

## Knospung und Reifung des HI-Virus an der Membran

**Der Heidelberger Virologe Hans-Georg Kräusslich und sein Team erforschen die molekulare Architektur und Morphogenese des HI-Virus und die an der Plasmamembran der Wirtszelle ablaufenden Vorgänge, die zur Freisetzung der Viren und zur Neuinfektion führen. Die Knospungs- und Reifungsprozesse der HIV-Partikel und die Lipidzusammensetzung ihrer Hülle könnten Angriffsorte für neue Therapeutika gegen AIDS bieten.**

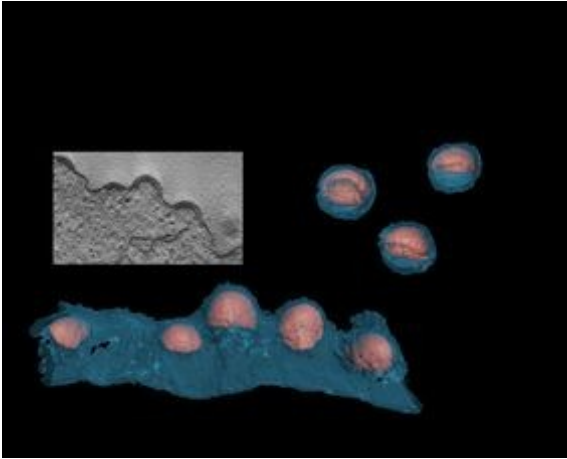


Prof. Dr. Hans-Georg Kräusslich  
© Universitätsklinikum Heidelberg

Seit in den 1980er-Jahren erkannt wurde, dass sich die durch HIV hervorgerufene AIDS-Epidemie in den USA ausbreitete, ist kein menschenpathogenes Virus so intensiv erforscht worden wie das Humane Immundefizienz-Virus (HIV). Dennoch sind viele Aspekte zur Biologie von HIV noch längst nicht geklärt. Auch die Suche nach neuen therapeutischen Strategien gegen AIDS geht weiter, denn immer noch ist die tödliche Seuche in weiten Teilen der Welt nicht eingedämmt, und nur für einen Bruchteil der 34 Millionen gegenwärtig HIV-Infizierten stehen wirksame antiretrovirale Medikamente zur Verfügung.

HIV gehört zu den Retroviren, deren Genom als Einzelstrang-RNA vorliegt und in der Wirtszelle durch eine viruseigene reverse Transkriptase in DNA umgeschrieben wird, bevor es in das Wirtsgenom eingebaut und aktiv werden kann, um neue Viruspartikel zu erzeugen. Ein Forschungsschwerpunkt von Professor Dr. Hans-Georg Kräusslich und seinem Team in der Abteilung Virologie am Department für Infektiologie des Universitätsklinikums Heidelberg ist die molekulare Architektur und die an der Plasmamembran der Wirtszelle ablaufende Morphogenese infektiöser HIV-Partikel. Die Forscher suchen dabei auch nach Wirkstoffen, die das Zusammenfügen („assembly“) der einzelnen Bausteine zum reifen Virus inhibieren und zur Entwicklung neuartiger antiviraler Therapeutika führen können.

# Assembly - Budding - Maturation



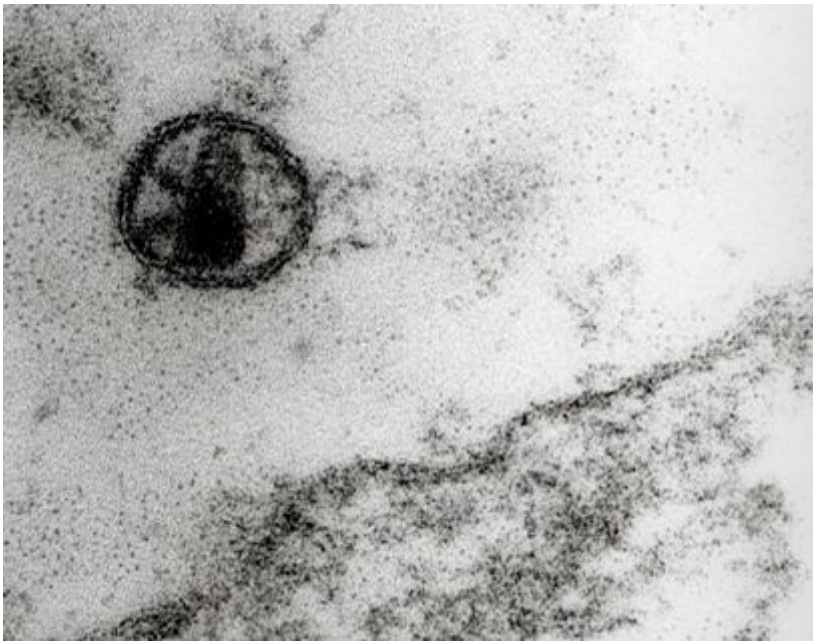
Tomogramm von HIV-Partikeln (rot), die von der Plasmamembran (blau) knospen.  
© Kräusslich, Universitätsklinikum Heidelberg

Die Morphogenese von HIV kann in drei Stadien unterteilt werden: (1) das Assembly, bei dem die notwendigen Virusbestandteile zusammengefügt und verpackt werden; (2) die Knospung („budding“), bei der das Viruspartikel durch die Plasmamembran aus der Zelle austritt und dabei seine Lipidhülle erhält; (3) die Reifung („maturation“), durch die das Virus seine Struktur verändert und infektiös wird. Diese Prozesse erfolgen an oder nahe der Plasmamembran der infizierten Zelle. Noch innerhalb der Zelle, auf der Innenseite der Membran werden alle für die Infektionsfähigkeit notwendigen Komponenten zusammengepackt. Dazu gehören zwei Kopien der genomischen Virus-RNA, zelluläre tRNA(Lys,3)-Moleküle, die als Primer der cDNA-Synthese dienen, das Virus-Hüllprotein, das als Gag-Polyprotein („Gruppenspezifisches Antigen“) bezeichnete Hauptstrukturprotein, sowie drei virale Enzyme, nämlich die Protease, die reverse Transkriptase und die Integrase.

Die entscheidenden Schritte dieses Prozesses werden alle mehr oder weniger gleichzeitig von dem Gag-Polyprotein koordiniert: die Bindung an die Plasmamembran, die Protein-Protein-Interaktionen zur Bildung einer aus etwa 2.500 Gag-Molekülen bestehenden kugeligen Proteinhülle, die Konzentration des viralen Hüllproteins und die Verpackung der genomischen RNA. Die Reifung des Virus erfolgt während des Budding oder unmittelbar anschließend, indem das Gag-Polyprotein durch die viruseigene Protease an zehn verschiedenen Stellen gespalten wird und die Gag-Proteinhülle durch die Protein-Spaltprodukte in dramatischer Weise umgebaut wird. Durch diesen zweiten Assembly-Schritt, der an der Plasmamembran oder in ihrer Nähe außerhalb der Zelle stattfindet, entsteht das infektiöse Viruspartikel mit seinem charakteristischen kegelförmigen Capsid-Kern, der das kondensierte virale Genom und die Replikationsproteine enthält.

Wie mit gereinigtem, in Bakteriensystemen exprimierten Gag-Protein gezeigt werden konnte, ist für das Assembly der unreifen HIV-Partikel und die Verpackung der Kofaktoren allein das Gag-Polyprotein verantwortlich. Für das Budding und die anschließende Freisetzung wird jedoch die ESCRT-Maschinerie der Wirtszelle in Anspruch genommen, ein hoch komplexer und in der Evolution konservierter Sekretionsweg. Beim Menschen umfasst der für den Transport erforderliche endosomale Sortierkomplex (ESCRT: „endosomal sorting complex required for transport“) mehr als dreißig verschiedene Proteine; dazu kommen noch die Maschinerie zur Ubiquitylierung und weitere regulatorische Mechanismen.

Um das Assembly, die Knospung und Reifung der Viruspartikel besser zu verstehen, benutzen Kräusslich und seine Mitarbeiter unter anderem Transmissionselektronenmikroskopie,



Elektronenmikroskopisches Bild der Plasmamembran, an der ein HIV-Assembly erfolgt, und eines reifen HIV-Partikels mit kegelförmigem Capsid.

© Universitätsklinikum Heidelberg

Kryoelektronenmikroskopie und Tomografie (s. Artikel vom 08.10.2012: [„Martin Beck und der Kernporenatlas“](#)) sowie Fluoreszenzmikroskopie. Die Funktionen der zellulären ESCRT-Proteine, ihre Ubiquitylierung und Phosphorylierung werden mit verschiedenen biochemischen und zellbiologischen Ansätzen analysiert. Zur Identifizierung weiterer Proteine, die beim Assembly, dem Budding und der Vermehrung von HIV eine Rolle spielen, dient „random siRNA-Screening“. Das Andocken infektiöser HI-Viren an eine Zelle konnte in Zusammenarbeit mit Professor Hell am Deutschen Krebsforschungszentrum mit höchst auflösender STED-Fluoreszenzmikroskopie erstmals dargestellt werden (s. Pressemitteilung des Universitätsklinikums Heidelberg vom 30.10.2012: [„Erst mit ihrer Andockstelle sind AIDS-Viren infektiös“](#)).

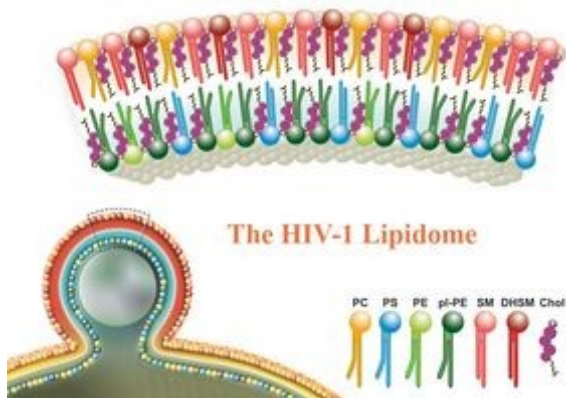
## Blockierung des Assembly-Prozesses

Kräusslich weist darauf hin, dass der Assembly-Prozess einen vielversprechenden Angriffspunkt für neue Medikamente gegen HIV-Infektion und AIDS darstellt. So haben die Heidelberger Forscher mit Phagen-Display das Peptid CAI identifiziert, mit dem das Assembly des Capsids verhindert wird. Es stellt in vitro einen wirksamen Inhibitor für das HIV-Assembly dar. Durch Strukturanalyse konnte eine zuvor nicht bekannte Bindungsstelle von CAI an das Capsidprotein CA nachgewiesen werden, die für das Assembly erforderlich ist. CA ist eines der von der HIV-Protease katalysierten Spaltprodukte von Gag. Weitere Untersuchungen konzentrieren sich auf die Identifizierung niedermolekularer Analoga von CAI, mit denen das Assembly und die Reifung des Virus inhibiert werden können. Ebenso können diese als Leitsubstanzen für die Entwicklung antiviraler Medikamente dienen.

## Das HIV-Lipidom

Beim Budding wird das HIV-Capsid von einer Lipidmembran umgeben, die als Ausstülpung und Abschnürung aus der Plasmamembran der Wirtszelle hervorgeht. Bei der Infektion einer neuen Zelle durch das Virus fusioniert seine Membranhülle dann wieder mit der Plasmamembran dieser Zelle. Die Lipidmembran spielt sowohl für die Stabilität des Virus als auch für seine Infektionsfähigkeit eine kritische Rolle. Über ihre genaue Funktion aber ist nur wenig bekannt - im Gegensatz zu den

Virusproteinen. In einer Zusammenarbeit zwischen Kräusslich, Britta Brügger und Felix Wieland vom Biochemie-Zentrum der Universität Heidelberg wurden die Lipidkomponenten von HIV mithilfe von Massenspektrometrie und Dünnschicht-Chromatografie analysiert und mit denen der Wirtszellmembranen verglichen. Diese Kooperation erfolgte im Rahmen des Exzellenzclusters CellNetworks der Universität Heidelberg, das von Kräusslich koordiniert wird.



Das Lipidom von HIV.  
© Kräusslich, Universitätsklinikum Heidelberg

Das Lipidom (die Lipidzusammensetzung) der Virushülle unterschied sich deutlich vom Lipidom der Plasmamembranen von MT-4-Zellen (das sind menschliche T-Zell-Leukämiezellen, die als HIV-Wirtszellen in Zellkultur dienen). So war das Verhältnis von Cholesterin zu Phospholipiden in der Virusmembran mehr als doppelt so hoch wie in der Plasmamembran. Sphingomyelin und Dihydrosphingomyelin sowie Plasmalogen-PE (Plasmenylethanolamin) waren in der Virusmembran sogar noch stärker angereichert. Diese Befunde bestätigen die „lipid raft“ (Floß)-Hypothese. Nach dieser erfolgen die Knospungs- und Fusionsprozesse an der Plasmamembran an definierten Mikrodomänen, die durch „rafting“ von Lipidkomplexen entstehen, die eine relativ geringe Fluidität besitzen und sich in dem stärker fluiden Lipidfilm der Plasmamembran wie ein Floß bewegen können. Cholesterin, Sphingolipide und Plasmalogen-PE sind typische „Raft“-Lipide. Ähnliche geordnete Verteilungsmuster der Lipide sind inzwischen auch für andere Viren mit Membranhülle nachgewiesen worden. Vermutlich spielen bestimmte Lipidkomponenten auch eine Rolle, um Proteine wie Gag an den Assembly-Ort zu dirigieren oder an die Membran zu binden.

Das HIV-Lipidom ist nicht nur für die Grundlagenforschung von Interesse; es könnte auch therapeutische Bedeutung als Angriffspunkt antiviraler Medikamente erlangen. So haben die Forscher gezeigt, dass die Inhibition der Sphingomyelin-Biosynthese zum Verlust der Infektionsfähigkeit der Viren führt. Durch Veränderung der Lipidzusammensetzung und Einsatz bestimmter synthetischer Lipide wird eine Fusion der Plasmamembran verhindert und die Freisetzung beziehungsweise der Eintritt des Virus in die Zelle kann verhindert werden.

#### Publikationen:

Sundquist WI, Kräusslich HG: HIV-1 assembly, budding and maturation. Cold Spring Harb Perspect Med. 2012 July; 2(7): a006924.

Lorzate M, Kräusslich HG: Role of lipids in virus replication. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2011 Oct 1;3(10):a004820.

Brügger B, Glass B, Haberkant P, Leibrecht I, Wieland FT, Kräusslich, HG: The HIV lipidome: A raft with an unusual composition. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103: 2641-2646 (2006).

## Fachbeitrag

08.04.2013

EJ (03.04.2013)

BioRN

© BIOPRO Baden-Württemberg GmbH

---

### Der Fachbeitrag ist Teil folgender Dossiers



Retroviren: Vom Krankheitserreger zum Therapiehelfer



---

# UniversitätsKlinikum Heidelberg