunden, vierzehntägige Komplexpraktika sowie weitere Lehrveranstaltungen durchgeführt. Die Wertschätzung für diese Lehre wird dadurch deutlich, daß die Virologie ab Sommersemester 2002 als Nebenfach laut Studienordnung Biologie etabliert wird, wofür gegenwärtig umfangreiche Vorbereitungen laufen.

Das Institut trägt eine zweiwöchentlich stattfindende Wahllehrveranstaltung „Probleme der medizinischen und molekularen Virologie“, für die auswärtige Experten als Dozenten eingeladen werden, und die neben der Lehre auch der Weiterbildung dient. Sie wird gut von Studenten, aber auch Wissenschaftlern der Charité und des Berliner Raumes angenommen. Die Betreuung von medizinischen/naturwissenschaftlichen Studienjahres-, Diplom- und Doktorarbeiten ist umfangreich, einige der Arbeiten finden auch im Rahmen bilateraler Verträge mit ausländischen Einrichtungen statt.

Die Forschungsschwerpunkte, mit denen sich das Institut national und international einen Namen gemacht hat, betreffen wichtige Fragestellungen der medizinischen und molekularen Virologie, einige davon sind unikal für Berlin und die Bundesrepublik. Durch das Institut werden zwei europäische Forschungsverbände (Hanta- und Hepatitisviren) koordiniert, die von der Europäischen Union gefördert werden (Fördervolumen 1.513.000 Euro), und es ist am DFG-Sonderforschungsbereich 421 („Protektive und pathologische Folgen der Antigenverarbeitung“) beteiligt. Weitere Drittmittelprojekte werden durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft sowie durch Bundesministerien gefördert. Insgesamt hat sich das Volumen der eingeworbenen, öffentlichen Drittmittel (DFG, EU, Bund) sowie der Drittmittel insgesamt in den letzten Jahren kontinuierlich positiv entwickelt, und liegt jetzt bei 1 Mio. DM/Jahr. Gleichzeitig wurde auch der Ertrag der wissenschaftlichen Leistungen weiter gesteigert: die Summe der Impactpunkte der Publikationen liegt jetzt bei weit über 60/Jahr. Bezogen auf die Zahl hauptamtlicher Professoren pro Wissenschaftlicher Einrichtung liegen Drittmittelwerbung und Impact in der vordersten Gruppe der Einrichtungen der Fakultät und des Berliner Raumes.

In der Forschung besteht eine intensive Kooperation mit ausländischen Gruppen (unter anderem im Rahmen der beiden EU-Verbünde sowie von bilateralen Verträgen zur wissenschaftlichen Zusammenarbeit), mit Einrichtungen in Deutschland (z. B. im Rahmen eines BMBF-Verbundes), Berlin (z. B. im Rahmen des Sonderforschungsbereiches 421 oder von Projekten mit dem Robert Koch-Institut) und der Charité. Innerhalb der Charité gibt es eine sehr enge Zusammenarbeit (gemeinsame Projekte, Publikationen) mit der Immunologie, Inneren Medizin (Nephrologie, Hämatologie, Infektionsmedizin), Chirurgie, Neonatologie, Neurologie, Zentrum für Pädiatrie und weiteren wissenschaftlichen Einrichtungen.

Neben den bereits erwähnten Gastvorlesungen veranstaltet das Institut regelmäßig wissenschaftliche Fachtagungen, um national und international aktiv zum wissenschaftlichen Austausch beizutragen. Im September 2001 fand an der Charité der 3. Internationale Workshop „Virus-like particles as vaccines“ statt, an dem wie bei den vom Institut organisierten, vorangegangenen Tagungen (1995, 1998) Fachvertreter aus Europa, Asien und Übersee teilnahmen.

In der Krankenversorgung führt das Institut mit großem Engagement die virologische Diagnostik und spezifische Konsiliartätigkeit für das Klinikum durch. Die Anzahl der virusdiagnostischen Untersuchungen liegt bei über 200.000 pro Jahr. Schwerpunkt der hochspezialisierten Diagnostik sind Infektionen bei Transplantierten, neurologischen Patienten sowie Schwangeren/Neugeborenen. Es besteht ein 24-Stunden-Rufbereitschaftsdienst für die Virusdiagnostik. Außerdem wird ein umfangreiches Blutspender-Screening auf Virus-Nukleinsäuren für die Transfusionsmedizin sichergestellt. Die hochspezialisierte Virusdiagnostik umfaßt immer stärker auch das virologische Monitoring antiviraler Therapien, Bestimmungen von Viruslast und -resistenz (insbesondere bei HIV-Infektionen) und das molekulare Erkennen von Virusvarianten. Im Rahmen der Entwicklung und Evaluierung neuer Methoden der Virusdiagnostik ist jetzt die automatisierte Serodiagnostik aus dem Liquor aufgebaut worden. Die Etablierung einer sensitiven und spezifischen Enterovirusdiagnostik wurde kürzlich durch die erfolgreiche Teil-



nahme am 1. Nationalen Ringversuch zur Anzucht und Typisierung von Enteroviren belegt (einziger Teilnehmer mit vollständig richtigen Diagnosen).

Das Institut wird von niedergelassenen Ärzten und fremden Kliniken aus dem Berliner Raum und ganz Deutschland konsiliarisch für die Lösung komplizierter Problemstellungen der Virusdiagnostik in Anspruch genommen und führt in größerem Umfang weitergehende Bestätigungsuntersuchungen in schwierigen Befundkonstellationen durch. Es ist Nationales Konsiliarlaboratorium für Hantavirus-Infektionen und trägt damit Verantwortung in Deutschland und im europäischen Raum für den Gesundheitsschutz gegenüber diesen auch als potentielle Biowaffen einsetzbaren Erregern.

## D. Übersicht zu Forschungs- und sonstigen Projekten

### 1. Drittmittelgeförderte Forschungsprojekte, bei denen die Projektleitung am Institut für Virologie lag

- 1.1. Förderung: DFG (Sonderforschungsbereich 421, Teilprojekt B5)  
Untersuchungen zum Mechanismus der TNF $\alpha$ -abhängigen (Re)aktivierung des humanen Cytomegalievirus in Vorläuferzellen der Monozyten/Granulozyten
- 1.2. Förderung: DFG (FKZ: Kr1293/2-2)  
Molekulare Diversität und Epidemiologie der Hantaviren
- 1.3. Förderung: DFG (FKZ: Re879/2-3)  
Aufklärung der Domänenorganisation und Struktur der Restriktionsendonuklease *EcoRII*
- 1.4. Förderung: DFG (FKZ: Kr1293/1-3)  
DNA-Substraterkennung durch Typ-III-Restriktionsendonukleasen
- 1.5. Förderung: DFG (FKZ: Scho592/2-2)  
Die tolerogene Wirkung des viralen Interleukin-10 auf zytotoxische T-Zellen
- 1.6. Förderung: DFG (FKZ: Scho592/3-1)  
Immunevasion von Herpesviren durch Induktion von T-Zell-Apoptose
- 1.7. Förderung: Europäische Kommission (FKZ: QLK2-CT-1999-01119)  
European hantavirus vaccine  
(Das Institut stellt den Koordinator des europäischen Verbundes.)
- 1.8. Förderung: Europäische Kommission (FKZ: IC15-CT98-0319)  
Bedeutung von Hepatitis-B- und Hepatitis-C-Virusvarianten  
(Das Institut stellt den Koordinator des europäischen Verbundes.)
- 1.9. Förderung: Bundesministerium für Bildung und Forschung (FKZ: 01-KI-9661/U)  
Rolle der Sequenzheterogenität des Hepatitis-B-Virus in der Pathogenese der chronischen Hepatitiden unter Immunsuppression
- 1.10. Förderung: Bundesministerium für Gesundheit (FKZ: RKI-ZVZ-1368-333)  
Prävalenz von Hantavirus-spezifischen Antikörpern in der deutschen Bevölkerung

## **2. Unterstützung der o. g. Forschungsprojekte durch Einwerbung zusätzlicher Drittmittel**

- 2.1. Förderung: BMBF (WTZ-LVA 00/001, LTU 97/002, LTU 00/001)  
Wissenschaftlich-technische Zusammenarbeit mit Litauen zum Projekt 1.7. und 1.10.
- 2.2. Förderung: DAAD (FKZ: 313-SF-PPP-6)  
Austausch Deutschland-Finnland zum Projekt 1.2. und 1.7.
- 2.3. Förderung: DAAD (FKZ: 313-S-PPP-pz)  
Austausch Deutschland-Schweden zum Projekt 1.2. und 1.7.
- 2.4. Förderung: Fonds der chemischen Industrie  
Hochschullehrer-Förderung Prof. Krüger

## **3. Universitäre Forschungsförderung**

Zu den drittmittelgeförderten Forschungsprojekten sowie für weitere Initiativprojekte erfolgte eine Unterstützung durch die Universitäre Forschungsförderung an der Charité.

## **4. Industrieförderte Projekte und Studien**

Das Institut ist leitend in der Koordination mehrerer industrieförderter Projekte sowie Studien tätig. Diese beziehen sich auf die Entwicklung und Validierung neuer virusdiagnostischer Verfahren sowie auf die Rolle virologischer Marker in der Patientenführung und Therapie virusbedingter Erkrankungen. Mehrere dieser Studien finden in enger Kooperation mit klinischen Einrichtungen der Charité statt.

Zu diesen Projekten und Studien gehören:

- Focus Clinical Drug Development/Roche: Einsatz von Omega-Interferon bei Patienten mit Hepatitis C
- Bayer Diagnostics: Einführung neuer RNA-Nachweismethoden zur Verbesserung der HCV-Diagnostik
- Roche Diagnostics / Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie CVK: CMV-Erkrankung nach Transplantation
- ICN / Kinderklinik CVK: Bedeutung der Infektion mit respiratorischen Viren auf den Ausgang nach Knochenmarktransplantation.

## **5. Forschungsprojekte/Drittmittelinwerbungen, die 2001 neu begonnen werden bzw. zusätzlich erfolgen**

- 5.1. Förderung: DFG (FKZ: 4851/259/01) und EU (FKZ: QLK2-CT-2001-30245)  
Förderung 3<sup>rd</sup> International Workshop „Virus-like particles as vaccines“
- 5.2. Förderung: Sonnenfeld-Stiftung (FKZ. WK/co)  
Fördermittel zur Unterstützung von Projekt 1.3. und 1.4.
- 5.3. Förderung: Max-Buchner-Forschungsstiftung (FKZ: MBFSt 2273)  
Promotionsstipendium zur Unterstützung von Projekt 1.7.

## **6. Projekte in Lehre und Krankenversorgung, die 2001 begonnen werden:**

- 6.1. Vorbereitung und Anerkennungsverfahren zur Etablierung des Faches Virologie als Nebenfach laut Studienordnung zum Diplomstudiengang Biologie an der Humboldt-Universität  
(Weiterentwicklung und Erweiterung von Vorlesung, Oberseminar, Praktikum und neue Lehrmaterialien)
- 6.2. Entwicklung, Evaluierung und Einführung von Nukleinsäure-Nachweisverfahren für die Transfusionsmedizin  
(Erweiterung des Erregerspektrums, Erhöhung der Blutsicherheit bei gleichzeitiger Kostenreduktion)
- 6.3. Überführung der Ergebnisse der klinischen Studie zur Rolle von Atemwegsinfektionen bei kindlichen Knochenmarktransplantierten (Aufnahme Adenovirus als Screeningparameter) in die klinische Praxis (neues Diagnostik-Procedure)
- 6.4. Erweiterung des Spektrums virusdiagnostischer Untersuchungen um quantitative PCR-Verfahren

## E. Vorstellung der Forschungsprojekte

### E. 1. Untersuchungen zum Mechanismus der TNF $\alpha$ -abhängigen (Re)aktivierung des humanen Cytomegalievirus in Vorläuferzellen der Monozyten/Granulozyten

Projektleiter: S. Prösch, H.-D. Volk (Institut für Med. Immunologie), D. H. Krüger

Förderung: Deutsche Forschungsgemeinschaft (Sonderforschungsbereich 421), Universitäre Forschungsförderung

Aktive Infektion oder Erkrankung durch das humane Cytomegalievirus bei immunsupprimierten Patienten tragen trotz verbesserter Therapiestrategien (präemptive oder prophylaktische Behandlung) noch immer zu einer hohen Morbidität bei. Das Hauptproblem besteht darin, daß durch die vorhandenen Therapeutika zwar die Virusausbreitung im Organismus, aber nicht die Reaktivierung latenter Viren und die Expression bestimmter viraler Proteine, die an der Pathogenese der Infektion beteiligt sind, gehemmt werden kann. In den vorangegangenen Jahren haben wir durch *in vitro* Untersuchungen und klinische Studien einige Hauptmediatoren der HCMV-Reaktivierung, wie Inflammation, Streß oder cAMP-stimulierende Medikamente, identifizieren können. Für die entzündungsvermittelte (Re)aktivierung des HCMV ist hauptsächlich das Cytokin TNF $\alpha$  hauptverantwortlich, das über die Aktivierung einer Signalkaskade zur vermehrten Aktivierung von NF- $\kappa$ B führt, welches wiederum den sehr frühen Promotor von HCMV stimuliert. Basierend auf dem Verständnis des Signalweges und der Identifizierung der Targetsequenzen im HCMV-Promotor konzentrierten wir uns im vergangenen Jahr auf die Suche nach neuen Therapieansätzen zur Hemmung der Reaktivierung. Ziel ist es, Substanzen zu finden, die die TNF $\alpha$ -abhängige Aktivierung von NF- $\kappa$ B in Hochrisikopatienten zeitlich begrenzt hemmen können.

In der Klinik werden Glucocortikoide häufig als Immunsuppressiva oder zur Bekämpfung systemischer Entzündungen eingesetzt. Der zugrundeliegende Mechanismus basiert auf einer Hemmung von Transkriptionsfaktoren wie NF- $\kappa$ B und AP-1. Versuche, die TNF $\alpha$ /NF- $\kappa$ B-abhängige Stimulierung des HCMV-Promotors mit Dexamethason zu beeinflussen, führten zu der Erkenntnis, daß Dexamethason die Aktivität des Promotors eher stimuliert und den Effekt von TNF $\alpha$  verstärkt. Im vorangegangenen Jahr gelang es uns in Kooperation mit der Schering AG, den zugrundeliegenden molekularen Mechanismus aufzuklären. Erstmals konnten wir im Enhancer des sehr frühen Promotors von HCMV Sequenzen nachweisen (sog. GREs), die in der Lage sind, den Glucocortikoidrezeptor zu binden. Diese Bindung führt zu der beobachteten Verstärkung der Promotoraktivität und erhöhten Expression der nachgeschalteten Virusproteine. Diese Sequenzen weisen eine deutlich unterschiedliche Sequenz zu bisher bekannten GREs auf. Es konnte auch gezeigt werden, daß neuartige Glucocortikoidderivate, deren Transaktivierungsaktivität (nicht aber ihre anti-entzündliche Wirkung) verringert ist, keine stimulierende Wirkung auf den HCMV-

Promotor haben. Die Entwicklung derartiger Medikamente könnte also für die Verhinderung der HCMV-Reaktivierung in Risikopatienten von Bedeutung sein.

Darüber hinaus wurde mit der *in vitro* Testung von weiteren potentiellen Inhibitoren der TNF $\alpha$ -abhängigen Reaktivierung begonnen, wobei erste interessante Substanzen identifiziert wurden, die auch die Replikation des Virus *in vitro* in humanen embryonalen Lungenfibroblasten hemmen können.

In einem weiteren Schwerpunkt wurde mit der Etablierung eines Tiermodells (Ratte) für die TNF $\alpha$ -abhängige Reaktivierung von CMV begonnen.

Kooperationen: C. Bruggeman, C. Vink, Institut für Med. Mikrobiologie, Akademisches Krankenhaus, Maastricht  
 K. Asadullah, H. Schäcke, Research Business Area Dermatology, Schering AG, Berlin  
 P.M. Kloetzel, Institut für Biochemie, Charité  
 P. Reinke, Klinik für Innere Medizin m. S. Nephrologie und Intensivmedizin, Charité Campus Virchow-Klinikum

## **E. 2. Molekulare Diversität und Epidemiologie der Hantaviren**

Projektleiter: D. H. Krüger, H. Meisel

Förderung: Deutsche Forschungsgemeinschaft, Universitäre Forschungsförderung

Hantaviren gehören zu den „emerging viruses“ mit wachsender medizinischer Bedeutung. In Europa und Asien rufen Infektionen mit diesen Viren Hämorrhagische Fieber mit Renalem Syndrom (HFRS) hervor. Sie werden von Mäusen auf den Menschen übertragen.

Im vergangenen Jahr gelang es uns, die Diversität und Evolution mitteleuropäischer Hantaviren weiter aufzuklären. Für Dobrava-Viren, die von der Brandmaus (*Apodemus agrarius*) beherbergt werden, konnten erstmalig die Total-Nukleotidsequenzen nicht nur des genomischen S-Segments, sondern auch des M-Segments bestimmt werden. Darauf aufbauend wurden vergleichende phylogenetische Analysen zu der in der Gelbhalsmaus (*Apodemus flavicollis*) vorkommenden Viruslinie (DOBV-Af) ange stellt.

Die Ergebnisse zeigen erstmalig einen genetischen Austausch zwischen DOBV-Aa und DOBV-Af in ihrer Evolution durch Reassortment- und Rekombinationsprozesse. Gleichzeitig konnten genetische Determinanten in beiden Viruslinien verifiziert werden, die offensichtlich für die Adaptation an die unterschiedlichen Wirtsspezies verantwortlich sind. Da die beiden Viren (DOBV-Aa und DOBV-Af) sehr wahrscheinlich eine stark unterschiedliche Pathogenität für den Menschen aufweisen, sind diese

genetischen Unterschiede auch von Bedeutung zur Aufklärung von Virulenzmarkern der Hantaviren.

Für das 1995 von uns in Mitteleuropa entdeckte Tula-Virus (TULV) – ein Hantavirus aus der Feldmaus, für das bisher keine Humanpathogenität gezeigt wurde – konnten erstmalig Beweise für die klinische Relevanz der Infektion des Menschen gefunden werden. Unsere gegenwärtigen Untersuchungen konzentrieren sich sowohl auf die molekulare Verwandtschaft der in Deutschland nachgewiesenen Tula-Virusstämme als auch auf die klinische Bedeutung der Infektion.

Kooperationen: M. Labuda, Institut für Zoologie, Bratislava, Slowakei  
 B. Hjelle, University of New Mexico, Albuquerque, NM, USA  
 M. Schütt, Medizinische Klinik, Universitätsklinikum Lübeck  
 M. Rasche, Medizinische Fakultät, Universität Ulm

### **E. 3. Aufklärung der Domänenorganisation und Struktur der Restriktionsendonuklease *EcoRII***

Projektleiter: M. Reuter

Förderung: Deutsche Forschungsgemeinschaft, Universitäre Forschungsförderung

Typ-II-Restriktionsendonukleasen spalten DNA sequenzspezifisch und sind deshalb unentbehrliche Werkzeuge in der Molekularbiologie. Bisher sind weit über 3.000 dieser Enzyme identifiziert, die mehr als 200 verschiedene DNA-Sequenzen erkennen.

*EcoRII* ist eine Typ-II-E-Restriktionsendonuklease, die im Gegensatz zu Typ-II-Restriktionsendonukleasen, zwei Kopien ihrer Erkennungssequenz (5'CCA/TGG) binden muß, um katalytisch aktiv zu sein. Zur Wechselwirkung mit zwei entfernten Erkennungsstellen auf einem DNA-Molekül bildet *EcoRII* eine DNA-Schleife. Diese Eigenschaften erinnern an Enzyme, die an ortsspezifischer DNA-Rekombination und Transposition beteiligt sind. Partielle Homologie von *EcoRII* mit der Integrase-Familie der ortsspezifischen Rekombinasen unterstreicht eine mögliche entfernte Verwandtschaft dieser Enzyme.

Wir haben durch limitierte Proteolyse gefunden, daß *EcoRII* aus zwei funktionellen Domänen besteht. Die N-terminale Domäne bindet *EcoRII*-spezifisch DNA mit einer Affinität, die nur eine Größenordnung geringer ist als die des kompletten Enzyms. Die C-terminale Domäne hingegen spaltet DNA spezifisch und effizient, auch an singulären Erkennungsstellen. Sie enthält alle funktionellen Komponenten einer „normalen“ Typ-II-Restriktionsendonuklease. Offensichtlich bremst die N-terminale Domäne die katalytische Aktivität von *EcoRII* und vermittelt die Abhängigkeit von einem zweiten *EcoRII*-Erkennungsort – ein essentielles Merkmal von DNA-Rekombinationsenzymen. *EcoRII* könnte ein experimentelles Beispiel dafür sein, wie in der Natur Enzyme für neue Funktionen „umkonstruiert“ werden.

Die besondere Rolle der N-terminalen Domäne für die DNA-Bindung von *EcoRII* wurde durch den Nachweis des direkten Kontaktes der Aminosäure Tyr41 zum 5'C des 5'CCAGG-Stranges der Erkennungssequenz mittels „Photocross-linking“ unterstrichen. Die Interaktion von *EcoRII* mit seiner Erkennungssequenz ist asymmetrisch, da zu keiner Base des 5'CCTGG-Stranges der Erkennungssequenz eine Wechselwirkung zu detektieren war.

Die enzymatische Aktivität von *EcoRII* ist an das Vorhandensein einer intakten dimeren Struktur gebunden. Wir konnten mit synthetischen Peptiden zeigen, daß die stärksten Kontakte zwischen den monomeren *EcoRII*-Untereinheiten in der C-terminalen Domäne liegen, die auch für die endonukleolytische Reaktion entscheidend ist.

Kooperationen: V. Pingoud, A. Pingoud, Institut für Biochemie, Justus-Liebig-Universität Gießen  
 J. Behlke, G. Grelle, R. Kraft, Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin, Berlin  
 V. Siksnyš, Institut für Biotechnologie, Vilnius, Litauen  
 J. Schneider-Mergener, Institut für Medizinische Immunologie, Charité

#### **E. 4. DNA-Substraterkennung durch Typ-III-Restriktionsendonukleasen**

Projektleiter: D. H. Krüger, W. Messer (Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik), M. Reuter

Förderung: Deutsche Forschungsgemeinschaft, Universitäre Forschungsförderung

Die Restriktionsendonuklease *EcoP15I* wird von uns untersucht, um prinzipielle Gesetzmäßigkeiten, die der spezifischen Wechselwirkung von Proteinen mit der DNA zugrunde liegen, besser zu verstehen. DNA-Spaltung durch die Typ-III-Restriktionsendonuklease *EcoP15I* erfordert zwei invers orientierte asymmetrische Erkennungsorte (5'CAGCAG) im DNA-Molekül und findet nach ATP-abhängiger DNA-Translokation und Aufeinandertreffen zweier *EcoP15I*-Moleküle statt. Dabei wird der DNA-Doppelstrang 25-27 bp in 3' Richtung hinter einem der beiden Erkennungsorte gespalten. Wir haben gefunden, daß der Abstand zwischen den invers orientierten interaktiven *EcoP15I*-Erkennungsorten – ob mehrere tausend Basenpaare voneinander entfernt oder direkt benachbart – für die DNA-Spaltung eher von untergeordneter Bedeutung zu sein scheint. Diese Reaktionen implizieren eine hohe Flexibilität des Enzym-Substrat-Komplexes. Neue Einblicke in den Spaltmechanismus brachte die Abbildung einzelner *EcoP15I*-DNA-Komplexe während der Spaltreaktion mit dem Kraftfeldmikroskop.

Das DNA-bindende Protein DnaA, plaziert am *EcoP15I*-Spaltort oder zwischen zwei interagierenden *EcoP15I*-Erkennungsorten, wurde benutzt, um den Einfluß dieser Blockierung auf die Genauigkeit der *EcoP15I*-Spaltung zu untersuchen. Das DNA-



gebundene DnaA-Protein führte zu einer deutlich verringerten DNA-Spaltung durch *EcoP15I*, zeigte aber keine Wirkung auf die Position des Doppelstrangbruchs.

Verschiedene neurodegenerative Erkrankungen sind mit der Ablagerung von Proteinaggregaten in Nervenzellen verbunden. Die Fähigkeit der Proteinverklumpung ist an einen erblichen Defekt gekoppelt (überzählige Wiederholungen des Triplets CAG), der für einen Polyglutaminschwanz des jeweiligen Proteins codiert. Die Erkennungssequenz der Restriktionsendonuklease *EcoP15I* umfaßt zwei CAG-Triplets und wurde am Modell des Huntingtin-Gens zur quantitativen Bestimmung von CAG-Triplets eingesetzt. Mit dem Test, der auf der Restriktion Fluoreszenz-markierter DNA mit *EcoP15I* unter Beachtung definierter Enzym-DNA-Verhältnisse beruht, konnten wir sowohl die Anzahl der CAG-Wiederholungen, die bei gesunden Personen (bis etwa 37) als auch die bei Chorea Huntington-Patienten auftreten (38 bis >100), exakt bestimmen.

Kooperationen: E. E. Wanker, Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin, Berlin  
 F. Bläsing, H. Goehler, K. Schweiger, Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik, Berlin  
 I. Goessl, C. Eckert, J. P. Rabe, Institut für Physik der Humboldt-Universität zu Berlin

### **E.5. Die tolerogene Wirkung des viralen Interleukin-10 auf zytotoxische T-Zellen**

### **E.6. Immunevasion von Herpesviren durch Induktion von T-Zell-Apoptose**

Projektleiter: G. Schönrich

Förderung: Deutsche Forschungsgemeinschaft, Universitäre Forschungsförderung

Die Virus-Wirts-Beziehung ist von einer dynamischen Balance geprägt. Auf der einen Seite versucht das Immunsystem die Virusvermehrung zu unterdrücken und virusinfizierte körpereigene Zellen zu eliminieren, ohne daß der Organismus dabei geschädigt wird. Auf der anderen Seite haben Viren Maßnahmen entwickelt, um den antiviralen Mechanismen des Immunsystems zu entkommen (virale Immunevasion). Die virale Immunevasion folgt dabei drei grundsätzlichen Strategien: Flucht ("Escape"), Widerstand ("Resistance") und Gegenangriff ("Counterattack"). Beim "Escape" versuchen Viren die Detektion von infizierten Zellen durch Zellen der Immunabwehr zu unterbinden. Dagegen bedeutet "Resistance", daß virale Mechanismen den frühzeitigen Tod von infizierten Zellen verhindern, so daß eine effiziente Virusproduktion ermöglicht wird. Bei der "Counterattack" gelingt es Viren, die Zellen der Immunabwehr anzugreifen und physisch oder funktionell auszuschalten. Die Erforschung dieser viralen Strategien wird nicht nur dazu beitragen, virusinduzierte Krankheiten besser zu verstehen; sie wird vielmehr auch ein neues Licht auf die Arbeitsweise des Immunsystems werfen. Darüber hinaus kann die Medizin von den Viren auch lernen, wie unerwünschte

Immunreaktionen unterdrückt werden. Dieser Lernprozeß wird zu neuen immunmodulatorischen Therapieformen führen, die in der Transplantationsmedizin und bei der Behandlung von Autoimmunerkrankungen eingesetzt werden können.

Große DNA-Viren (Herpesviren, Pockenviren) haben Raubkopien von Genen ihres Wirtsorganismus angelegt und in ihre Erbinformation integriert. Die kopierten Wirtsgene kodieren für Schlüsselmoleküle des Immunsystems. Viren setzen nun die aufgrund der “gestohlenen” Bauanleitungen hergestellten Proteine so ein, daß sie der viralen Immunevasion dienen. Mit anderen Worten: Viren schlagen das Immunsystem mit seinen eigenen Waffen. Während der Evolution haben Viren die Raubkopien entsprechend dem aktuellen Stand der Virus-Wirts-Beziehung immer wieder verändert, so daß die Raubkopien den Ursprungsgenen des Wirtes nur noch mehr oder weniger ähnlich sind.

Vor kurzem wurde entdeckt, daß das humane Cytomegalievirus (HCMV) für verschiedene IL-10-ähnliche Moleküle kodiert (cmvIL10). Das IL10 stellt ein Zytokin des menschlichen Immunsystems dar, welches bei der Induktion von Toleranz gegenüber körpereigenen Antigenen eine wichtige Rolle spielt. Im Verlauf der Induktion von Selbsttoleranz werden gefährliche – gegen körpereigenes Gewebe gerichtete – T-Zellen der Immunabwehr physisch eliminiert oder funktionell inaktiviert. Daher ist unsere Arbeitshypothese, daß das viral kodierte IL10 der viralen “Counterattack” dient, indem es T-Zellen ausschaltet. Wir haben deshalb die unterschiedlichen cmvIL10-Gene in Expressionsvektoren kloniert, um die entsprechenden Proteine im Reagenzglas herzustellen. Gegenwärtig untersuchen wir, ob und wie die unterschiedlichen viralen IL10-Moleküle die Funktion von T-Zellen beeinflussen (E.5. Die tolerogene Wirkung des viralen Interleukin-10 auf zytotoxische T-Zellen).

Ein Ziel der cmvIL10-Moleküle könnten auch die Dendritischen Zellen (DCs) darstellen. Reife DCs können besonders effizient T-Lymphozyten aktivieren. Wegen ihrer Bedeutung für die T-Zell-Aktivierung sind DCs strategisch betrachtet ein ideales Ziel für Viren, die das Immunsystem ausschalten. Tatsächlich konnten wir nachweisen, daß das HCMV die DCs infiziert. Dabei reguliert das Virus die HLA-Moleküle auf der Oberfläche von DCs teilweise herunter, so daß weniger virales Antigen präsentiert wird. Dadurch werden die Viren weniger gut “sichtbar“ für die antiviralen T-Zellen. Da diese “Escape” Strategie nicht vollständig erfolgreich ist, induziert das Virus die Expression von Todesliganden (CD95L, TRAIL) auf der Oberfläche von DCs. Die HCMV-infizierten DCs töten nunmehr antivirale T-Zellen, indem sie über CD95 und TRAIL den programmierten Zelltod (Apoptose) auslösen. Außerdem inaktivieren virusinfizierte DCs die Funktion der T-Zellen, welche den Kontakt mit den Todesliganden überleben. Unsere Ergebnisse zeigen daher, daß HCMV sowohl die “Escape“- als auch die “Counterattack“-Strategie nutzt, um sich dem Zugriff des Immunsystems zu entziehen. Wir werden nun die zugrundeliegenden Mechanismen der virusinduzierten Hochregulation von Todesliganden erforschen und die daran beteiligten viralen Proteine identifizieren.

Im Gegensatz zu HCMV kann das Herpes-simplex-Virus (HSV) aktivierte T-Zellen direkt infizieren, obwohl es sich hauptsächlich in Epithelzellen der Haut bzw. Schleimhäute vermehrt. Dies führt zu einem Mechanismus der viralen "Counter-attack", die als Brudermord (Fratricid) bezeichnet wird, weil sich dabei die infizierten antiviralen T-Zellen gegenseitig in die Apoptose treiben. Die Apoptose wird beim HSV-induzierten Fratricid durch die Interaktion des Todesrezeptors CD95 mit seinem Liganden ausgelöst, die beide auf aktivierten T-Zellen vorhanden sind. Normalerweise sind jedoch frisch aktivierte T-Zellen resistent gegenüber Apoptose-Induktion. Deshalb nehmen wir an, daß das Virus infizierte T-Zellen für Todessignale sensibilisiert. Dieses virale "Competence-to-die"-Signal wird von uns gegenwärtig untersucht (E.6. Immunevasion von Herpesviren durch Induktion von T-Zell-Apoptose).

Kooperationen: P. Krammer, H. Walczak, Deutsches Krebsforschungszentrum Heidelberg  
 Y. Samstag, Institut für Immunologie, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg  
 I. Mohr, New York University School of Medicine, New York

## **E.7. Europäische Hantavirus-Vakzine**

Projektleiter: D. H. Krüger, R. Ulrich

Förderung: Europäische Union, Universitäre Forschungsförderung

### *1. Selektion und Primärklonierung von Hantavirus-Sequenzen für die Vakzineentwicklung*

Die Auswahl der humanpathogenen Hantavirus-Typen Puumalavirus (PUUV; Stämme Vranica/Hällnäs und Kazan) und Dobravavirus (DOBV) für die Entwicklung einer potentiellen europäischen Hantavirusvakzine wurde durch eigene umfangreiche epidemiologische Untersuchungen unterschiedlicher Serumpanels in Deutschland bestätigt (siehe Projekt E.10.). Desweiteren zeigte sich die Auswahl von zwei DOBV-Linien (DOBV-Af-Slovenia und DOBV-Aa-Saaremaa), die von unterschiedlichen Nagetieren [*Apodemus flavicollis* (Af) und *A. agrarius* (Aa)] getragen werden und wahrscheinlich unterschiedliche Pathogenität für den Menschen besitzen, als „homologe“ und „heterologe“ Vakzine (Infektionsmodell mit DOBV-Aa-Saaremaa beim Kooperationspartner Dr. Å. Lundkvist in Stockholm) als sinnvoll.

Für die Herstellung potentieller Vakzinen wurden die kodierenden Sequenzen für Nukleokapsidprotein und die Glykoproteine G1 und G2 der vier genannten Viren mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion amplifiziert, in *E. coli*-Vektoren kloniert und die Authentizität der DNA-Sequenzen überprüft. Die Sequenzen stehen somit für die Expression in heterologen Systemen, in Hefezellen als authentische Proteine und in *E. coli* zur Exposition an der Oberfläche von chimären Virus-ähnlichen Partikeln auf der

Basis von Hepatitis B Virus (HBV)-Core und Hamsterpolyomavirus-Hauptkapsidprotein VP1, zur Verfügung (siehe unten).

## *2. Herstellung einer potentiellen PUUV-Vakzine auf der Basis Hefe-exprimierter Nukleokapsidproteine*

Die kodierenden Sequenzen für authentisches und Hexahistidin-PUUV (Vranica/Hällnäs)-Nukleokapsidprotein wurden in ein Hefe-Expressionsplasmid unter Kontrolle eines regulierbaren Promoters kloniert. Die rekombinanten Proteine wurden in Hefezellen in großen Mengen synthetisiert und konnten mittels Cäsiumchlorid-Dichtegradientenzentrifugation bzw. Nickelchelatchromatographie mit großer Ausbeute gereinigt werden. Die Immunisierung von Rötelmäusen nach einem Standardprotokoll unter Verwendung von komplettem Freund'schem Adjuvans schützte 100 % der mit Hexahistidin-PUUV-Nukleokapsidprotein immunisierten Tiere komplett, während bei Immunisierung mit authentischem Nukleokapsidprotein nur in 2 von 6 Tieren eine komplette Protektion und in den restlichen 4 Tieren eine partielle Protektion induziert wurde. Bei Immunisierung mit Hexahistidin-PUUV-Nukleokapsidprotein unter Verwendung eines für humane Anwendungen zugelassenen Adjuvans (Aluminiumhydroxid) konnten 100 % der immunisierten Tiere zumindest partiell, 6 von 8 Tieren sogar komplett, vor einer nachfolgenden Virusinfektion geschützt werden.

## *3. Chimäre Virus-ähnliche Partikel mit Hantavirus-Epitopen*

Nachdem von uns bereits gezeigt werden konnte, daß das HBV-Core die Insertion von 120 Aminosäuren (AS) des PUUV-Nukleokapsidproteins in der oberflächenexponierten c/e1-Region des Coreproteins toleriert, konnten chimäre Corepartikel mit Insertionen von 120 AS der Nukleokapsidproteine des DOBV-Aa-Slovenia bzw. des Hantaanvirus (HTNV) hergestellt werden. Überraschenderweise konnte auch bei simultaner Insertion von 2 jeweils 120 AS langen Nukleokapsidprotein-Segmenten von unterschiedlichen Hantavirustypen (PUUV und HTNV) die Bildung chimärer Corepartikel gezeigt werden.

Immunisierungen von BALB/c-Mäusen mit chimären Corepartikeln, die 120 AS von PUUV-, DOBV- oder HTNV-Nukleokapsidprotein tragen, induzierten bei jedem getesteten Applikationsweg (subkutan, intramuskulär und intravenös) Core- und Hantavirus-spezifische Antikörper. Wie erwartet, zeigten die Seren von DOBV- und HTNV-Nukleokapsidprotein-immunisierten Tieren die stärkste Reaktivität mit den homologen Antigenen und eine geringere Reaktivität mit dem PUUV-Nukleokapsidprotein. Umgekehrt reagierten Seren von PUUV-Nukleokapsidprotein-vakzinieren Mäusen am stärksten mit PUUV-Nukleokapsidprotein und schwächer mit HTNV- und DOBV-Antigen. Unabhängig vom Applikationsweg waren die induzierten Antikörper allen IgG-Subtypen zuzuordnen, wobei jedoch die beobachtete IgG1-Antwort stärker als die IgG2a-Antwort war.

Unter Verwendung von chimären Corepartikeln mit PUUV-Nukleokapsidprotein-Segmenten wurden Epitop-Mapping-Studien unter Verwendung monoklonaler Antikörper

abgeschlossen. Die Mehrzahl der monoklonalen Antikörper ist gegen die N-terminale Region des PUUV-Nukleokapsidproteins gerichtet. Interessanterweise reagierte ein Antikörper mit der 45 AS langen N-terminalen Region des Nukleokapsidproteins des PUUV-Stammes CG 18-20, aber nicht mit der entsprechenden Region des Nukleokapsidproteins des PUUV-Stammes Vranica/Hällnäs. Die Reaktivität dieses Antikörpers mit der 45 AS langen N-terminalen Region des PUUV-Vranica/Hällnäs-Nukleokapsidproteins konnte durch *in vitro*-Mutagenese der AS-Position 35 wiederhergestellt werden. Da das PUUV-Vranica/Hällnäs-Nukleokapsidprotein-Segment (AS 1-45) auch eine im Vergleich zum entsprechenden CG18-20-Proteinsegment deutlich reduzierte Protektivität im Rötelmausmodell zeigte und der oben genannte monoklonale Antikörper bei passivem Transfer im Tiermodell eine Protektion vermittelt, vermuten wir, dass neben der zellulären auch eine humorale Immunantwort an der Nukleokapsidprotein-vermittelten Protektion beteiligt ist.

Nachdem das Hefe-exprimierte Hauptkapsidprotein VP1 des Hamsterpolyomavirus als ein neuartiger Träger für Fremdepitope etabliert worden ist und 4 potentielle Insertionsorte (zwischen den AS 81-88, 222/223, 244-246, 289-294) durch Insertion eines kurzen Peptidepitops identifiziert worden sind, wurden Experimente zur Insertion von 45 und 120 AS langen Segmenten des PUUV-Vranica/Hällnäs-Nukleokapsidproteins in die genannten Orte begonnen.

Kooperationen: Å. Lundkvist, K. Brus Sjölander, Swedish Institute for Infectious Disease Control and Department of Virology, Karolinska Institute, Stockholm, Schweden  
 K. Sasnauskas, A. Dargeviciute, A. Gedvilaite, Institut für Biotechnologie, Vilnius, Litauen  
 P. Pumpens, G. Borisova, D. Skrastina, V. Ose, I. Petrovskis, T. Voronkova, A. Kazaks, Biozentrum der Universität Lettlands, Riga  
 H. R. Gelderblom, M. Özel, Robert Koch-Institut, Berlin  
 S. Scherneck, B. Jandrig, Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin, Berlin  
 C. Frömmel, Institut für Biochemie, Charité  
 W. Arnold, Atugen, Berlin

### **E.8./E.9. Rolle der Sequenzheterogenität des Hepatitis B Virus in der Pathogenese der chronischen Hepatitiden unter Immunsuppression**

Projektleiter: H. Meisel, D. H. Krüger

Förderung: BMBF, Europäische Kommission, Universitäre Forschungsförderung

Wir untersuchen die Pathogenese der Leberzirrhose bei der chronischen Hepatitis B in immunsupprimierten Nierentransplantatempfängern. In der Vergangenheit hatten wir gezeigt, daß die Anreicherung und Persistenz von komplexen Hepatitis-B-Virus-Varianten mit Mutationen in verschiedenen Genabschnitten signifikant mit der Entwick-

lung einer Leberzirrhose assoziiert waren. Insbesondere wurden Deletionen und Insertionen in regulatorischen Nukleinsäure-Abschnitten sowie Deletionen in den Genen, die für das Nukleokapsid und die Oberflächenproteine kodieren, gefunden. Darüber hinaus spielen auch Aminosäureaustausche auf dem Coreprotein bei der Entwicklung der Leberzirrhose eine Rolle.

Durch transiente Transfektion von klonierter Hepatitis-B-Virus-DNA in eine humane Hepatomazelllinie (HuH 7) wurden nun repräsentative Variantengenome aus unterschiedlichen Stadien der Lebererkrankung funktionell charakterisiert. Da die Varianten zum größten Teil für ihre Vermehrung und Partikelbildung auf intakte Nukleokapsid- und Oberflächenproteine angewiesen sind, wurden Kotransfektionen mit einem Hepatitis-B-Virus-Wildtyp durchgeführt. In infizierten Patienten liegen Hepatitis-B-Virusvarianten zu jedem Zeitpunkt neben dem Wildtyp vor. Die untersuchten Hepatitis-B-Virus-Varianten wurden im Verlauf der Lebererkrankung zur Virus-Hauptpopulation. Im Ergebnis zeigten die Varianten einen neuen Phänotyp, der sich durch eine gestörte Proteinsekretion, veränderte Transkription und – abhängig vom Wildtyp-Anteil – deutlich gesteigerte Replikation auszeichnete.

Um der Frage nachzugehen, ob die verkürzten Nukleokapsidproteine (bedingt durch Deletionen im Core-Gen) die Replikation des Wildtyps beeinflussen, wurden die Core-Gene von ausgewählten Hepatitis-B-Virus-Varianten in einen Semliki-Forest-Virus-Vektor kloniert, der nach Infektion von Baby-Hamster-Nierenzellen zu einer starken Expression von einigen verkürzten Coreproteinen führte. In laufenden Arbeiten wird in diesem neuen System die Auswirkung der Coreprotein-Expression auf die Hepatitis-B-Virus-Wildtyp-Replikation untersucht.

Im *E. coli*-System wurde die Wechselwirkung von deletierten Coreproteinen und Wildtyp-Coreproteinen untersucht. Deletierte Coreproteine, denen in der immundominanten Region acht bzw. 17 Aminosäuren fehlen, bilden mit kompletten bzw. C-terminal verkürzten Coreproteinen Mosaikpartikel. Diese bestehen sowohl aus Homodimeren als auch aus Heterodimeren. Neueste Untersuchungen haben ergeben, daß bei den Mosaikpartikeln, die aus dem Coreprotein mit der acht Aminosäuren-Deletion und dem Wildtyp-Coreprotein bestehen, die Heterodimere dominieren. Im Gegensatz dazu kann diese Deletionsvariante allein, ohne Wildtypprotein, keine Nukleokapside bilden.

Kooperationen: H. Will, Allgemeine Virologie, Heinrich-Pette-Institut Hamburg  
 S. Günther, Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin Hamburg  
 H. Gelderblom, Robert-Koch-Institut Berlin  
 H. H. Neumayer, Klinik für Innere Medizin m. S. Nephrologie, Charité  
 P. Pumpens, A. Kazaks, A. Dishlers, Biozentrum der Universität  
 Lettlands, Riga  
 K. Sasnauskas, R. Razanskas, Institut für Biotechnologie, Vilnius,  
 Litauen  
 R. Neuhaus, P. Neuhaus, Klinik für Transplantationschirurgie, Charité  
 U. Hopf, Klinik für Gastroenterologie und Hepatologie, Charité

## **E.10. Prävalenz von Hantavirus-spezifischen Antikörpern in der deutschen Bevölkerung**

Projektleiter: H. Meisel, D. H. Krüger, M. Niedrig (Robert Koch-Institut), G. Pauli (Robert Koch-Institut)

Projektkoordination: J. Koch

Förderung: Bundesministerium für Gesundheit, Universitäre Forschungsförderung

Dieses Vorhaben beinhaltet die Etablierung neuer diagnostischer Tests zum Nachweis von Antikörpern gegen die verschiedenen Hantaviren, die in Deutschland prävalent sind, sowie die Bestimmung der Durchseuchung der Bevölkerung in Deutschland (epidemiologische Querschnittsstudie aufbauend auf dem Bundes-Gesundheitssurvey) und in Risikogruppen. Daraus sollen sich auch Aussagen zu Expositionsrisiken und geographischen Unterschieden der Durchseuchung der Bevölkerung mit unterschiedlichen Hantaviren ableiten lassen. Die Auswertung des Vorhabens ist gegenwärtig noch nicht abgeschlossen, und die Ergebnisse werden gesondert mitgeteilt.

## **F. Publikationen 2001**

### *F.1. Original- und Übersichtsarbeiten in referierten Zeitschriften*

**Foster AP, Brown PJ, Jandrig B, Grosch A, Voronkova T, Scherneck S, Ulrich R:**  
Polyomavirus infection in hamsters and trichoepitheliomas/cutaneous adnexal tumors.  
Veterinary Records, in press

**Heider H, Ziaja B, Priemer C, Lundkvist Å, Neyts J, Krüger DH, Ulrich R:**  
A chemiluminescence detection method of hantaviral antigens in neutralisation assays  
and inhibitor studies.  
J. Virol. Methods 96 (2001) 17-23

**Krüger DH, Ulrich R, Lundkvist Å:**  
Hantavirus infections and their prevention.  
Microbes Infect. 3 (2001) 1129-1144

**Leitmeyer K, Sibold C, Meisel H, Ulrich R, Labuda M, Krüger DH:**  
First molecular evidence for Puumala hantavirus in Slovakia.  
Virus Genes 23 (2001) 165-170

**Lin TI, Schroeder C:**  
Definitive assignment of proton selectivity and attoampere unitary current to the M2  
ion channel protein of influenza A virus.  
J. Virol. 75 (2001) 3647-3656

**Lundkvist Å, Meisel H, Koletzki D, Lankinen H, Cifire F, Geldmacher A, Sibold C,  
Gött P, Vaheri A, Krüger DH, Ulrich R:**  
Mapping of B-cell epitopes in the nucleocapsid protein of Puumala hantavirus.  
Viral Immunol., in press

**Mücke M, Pingoud V, Grelle G, Kraft R, Krüger DH, Reuter M:**  
Asymmetric photo-cross-linking pattern of restriction endonuclease *EcoRII* to the  
DNA recognition sequence.  
J. Biol. Chem., in press



**Mücke M, Reich S, Möncke-Buchner E, Reuter M, Krüger DH:**

DNA cleavage by type III restriction-modification enzyme *Eco*P15I is independent of spacer distance between two head to head oriented recognition sites.

J. Mol. Biol. 312 (2001) 687-698

**Plyusnin, A, Krüger DH, Lundkvist Å:**

Hantaviruses in Europe.

Adv. Virus Res. 57 (2001) 105-136

**Preikschat P, Günther S, Reinhold S, Will H, Budde K, Neumayer HH, Krüger DH, Meisel H:**

Complex HBV populations with mutations in core promoter, C gene, and pre-S region are associated with development of cirrhosis in long-term renal transplant recipients.

Hepatology 35 (2002) 466-477

**Prösch S, Heine AK, Volk HD, Krüger DH:**

CCAAT/enhancer-binding proteins  $\alpha$  and  $\beta$  negatively influence the capacity of tumor necrosis factor  $\alpha$  to upregulate the human cytomegalovirus IE1/2 enhancer/promoter by nuclear factor  $\kappa$ B during monocyte differentiation.

J. Biol. Chem. 276 (2001) 40712-40720

**Raftery MJ, Schwab M, Eibert SM, Samstag Y, Walczak H, Schönrich G:**

Targeting the function of mature dendritic cells by Human Cytomegalovirus: A multi-layered viral defense strategy.

Immunity 15 (2001) 997-1009

**Rüdiger M, Köpke U, Prösch S, Rauprich P, Wauer RR, Hertwig E:**

Effects of perfluorocarbons and perfluorocarbons/surfactant emulsion on growth and viability of group B streptococci and *Escherichia coli*.

Crit. Care Med. 29 (2001) 1786-1791

**Schütt M, Gerke P, Meisel H, Ulrich R, Krüger DH:**

Clinical characterization of Dobrava hantavirus infections in Germany.

Clin. Nephrol. 55 (2001) 371-374

**Sibold C, Ulrich R, Labuda M, Lundkvist Å, Martens H, Schütt M, Gerke P, Leitmeyer K, Meisel H, Krüger DH:**

Dobrava hantavirus causes hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) in central Europe and is carried by two different *Apodemus* mice species.

J. Med. Virol. 63 (2001) 158-167.

**Sominskaya I, Paulij W, Jansons J, Sobotta D, Dreilina D, Sunnen C, Meisel H, Gerlich WH, Pumpens P:**

Fine-mapping of the B-cell epitope domain at the N-terminus of the preS2 region of the hepatitis surface antigen.

J. Immunol. Methods 260 (2002) 251-261

**Thierfelder W, Meisel H, Schreiber E, Dortschy R, Hellenbrand W:**

Prevalence of markers for hepatitis A, B and C in the German population. Results of the German National Health Interview and Examination Survey 1998.

Eur. J. Epidemiol. 17 (2001) 429-435

## ***F.2. Buchbeiträge***

**Meisel H, Endres AS:**

GB Virus C/Hepatitis G Virus.

In: Lexikon der Infektionskrankheiten des Menschen (Darai G, Handermann M, Hinz E, Sonntag HG, Hrg.). Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-Wien, 2. Auflage, im Druck

**Meisel H, Endres AS, Krüger DH:**

Hepatitis B Virus.

In: Lexikon der Infektionskrankheiten des Menschen (Darai G, Handermann M, Hinz E, Sonntag HG, Hrg.). Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-Wien, 2. Auflage, im Druck

**Meisel H, Endres AS, Krüger DH:**

Hepatitis C Virus.

In: Lexikon der Infektionskrankheiten des Menschen (Darai G, Handermann M, Hinz E, Sonntag HG, Hrg.). Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-Wien, 2. Auflage, im Druck

**Meisel H, Endres AS, Krüger DH:**

Hepatitis D Virus.

In: Lexikon der Infektionskrankheiten des Menschen (Darai G, Handermann M, Hinz E, Sonntag HG, Hrg.). Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-Wien, 2. Auflage, im Druck

**Reuter M, Möncke-Buchner E:**

Analysis of Protein-DNA Interactions.

In: Springer Lab Manual 22: Peptide Arrays on Membrane Supports (Koch J, Mahler M, eds), Springer-Verlag Berlin-Heidelberg, in press

**Schönrich G:**

Seltene humanpathogene Flaviviren.

In: Lexikon der Infektionskrankheiten des Menschen (Darai G, Handermann M, Hinz E, Sonntag HG, Hrg.), Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-Wien, 2. Auflage, im Druck

**Schönrich G:**

Dengueviren.

In: Lexikon der Infektionskrankheiten des Menschen (Darai G, Handermann M, Hinz E, Sonntag HG, Hrg.), Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-Wien, 2. Auflage, im Druck

**Schönrich G:**

Gelbfieberevirus.

In: Lexikon der Infektionskrankheiten des Menschen (Darai G, Handermann M, Hinz E, Sonntag HG, Hrg.), Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-Wien, 2. Auflage, im Druck

**Schönrich G:**

Japanisches Enzephalitisvirus.

In: Lexikon der Infektionskrankheiten des Menschen (Darai G, Handermann M, Hinz E, Sonntag HG, Hrg.), Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-Wien, 2. Auflage, im Druck

**Schönrich G:**

Frühsommer-Meningoenzephalitis und Russische Frühjahrs-Sommer-Enzephalitis.

In: Lexikon der Infektionskrankheiten des Menschen (Darai G, Handermann M, Hinz E, Sonntag HG, Hrg.), Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-Wien, 2. Auflage, im Druck

***F.3. Miscellaneous*****Krüger DH:**

Der Sprung von der Maus zum Menschen: Hantavirus-Infektionen.

BioSpektrum 7 (2001) 34-36.

**Krüger DH:**

Poisson distribution to assess actinic keratoses in xeroderma pigmentosum (correspondence).  
Lancet 358 (2001) 925-926

**Krüger DH (Mitwirkung):**

Diagnostik und Behandlung HIV diskordanter Paare mit Kinderwunsch (korresp.  
Autoren: Weigel M, Brockmeyer NH).  
Dt. Ärztebl. 98 (2001) A2648-2652

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

„Emerging viruses“: Hantavirus-Infektionen als Ursache des akuten Nierenversagens.  
Dt. Ärztebl., im Druck

**Ulrich R, Grosch A, Arnold W, Özel M, Scherneck S:**

Neuartige Träger für die Impfstoffentwicklung – Polyomavirus-abgeleitete Virus-ähnliche Partikel.  
Humboldt-Spektrum 2/2001, 4-12

## **G. Vorträge, Poster, Abstractpublikationen 2001**

### *G.1. Fachtagungen und Gasteinladungen*

**Beutler T, Lienicke U, Priemer C, Krüger DH, Wauer R, Prösch S:**

Infektionen mit dem humanen Cytomegalievirus und Adenoviren in Frühgeborenen: In vitro Hemmung der EGF-Rezeptor-Expression in Lungenfibroblasten durch HCMV. Abstr. Jahrestagung der Gesellschaft für Virologie, Dresden, März 2001, S. 113

**Beutler T, Lienicke U, Priemer C, Krüger DH, Wauer R, Prösch S:**

Pathogenesis of Human Cytomegalovirus (HCMV) lung infection: HCMV downregulates expression of the epidermal growth factor receptor on human lung fibroblasts. Abstr. 26<sup>th</sup> International Herpesvirus Workshop, Regensburg, Juli/Aug. 2001, 12.22

**Beutler T, Priemer C, Krüger DH, Wauer RR, Prösch S:**

Pathogenesis of Human Cytomegalovirus (HCMV) infection: HCMV downregulates expression of the epidermal growth factor receptor on human lung fibroblasts. Abstr. 12<sup>th</sup> European Students' Conference at Charité, Berlin, Nov. 2001, Inf 140 P

**Dargeviciute A, Brus Sjölander K, Sasnauskas K, Krüger DH, Meisel H, Lundkvist Å, Ulrich R:**

Yeast-expressed Puumala virus nucleocapsid protein as a potential hantavirus vaccine. Abstr. 3<sup>rd</sup> International Workshop „Virus-like particles as vaccines“, Charité, Berlin, Sept. 2001, p. 16

**Dargeviciute A, Brus-Sjölander K, Sasnauskas K, Krüger DH, Meisel H, Lundkvist Å, Ulrich R:**

Yeast-expressed Puumala virus nucleocapsid protein as a potential hantavirus vaccine. Abstr. European Meeting on Viral Zoonoses, St. Raphaël, France, Oct. 2001, p. 49

**Endres AS, Kostka A, Hopf U, Neuhaus R, Neuhaus P, Krüger DH, Meisel H:**

Sequenzevolution von Hepatitis B Virus Wildtyp und C Gen Deletionsvariante bei rekurrerender Hepatitis B unter antiviraler Therapie nach Lebertransplantation. Abstr. Jahrestagung der Gesellschaft für Virologie, Dresden, März 2001, S. 418

**Gedvilaite A, Sasnauskas K, Frömmel C, Micheel B, Scherneck S, Ulrich R:**  
 High capacity of hamster polyomavirus major capsid protein for insertion of foreign peptides:  
 Abstr. EMBO Workshop The Structural Biology of Small DNA Tumor Viruses, Siena, Italy, May 2001, p. 5

**Gedvilaite A, Sasnauskas K, Frömmel C, Micheel B, Scherneck S, Ulrich R:**  
 Hamster polyomavirus major capsid protein VLPs as a carrier of foreign epitopes.  
 Abstr. 3<sup>rd</sup> International Workshop „Virus-like particles as vaccines“, Charité, Berlin, Sept. 2001, p. 18

**Geldmacher A, Lundkvist Å, Koletzki D, Skrastina D, Borisova G, Petrovskis I, Ose V, Brus Sjölander K, Gelderblom HR, Meisel H, Krüger DH, Pumpens P, Ulrich R:**  
 Chimeric hepatitis B virus core particles as potential vaccines against hantavirus infections.  
 Abstr. 3<sup>rd</sup> International Workshop „Virus-like particles as vaccines“, Charité, Berlin, Sept. 2001, p. 17

**Heider H, Ziaja B, Priemer C, Lundkvist Å, Neyts J, Krüger DH, Ulrich R:**  
 A chemiluminescence detection method of hantaviral antigens in neutralisation assays and inhibitor studies.  
 Abstr. Jahrestagung der Gesellschaft für Virologie, Dresden, März 2001, S. 211

**Heider H, Ziaja B, Priemer C, Lundkvist Å, Neyts J, Meisel H, Krüger DH, Ulrich R:**  
 A chemiluminescence detection method of hantaviral antigens in neutralisation assays and inhibitor studies.  
 Abstr. 5<sup>th</sup> International Conference on Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome, Hanta-virus Pulmonary Syndrome and Hantaviruses, Annecy, France, June 2001, p. 220

**Kazaks A, Dishlers A, Preikschat P, Pumpens P, Krüger DH, Meisel H:**  
 Construction and characterization of mosaic HBV core particles.  
 Abstr. 3<sup>rd</sup> International Workshop „Virus-like particles as vaccines“, Charité, Berlin, Sept. 2001, p. 35

**Kraus AA, Ulrich R, Ziaja B, Krüger DH, Suttorp N:**  
 Infektionsmodell für Hantaviren in primären humanen Endothelzellen (HUVEC).  
 Abstr. Jahrestagung der Gesellschaft für Virologie, Dresden, März 2001, S. 119

**Krüger DH:**

Molekulare Diversität und Humanpathogenität der Hantaviren.

Wiss. Kolloquium am Klinikum der Universität Rostock, Okt.2001

**Krüger DH, Labuda M, Dargeviciute A, Lundkvist Å, Ulrich R, Meisel H:**

Hantavirus infections in Central Europe: HFRS cases due to Dobrava virus infection and demonstration of a virus lineage (DOBV-Aa) in *Apodemus agrarius*.

Abstr. 5<sup>th</sup> International Conference on Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome, Hantavirus Pulmonary Syndrome and Hantaviruses, Annecy, France, June 2001, p. 97

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

Hantaviruses in Central Europe.

Abstr. Jahrestagung der Gesellschaft für Virologie, Dresden, März 2001, S. 433

**Lundkvist Å, Meisel H, Koletzki D, Lankinen H, Cifire F, Geldmacher A, Sibold C, Gött, P, Vaheri A, Krüger DH, Ulrich R:**

Mapping of B-cell epitopes in the nucleocapsid protein of Puumala hantavirus.

Abstr. 5<sup>th</sup> International Conference on Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome, Hantavirus Pulmonary Syndrome and Hantaviruses, Annecy, France, June 2001, p. 229

**Märsch S, Endres AS, Meisel H:**

Functional analysis of complex HBV mutants derived from an immunosuppressed patient with end stage liver disease

Abstr. 12<sup>th</sup> European Students' Conference, Berlin, Nov. 2001

**Mantke OD, Meyer R, Pregla R, Prösch S, Schreier E, de By TMMH, Hetzer R, Niedrig M:**

Prevalence of cardiotropic viruses in cardiac transplant recipients and donor hearts – What does it mean for heart valve banking?

Symposium on the Future of Heart Valve Banking, Berlin, 6./7. Dez. 2001

**Meisel H:**

Langzeitassoziation komplexer HBV-Mutantenpopulationen mit Leberzirrhose in immunsupprimierten Transplantationspatienten.

Wiss. Kolloquium bei Roche Diagnostics GmbH, Penzberg, Sept. 2001

**Meisel H:**

Natürlicher Verlauf der Hepatitis C.

Workshop HIV und Hepatitis, Bad Godesberg, Okt. 2001

**Meisel H, Dargeviciute A, Ulrich R, Kazaks A, Sasnauskas K, Reip A, Lundkvist Å, Krüger DH:**

Rekombinante Enzymimmunoassays zum Nachweis von Hantavirus-spezifischen IgG-, IgM- und IgA-Antikörpern.

Abstr. Jahrestagung der Gesellschaft für Virologie, Dresden, März 2001, S. 12

**Meisel H, Reip A:**

EBV-Diagnostik bei immunsupprimierten Patienten

Kolloquium an der Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Nephrologie, Charité, Mai 2001

**Meisel H, Reip A, Möller B, Berg T, Hopf U:**

HCV Qualitative Assay (TMA™) – A new standard for improving patient management.

Symposium Pan American Society for Clinical Virology (PASCV), Clearwater, Florida, USA, April 2001

**Mücke M, Pingoud V, Kraft R, Krüger DH, Reuter M:**

Asymmetric photo-cross-linking pattern of restriction endonuclease *EcoRII* to the DNA recognition sequence.

27<sup>th</sup> FEBS Meeting, Lisbon, July 2001

**Plauth M, Meisel H, Langecker P, Moran M, Lang W, Blanchett D, Jetschmann JH, Brack J, von Wussow P:**

Open-label phase II study of Omega Interferon in previously untreated HCV infected patients.

Abstr. AASLD 52<sup>nd</sup> Annual Meeting, Dallas, USA, Nov. 2001

**Prösch S:**

Differenzierungsabhängige Regulation des humanen Cytomegalievirus.

Wiss. Kolloquium am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Institut für Med. Biochemie und Molekularbiologie, Jan. 2001

**Prösch S:**

Molecular mechanisms of CMV reactivation.

26<sup>th</sup> International Herpesvirus Workshop, Regensburg, Juli/Aug. 2001

**Prösch S:**

HCMV-Infektionen bei Frühgeborenen und BPD.

Wiss. Kolloquium am Institut für Immunologie, Charité, Berlin, Dez. 2001



**Raftery M, Schwab M, Schönrich G:**

Human cytomegalovirus infection of dendritic cells results in multilayered protection against immune attack via nested defence mechanisms.

International Symposium on Immunomodulation by Parasites, Berlin, April 2001

**Raftery MJ, Schwab M, Walczak H, Schönrich G:**

Human Cytomegalovirus utilises multilayered immune-evasion mechanisms during infection of mature dendritic cells.

Abstr. Jahrestagung der Gesellschaft für Virologie, Dresden, März 2001, S. 168

**Reich S, Möncke-Buchner E, Mücke M, Reuter M, Messer W, Wanker EE, Krüger DH:**

Restriction endonuclease *Eco*P15 I cleaves CAG repeats in the Huntingtons's Disease gene.

27<sup>th</sup> FEBS Meeting, Lisbon, July 2001

**Reip A, Meisel H:**

Möglichkeiten und Grenzen moderner virologischer Diagnostik.

Symposium „Virusinfektionen bei der hämatopoetischen Stammzelltransplantation“, Universitätsklinikum Dresden, März 2001

**Reip A, Meisel H, Väth A:**

Etablierung einer Methode zur vollautomatischen Liquordiagnostik.

Wiss. Kolloquium bei Dade Behring, Marburg, März 2001

**Sasnauskas K, Bulavaite A, Hale A, Jin L, Dargeviciute A, Bartkeviciute D, Gedvilaite A, Staniulis J, Ulrich R:**

Generation of recombinant virus-like particles of different polyomaviruses in yeast.

Abstr. 3<sup>rd</sup> International Workshop „Virus-like particles as vaccines“, Charité, Berlin, Sept. 2001, p. 10

**Schönrich G:**

Dendritische Zellen: Garant oder Achillesferse der antiviralen Immunabwehr?

Wiss. Kolloquium TU München, Okt. 2001

**Ulrich R:**

Hantavirus infections in Europe: Development of diagnostics and vaccines.

Wiss. Kolloquium am Institute of Biotechnology, Vilnius, Litauen, Juli 2001

**Ulrich R:**

Hantavirus infections in Europe: Development of diagnostics and vaccines.

Wiss. Kolloquium am Biomedical Research and Study Centre, Riga, Lettland, Juli 2001

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

Virus-like particles as potential vaccines against hantavirus infections.

Abstr. 5<sup>th</sup> International Conference on Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome, Hantavirus Pulmonary Syndrome and Hantaviruses, Annecy, France, June 2001, p. 133

**Ulrich R, Voronkova T, Sasnauskas K, Jandrig B, Gedvilaite A, Hassen Siray, Frömmel C, Schneider-Mergener J, Özel M, Scherneck S:**

Virus-like particles based on the hamster polyomavirus major capsid protein: Identification of potential insertion sites for foreign sequences.

Abstr. EMBO Workshop The Structural Biology of Small DNA Tumor Viruses, Siena, Italy, May 2001, p. 4

**Voronkova T, Özel M, Kazaks A, Pumpens P, Dislers A, Ose V, Scherneck S, Ulrich R:**

*In vitro* encapsidation of foreign DNA by virus-like particles based on the E. coli expressed hamster polyomavirus major capsid protein.

Abstr. EMBO Workshop The Structural Biology of Small DNA Tumor Viruses, Siena, Italy, May 2001, p. 1

## ***G.2. Öffentlichkeitsarbeit***

### **Krüger DH:**

Gefahren durch BSE.

Rotary Club Berlin, Jan. 2001

### **Krüger DH:**

Herpesvirus-Infektionen beim Menschen.

Interview Ostdeutscher Rundfunk Brandenburg (ORB), Feb. 2001

### **Krüger DH, Ulrich R:**

Die Erreger neu zusammengesetzt – Neue Wege in der Entwicklung von Impfstoffen.

Interview mit der Berliner Morgenpost, Sept. 2001

## H. Öffentliche Institutskolloquien/Gastvorlesungen des Jahres 2001

| Datum  | Referent   | Thema  |
|--------|--|--|
| 31.01. | <b>Lutz Gürtler</b><br>Institut für Med. Mikrobiologie, Universität Greifswald   | Konsequenzen aus dem Auftreten der varianten Creutzfeld-Jacob-Krankheit  |
| 23.03. | <b>Klaus Cichutek</b><br>Paul-Ehrlich-Institut, Langen   | Entwicklung retroviraler Zelltargeting-Vektoren  |
| 28.03. | <b>Ulrich H. Koszinowski</b><br>Max-von-Pettenkofer-Institut, Universität München  | BAC cloned genomes – New tools for herpesvirus analysis<br><b>Gemeinsam mit SFB 421</b>  |
| 09.05. | <b>Rolf Kaiser/Joachim Selbig</b><br>Institut für Virologie, Köln/Forschungszentrum Informationstechnologie St. Augustin | HIV-Resistenztestung   |
| 16.05. | <b>Toni Aebischer</b><br>Max-Planck-Institut für Infektionsbiologie, Berlin  | Vakzinierungsstrategien am Beispiel der Entwicklung einer anti- <i>Helicobacter pylori</i> -Vakzine und anti-Leishmaniose-Vakzinen |
| 23.05. | <b>Bettina Gröschel</b><br>Institut für Med. Virologie, Johann-Wolfgang-Goethe-Universität Frankfurt am Main             | Diagnostik der HIV-Therapie-Resistenz: Ist eine HIV-Resistenztestung bei HAART-Respondern sinnvoll?                                |
| 28.05. | <b>Stephan Günther</b><br>Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin, Hamburg   | Importierte Lassavirusinfektionen in Deutschland: Molekulare Epidemiologie   |
| 30.05. | <b>Volker Bruß</b><br>Zentrum Hygiene und Humangenetik, Abt. Med. Mikrobiologie, Universität Göttingen                   | Morphogenese des Hepatitis-B-Virus   |
| 06.06. | <b>Thorsten Wolff</b><br>Robert-Koch-Institut, Berlin  | Von jungen und alten Negativstrang-RNA-Viren: Molekulare Aspekte von Influenza- und Bornavirusinfektionen                          |
| 07.06. | <b>Kristina Dörries</b><br>Institut für Virologie und Immunbiologie, Universität Würzburg                                | Persistierende Infektionen durch Humane Polyomaviren   |

| <b>Datum</b> | <b>Referent</b>   | <b>Thema</b>  |
|--------------|---|---|
| 04.07.       | <b>Joachim Denner</b><br>Robert-Koch-Institut, Berlin   | Endogene Retroviren bei Mensch und Schwein: Rolle bei der Tumorentstehung und Implikationen für die Xenotransplantation |
| 18.07.       | <b>Grayson B. Lipford</b><br>Institut für Med. Mikrobiologie und Immunologie, TU München              | Immunostimulatory CpG-DNA: TLR9 and mechanisms of action  |
| 21.11.       | <b>Achim Leutz</b><br>Max-Delbrück-Centrum, Berlin  | CCAAT Enhancer Binding Proteine (C/EBP): Modulare Genregulatoren der Zelldifferenzierung und der Zellteilung            |
| 05.12.       | <b>Gabriele Pecher</b><br>Med. Klinik m. S. Onkologie und Hämatologie, Universitätsklinikum Charité   | DNA-basierte Tumorstimmulierung   |
| 12.12.       | <b>Rüdiger Raue</b><br>Institut für Virologie, Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig | Reverse Genetics bei Doppelstrang-RNA-Viren, dargestellt am Beispiel des Virus der infektiösen Bursitis                 |

## **I. Ehrungen, Neuwahl in wissenschaftliche/berufsständische Gremien in 2001**

### **Krüger, Detlev H:**

Mitglied des Beirates, Gesellschaft für Virologie

Mitglied des Beirates, Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie

Council Member, International Society for Hantaviruses and Hantavirus Diseases

Stellv. Vorsitzender, Landeskonzferenz der Ärztlichen Direktoren, Leiter der Kliniken, Institute und Abteilungen der Universitäten im Land Berlin

### **Märschitz, Stefanie**

Session winner „Infectious Diseases“, 12<sup>th</sup> European Students' Conference at Charité, Berlin

## Anlage 2

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

#### Sommersemester 2001

- 40 173 Medizinische Mikrobiologie einschl. Virologie (1. klin. Sem. HM)**  
 VL Di 10:00-11:30 wöch. DOR 94 D. H. Krüger  
 Mi 12:00-13:30 wöch. DOR 94
- 40 174 Mikrobiologie/Virologie (2. klin. Sem. HM)**  
 KU Mo-Fr 10 x 6 Std. 14tgl. DOR 94  
 S. Prösch,  
 H. Heider, J. Jantschak,  
 D. H. Krüger, M. Meisel,  
 S. Neifer, M. Niedrig a. G.,  
 A. Reip, M. Reuter,  
 S. Scherneck a. G.,  
 G. Schönrich, R. Ulrich
- 40 175 Med. Mikrobiologie/Virologie (2. Stdj. MP/PP - Präsenzstudium)**  
 VL n. V. n. V. mtl. ZI 5 H. Heider
- 40 176 Med. Mikrobiologie/Virologie (3. Stdj. MP/PP, BF)**  
 VL n. V. n. V. mtl. ZI 5 H. Heider
- 40 177 Allgemeine und molekulare Virologie (DB)**  
 VL n. V. n. V. n. V. n. V. M. Reuter,  
 M. Baier a. G., H. Heider,  
 D. H. Krüger, H. Meisel,  
 S. Prösch,  
 S. Scherneck a. G.,  
 R. Ulrich
- 40 178 Allgemeine und molekulare Virologie (DB)**  
 KU n. V. n. V. 14täg. PH 12  
 H. Meisel, H. Heider,  
 D. H. Krüger, C. Priemer,  
 S. Prösch, A. Reip,  
 M. Reuter, R. Ulrich
- 40 130 Medizinische Mikrobiologie einschl. Virologie (6. Sem. ZM)**  
 VL n. V. 2 Std. wöch. n. V. D. H. Krüger
- 40 179 Mikrobiologie/Virologie (7. Sem. ZM)**  
 KU Mo-Fr n. V. n. V. DOR 94  
 H. Heider, S. Prösch,  
 G. Schönrich, R. Ulrich
- 401030 Probleme der medizinischen und molekularen Virologie (fak.)**  
 SE Do 16-18 n. V. S 20-VI D. H. Krüger, R. Ulrich u. a.
- 401031 Klonierung und Expression viraler Gene (6. Sem. DB)**  
 KU n. V. n. V. ganztäg. n. V. R. Ulrich

Wintersemester 2001/2002

- 40 173 Medizinische Mikrobiologie einschl. Virologie (1. klin. Sem. HM)**  
 VL Di 10:00-11:30 wöch. DOR D. H. Krüger  
 94  
 Mi 12:00-13:00 wöch. DOR  
 94
- 40 174 Mikrobiologie/Virologie (2. klin. Sem. HM)**  
 KU Mo-Fr 10 x 6 Std. 14täg. DOR S. Prösch, H. Heider,  
 94 J. Jantschak, D. H. Krüger  
 H. Meisel, S. Neifer,  
 M. Niedrig a. G., A. Reip,  
 M. Reuter, S. Scherneck a.  
 G.,  
 G. Schönrich, R. Ulrich
- 40 175 Mikrobiologie/Virologie (2. Stdj. MP/PP - Präsenzstudium)**  
 VL n. V. n. V. mtl. ZI 5 H. Heider
- 40 176 Mikrobiologie/Virologie (3. Stdj. MP/PP; BF)**  
 VL n. V. n. V. mtl. ZI 5 H. Heider
- 40 177 Allgemeine und molekulare Virologie (DB)**  
 VL n. V. n. V. n. V. n. V. M. Reuter, M. Baier a. G.,  
 H. Heider, D. H. Krüger,  
 H. Meisel, S. Prösch,  
 S. Scherneck a. G., R. Ulrich
- 40 178 Allgemeine und molekulare Virologie (DB)**  
 KU n. V. n. V. 14täg. PH 12 H. Meisel, H. Heider,  
 D. H. Krüger, C. Priemer,  
 S. Prösch, A. Reip,  
 M. Reuter, R. Ulrich
- 40 179 Mikrobiologie/Virologie (7. Sem. ZM)**  
 KU Mo-Fr n. V. n. V. DOR H. Heider, S. Prösch,  
 94 G. Schönrich, R. Ulrich
- 40 1012 Probleme der medizinischen und molekularen Virologie (fak.)**  
 SE Do 16.00-18.00 n. V. S 20-VI D. H. Krüger, R. Ulrich u. a.
- 40 1013 Klonierung und Expression viraler Gene (DB, 6. Sem.)**  
 KU n. V. ganztägig 14täg. n. V. R. Ulrich



## Anlage 4

### *„Seminarsprecher des Jahres“ des Institutes für 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                 |
| 1999 | T. F. Meyer, Tübingen/Berlin    |
| 2000 | K. Hamprecht, Tübingen          |
| 2001 | L. Gürtler, Greifswald          |

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



*Charité*

# 3<sup>rd</sup> International Workshop

## "Virus-like particles as vaccines"

Berlin, Charité Medical School, September 26-29, 2001

organized by

Medizinische Fakultät Charité, Humboldt-Universität Berlin  
Deutsche Forschungsgemeinschaft  
Deutsche Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten  
Gesellschaft für Virologie  
Robert-Koch-Institut  
European Commission  
SFB 421



September 26

## Program

### 3<sup>rd</sup> International Workshop "Virus-like particles as vaccines" Berlin, September 26-29, 2001

#### *Wednesday, September 26, 2001*

Lecture Hall, Kaiserin-Friedrich-Stiftung near Charité, Robert-Koch-Platz 7

#### **Opening**

14:00-14:15 D. H. Krüger, Director of the Institute of Virology  
C. Frömmel, Dean for Science and Research of the Charité  
R. Ulrich, Organizer

#### **Opening session**

Chair: M.F. Bachmann, M.R. Hilleman

14:15-15:00 Overview of the needs and realities for developing new and improved vaccines during the twenty-first century M.R. Hilleman (West Point, PA)

15:00-15:45 New vaccines for the poor – solutions for the 21<sup>st</sup> century U. Fruth (WHO, Geneva)

#### **Coffee break**

16:30-17:15 Immunological basis for vaccine development M.F. Bachmann (Zurich)

17:15-18:00 Quality and safety of vaccines M. Pfeleiderer (Langen)

**18:00-20:00 Get-together party**



September 27

## **Thursday, September 27, 2001**

**Lecture Hall, Kaiserin-Friedrich-Stiftung near Charité, Robert-Koch-Platz 7**

### **Session on Vaccines against Human Papilloma Viruses**

Chair: L. Gissmann, J. Dillner

|            |  |                                |
|------------|--|--------------------------------|
| 9:00-9:40  | HPV and cervical cancer: Concept of carcinogenesis             | P.J.F. Snijders<br>(Amsterdam) |
| 9:40-10:20 | Epidemiology and immunology of human papillomavirus infections | J. Dillner<br>(Malmö)          |

### **Coffee break**

|             |   |                             |
|-------------|---|-----------------------------|
| 11:00-11:20 | Interaction of HPV 16 L1/E7 CVLPs with immune cells                                 | L. Gissmann<br>(Heidelberg) |
| 11:20-11:40 | Genetic immunization using the HPV 16 L1 gene                                       | C. Leder<br>(Heidelberg)    |
| 11:40-12:00 | Immune responses to human papillomavirus type 16 virus-like particles               | V. Revaz<br>(Lausanne)      |
| 12:00-12:20 | Generation of recombinant virus-like particles of different polyomaviruses in yeast | K. Sasnauskas<br>(Vilnius)  |
| 12:20-12:40 | Immunogenicity of polyomaviral VLP in rodents and non-human primates                | C. Goldmann<br>(Göttingen)  |



### **Lunch**

### **Session on Vaccines against hantaviruses**

Chair: D. H. Krüger, A. Vaheri

|             |   |                             |
|-------------|---|-----------------------------|
| 15:00-15:40 | Molecular biology and pathogenesis of hantavirus infections | A. Vaheri<br>(Helsinki)     |
| 15:40-16:20 | Epidemiology and immunology of hantavirus infections        | Å. Lundkvist<br>(Stockholm) |

### **Coffee break**



September 27

|             |  |                                |
|-------------|--|--------------------------------|
| 17:00-17:20 | Genetic vaccines that protect against Sin Nombre virus challenge in the deer mouse ( <i>Peromyscus maniculatus</i> ) model | B. Hjelle<br>(Albuquerque, NM) |
| 17:20-17:40 | Yeast-expressed Puumala virus nucleocapsid protein as a potential hantavirus vaccine                                       | R. Ulrich (Berlin)             |
| 17:40-18:00 | Chimeric hepatitis B virus core particles as potential vaccines against hantavirus infections                              | A. Geldmacher<br>(Berlin)      |
| 18:00-18:20 | Hamster polyomavirus major capsid protein VLPs as a carrier of foreign epitopes  | A. Gedvilaite<br>(Vilnius)     |
| 18:20-18:40 | Expression of hantaviral proteins in plants as potential vaccine against hantavirus infections                             | A. Rösen-Wolff<br>(Dresden)    |



September 28

## **Friday, September 28, 2001**

### **Lecture Hall, Clinic of Neurology, Charité**

#### **Session on Vaccines against HIV**

Chair: H. Wolf, R. Kurth

|            |  |                                  |
|------------|--|----------------------------------|
| 9:00-9:40  | Assembly and release of HIV and HIV-like particles | H.-G. Kräusslich<br>(Heidelberg) |
| 9:40-10:20 | Epidemiology and immunology of HIV infections      | U. Marcus<br>(Berlin)            |

#### **Coffee break**

|             |   |                             |
|-------------|---|-----------------------------|
| 10:45-11:05 | Molecular epidemiology and cluster research: Necessary prerequisites for the development of successful HIV-1 candidate vaccines | H. Wolf<br>(Regensburg)     |
| 11:05-11:25 | Development of an HIV vaccine for Kenya: Progress report on a clinical trial  | T. Hanke<br>(Oxford)        |
| 11:25-11:45 | Virus-like particle- and DNA-based HIV-1 candidate vaccines: Novel vaccination strategies to induce Th-1 type immune responses  | R. Wagner<br>(Regensburg)   |
| 11:45-12:05 | Vaccine development using the Simian Immunodeficiency Virus model for AIDS  | S. Norley<br>(Berlin)       |
| 12:05-12:20 | Construction of artificial virus-like particles exposing HIV-1 epitopes   | A.A. Ilyichev<br>(Koltsovo) |

#### **Lunch**



September 28

**Session on vaccines against Hepatitis B Virus**

Chair: M. Kann, P. Pumpens

|             |  |                         |
|-------------|--|-------------------------|
| 14:30-15:10 | Molecular biology and pathogenesis of hepatitis B virus infections | M. Nassal<br>(Freiburg) |
| 15:10-15:50 | Epidemiology and immunology of HBV infections                      | P. Pumpens<br>(Riga)    |

**Coffee break**

|             |   |                             |
|-------------|---|-----------------------------|
| 16:15-16:35 | The hepatitis B virus capsid allows the transport of encapsidated DNA into the nucleus  | M. Kann<br>(Gießen)         |
| 16:35-16:55 | Construction of human hepatitis B viruses carrying the putative virus receptor ligand (pre-S1 domain) of a woodchuck hepatitis virus                        | V. Bruß<br>(Göttingen)      |
| 16:55-17:15 | Protective and therapeutic effect of WHsAg vaccination in woodchucks: Breaking of T cell tolerance in chronic WHV infection                                 | S. Menne<br>(Ithaca, NY)    |
| 17:15-17:35 | Nanogram amounts of nucleic acids delivered by virus-like particles stimulate the innate immune system to promote induction of stable adaptive Th1 immunity | R. Schirmbeck<br>(Ulm)      |
| 17:35-17:50 | Construction and characterization of mosaic HBV core particles  | A. Kazaks<br>(Riga)         |
| 17:50-18:05 | Towards an improved <i>Salmonella</i> -based hepatitis B surface antigen DNA vaccine  | H. Loessner<br>(Berlin)     |
| 18:05-18:20 | Recombinant attenuated <i>Salmonella</i> for delivery of HIV-1 and HBV antigens   | L.I. Karpenko<br>(Koltsovo) |

**19:00 Reception in the Naturkundemuseum (Museum of Natural History)**



September 29

**Saturday, September 29, 2001****Lecture Hall, Clinic of Neurology, Charité****Session on vaccines against other viruses and pathogens**

Chair: G. Lomonossoff, W. Fiers

|             |   |                              |
|-------------|---|------------------------------|
| 9:00-9:20   | Recombinant, broad-spectrum influenza A vaccines  | W. Fiers (Ghent)             |
| 9:20-9:40   | Rotavirus VLPs: Induction of protective immunity  | M.E. Conner<br>(Houston, TX) |
| 9:40-10:00  | Structure-based design of vaccines and "active" biomaterials with an icosahedral virus                | T. Lin (La Jolla, CA)        |
| 10:00-10:20 | Conversion of poorly immunogenic malaria repeat sequences into a highly immunogenic vaccine candidate | M. Sällberg<br>(Huddinge)    |

**Coffee break**

|             |   |                              |
|-------------|---|------------------------------|
| 11:00-11:20 | Norwalk virus-like particle vaccines: challenges and progress                                   | M.E. Conner<br>(Houston, TX) |
| 11:20-11:40 | Study of the genetic variation of chimeras between a plant RNA virus and animal virus sequences | C. Porta<br>(Warwick)        |
| 11:40-12:00 | Use of chimeric RNA bacteriophage capsids for epitope presentation and drug delivery            | P.G. Stockley<br>(Leeds)     |

**12:00- 12:30 Concluding remarks**G. Lomonossoff  
(Norwich)