

Hepatitis B und das Münchhausen-Enzym

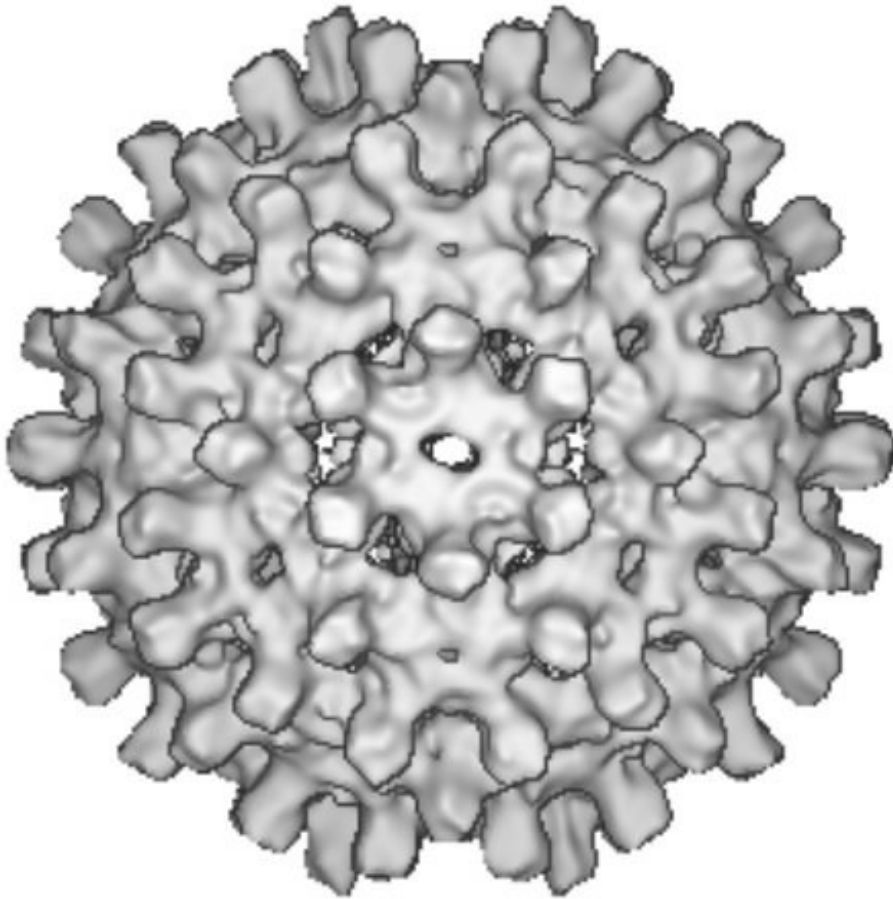
Ein kurzes Stück Erbgut, drum herum ein Protein-Container und vielleicht noch eine Membran – Viren sind eigentlich sehr einfach aufgebaut. Gerade deshalb befallen sie ihre Wirtsorganismen. Sie brauchen die chemische Umgebung einer lebenden Zelle, um sich vermehren zu können. Die Virologen um Prof. Dr. Michael Nassal von der Universitätsklinik Freiburg untersuchen die molekularen Mechanismen, die dem Hepatitis-B-Virus zur Fortpflanzung verhelfen. Diese Arbeit könnte in Zukunft den Drei- bis Vierhundert Millionen Menschen helfen, die weltweit an den Folgen einer chronischen Hepatitis-B-Infektion leiden. Die Forscher konzentrieren sich dabei unter anderem auf ein Virus-Protein, das sich gewissermaßen an den eigenen Haaren aus dem Sumpf zieht.

Zwei Milliarden Menschen hatten schätzungsweise bereits Kontakt mit ihm – darauf lassen molekulare Spuren des Hepatitis-B-Virus (HBV) in Blutproben schließen. Rund 350 Millionen weltweit leiden unter einer chronischen Infektion, die in einer Leberentzündung, einer Zirrhose oder sogar in Leberkrebs münden kann. Vor allem in Asien, im südlichen Afrika und in Teilen von Lateinamerika ist die Lage bedrohlich. Aber selbst hier in Europa gibt es ein Problem: Die bisherigen Medikamente gegen das HBV verlieren schnell ihre Wirkung.

Sogenannte Nukleosid-Analoga zum Beispiel blockieren heute zwar die Virus-Replikation relativ effektiv. Aber schon innerhalb weniger Monate beginnen die Viren sich anzupassen. „Wir suchen deshalb nach prinzipiell neuen Hemmmechanismen“, sagt Prof. Dr. Michael Nassal von der Abteilung für Gastroenterologie, Hepatologie, Endokrinologie und Infektiologie der Medizinischen Universitätsklinik Freiburg. „Dazu müssen wir genau verstehen, wie sich das HBV vermehrt und wie es sein Erbgut repliziert.“

Das menschliche HBV ist extrem wirtszellspezifisch, es befällt fast ausschließlich Leberzellen (Hepatozyten) von Menschen und Menschenaffen. Eingepackt in eine Lipidmembran und in ein aus Eiweiß aufgebautes Schutzbehältnis (das Kapsid), besitzt es ein teilweise doppelsträngiges ringförmiges aber nicht komplett geschlossenes DNA-Genom, das mit rund 3.000 Basenpaaren extrem klein ist. Das Virus gehört zu den kleinsten autonom vermehrungsfähigen Viren überhaupt.

Unbekannte Teilschritte



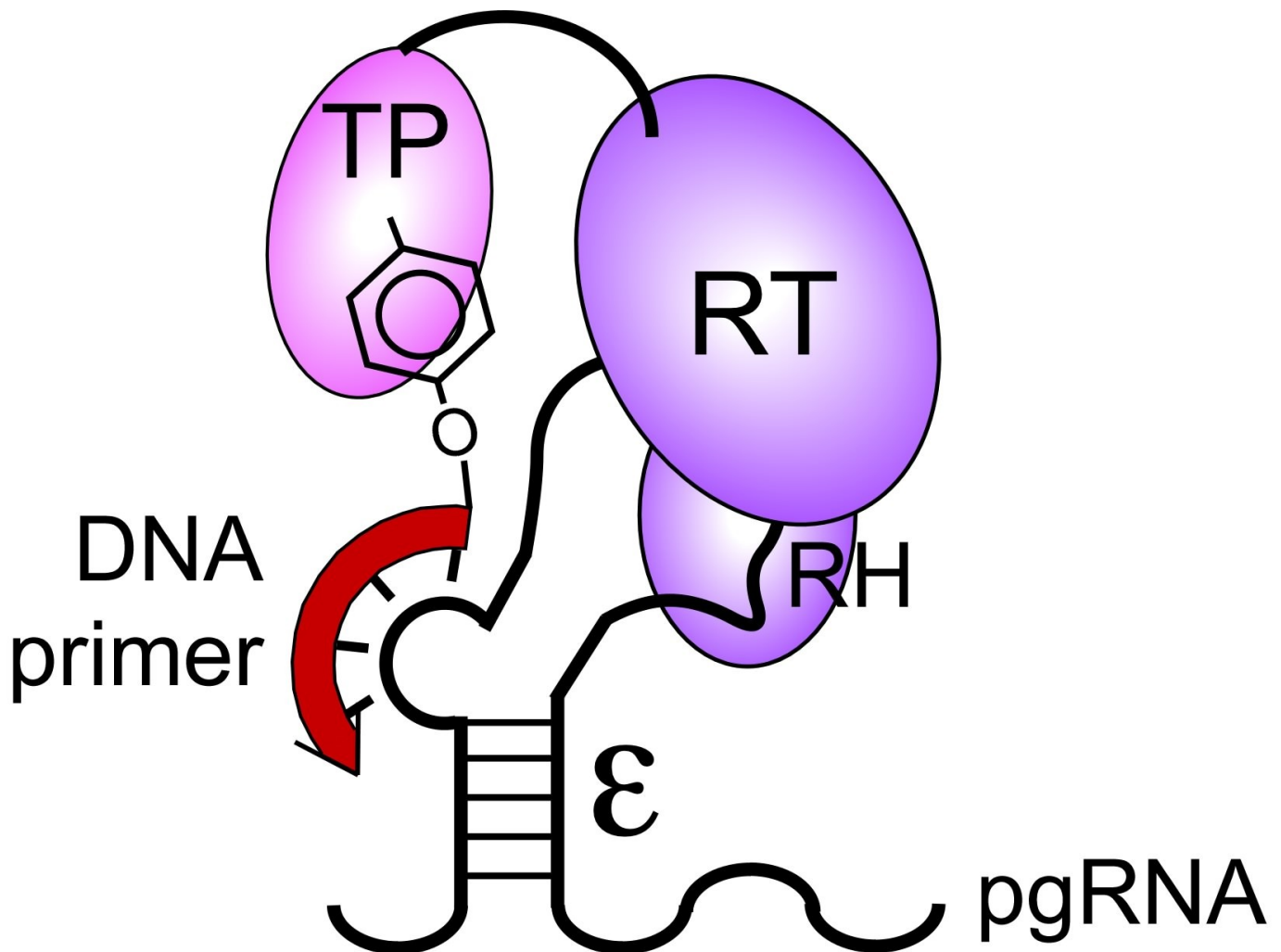
3D-Rekonstruktion der Kapsidoberfläche © Prof. Dr. Michael Nassal

Die Infektion beginnt an der Membran einer Leberzelle. Ein oder mehrere bisher unbekannte Rezeptoren erkennen spezielle Oberflächenstrukturen in der Hülle des Virus und vermitteln den Einschleusevorgang. Ist das Virus einmal im Inneren, wirft es seine Hülle ab und liegt nun als blankes Kapsid vor. Über einen ebenfalls unbekanntem Mechanismus gelangt es zur Kernhülle und setzt seinen Inhalt aus DNA in den Zellkern frei. „Was nun passiert, ist unklar“, sagt Nassal. „Fest steht, dass sich die Struktur des viralen Erbguts verändert.“ Die DNA schließt sich zu einem vollständig doppelsträngigen, geschlossenen Ring (cccDNA, circular covalently closed DNA) zusammen. Nassal und seine Mitarbeiter vermuten, dass hier die Enzyme der zelleigenen DNA-Reparatur eine Rolle spielen. Diese sind eigentlich dazu da, Fehler im eigenen Erbgut auszubessern. Fatalerweise erkennen sie, dass ein Teil des Virusgenoms als Einzelstrang vorliegt und schließen auch hier brav die Lücken. Welche konkreten Enzyme und Mechanismen dahinter stehen, gehört zu einem der Projekte von Nassals Arbeitsgruppe.

Diese Lücke im Verständnis zu füllen ist entscheidend, denn die cccDNA spielt eine wichtige Rolle im Vermehrungszyklus des Virus. Sie wird nicht nur auf beide Tochterzellen weitergegeben, wenn die Zelle sich teilt. Sie dient auch den zelleigenen Enzymen der Transkription als Matrize. Diese stellen unter anderem Boten-RNAs für die sieben Proteine des Virus dar, die außerhalb des Zellkerns als Bausteine für neue Viruspartikel dienen. Ein weiteres besonderes Produkt ist die sogenannte prägenomische RNA (pgRNA). Dieses Stück Nukleinsäure umfasst die gesamte Erbinformation des DNA-Genoms. Es gelangt ebenfalls aus dem Zellkern und kann nun in frische Kapside eingepackt werden. Allerdings gibt es noch ein Problem. Es liegt noch nicht als DNA vor. Hier kommt ein Protein ins Spiel, das Nassal und seine Mitarbeiter ganz besonders interessiert.

Dieses Enzym kommt auch bei Retroviren wie dem HIV vor und heißt Reverse Transkriptase. Es ist eines der Produkte der pgRNA. Die wirtseigenen Enzyme der Proteinbiosynthese stellen es aus dieser her. Es ist in der Lage, den normalen Prozess der Transkription umzukehren, indem es die genetische Information von der RNA zurück in die DNA umschreibt. Schon vor Jahren haben Nassal und seine Mitarbeiter die einzelnen Schritte aufgeklärt, die dieses einzigartige Molekül einleitet. Sie benutzten dazu unter anderem ein experimentelles System, in dem die isolierten Komponenten in einem Reagenzglas ohne das unkontrollierbare Umfeld des Zellinneren untersucht werden können. In diesen Versuchen stellte sich unter anderem heraus, dass die Reverse Transkriptase mit den Proteinbausteinen des Kapsids interagieren muss; nur im Inneren des Kapsids kann die Replikation vollständig ablaufen. Aber die Reverse Transkriptase muss auch eine spezifische Stelle in der pgRNA-Struktur binden, eine Haarnadelschleife mit dem Namen Epsilon. Das gewährleistet, dass ausschließlich die virale pgRNA verpackt wird (und weder zelluläre RNAs noch die anderen viralen Boten-RNAs). Kommt diese Bindung nicht zustande, kann die Replikation gar nicht erst starten. Unterstützung liefert hierbei auch wieder die Zelle selbst: sogenannte Chaperone, die normalerweise Proteinen zu korrekter Faltung verhelfen, scheinen die Bildung des Komplexes zu vermitteln.

In vielerlei Hinsicht exotisch



Die Reverse Transkriptase (RT) ist Teil eines Proteinkomplexes mit dem Namen P Protein. Dazu gehören auch die Domänen Terminal Protein (TP) und RNase H (RH). Protein P bildet einen Komplex mit der prägenomischen RNA (pgRNA), indem es an die epsilon-Schleife bindet (ϵ). Das Terminale Protein macht dann den DNA-Primer (rot) © Prof. Dr. Michael Nassal

„Die Reverse Transkriptase des HBV sticht aus der Gruppe der verwandten Enzyme von Retroviren durch eine Besonderheit heraus“, sagt Nassal. Alle bisher bekannten Reversen Transkriptasen funktionieren sehr ähnlich: Sie benutzen eine RNA-Vorlage als Matrize und paaren sie mit komplementären DNA-Bausteinen. So wächst eine negative Kopie des RNA-Stranges, die aus DNA besteht. Für den Beginn der Paarung brauchen die Enzyme aber immer eine kurze Startsequenz, einen sogenannten Primer. Dieser muss ihnen von einem Enzym der Zelle an die RNA-Matrize angepasst werden. Reverse Transkriptasen können nur verlängern, was schon da ist. Die Reverse Transkriptase des HBV zieht sich hingegen wie Baron Münchhausen an den eigenen Haaren aus dem Sumpf heraus; sie baut sich ihren Primer selbst. Dazu hat sie eine zusätzliche Proteindomäne, das sogenannte Terminale Protein (TP). Dieses Proteinstück verwendet eine kurze Sequenz in der Epsilonschleife als Vorlage und paart sie mit DNA-Bausteinen. Das resultierende DNA-Stückchen setzt es dann an das andere Ende der pgRNA und benutzt es dort als Primer für die eigentliche Replikation.

In Zukunft möchten Nassal und seine Mitarbeiter die genaue 3D-Struktur des Komplexes aus Reverser Transkriptase und pgRNA aufklären. Sie wissen inzwischen, dass die Bindung über mehrere Zwischenschritte zustande kommt und hierfür Energie benötigt. Welche räumlichen Veränderungen bei dem Vorgang aber ablaufen, ist schwierig zu untersuchen. Eine Kooperation mit Biophysikern, die moderne Bildgebungsverfahren beherrschen, soll die Forscher in den nächsten Jahren weiterbringen. Das alles ist freilich reine Grundlagenforschung. „Aber um wirklich

neue Medikamente gegen das Virus zu finden, müssen wir erst diese basalen Mechanismen verstehen“, sagt Nassal. Auch die anderen Fragestellungen verfolgen Nassal und Co. weiter: Welche Rolle spielen die zelleigenen Chaperone bei der Replikation des Virus? Kann man die Bindung der Reversen Transkriptase an die Kapsid-Bausteine verhindern? Wie entsteht im Zellkern die cccDNA?

In ein paar Jahren gibt es vielleicht ganz neue Ansätze für Medikamente.

Fachbeitrag

23.06.2009

mn

BioRegion Freiburg

© BIOPRO Baden-Württemberg GmbH

Weitere Informationen

Prof. Dr. Michael Nassal

Universitätsklinik Freiburg

Innere Medizin II / Molekularbiologie

Hugstetter Str. 55

D-79106 Freiburg

Tel./Fax: +49 (0)761/270-3507

E-Mail: [nassal\(at\)ukl.uni-freiburg.de](mailto:nassal(at)ukl.uni-freiburg.de)

► [Uniklinik Freiburg, Arbeitsgruppe Nassal](#)

Der Fachbeitrag ist Teil folgender Dossiers



DNA- und RNA-Replikation