

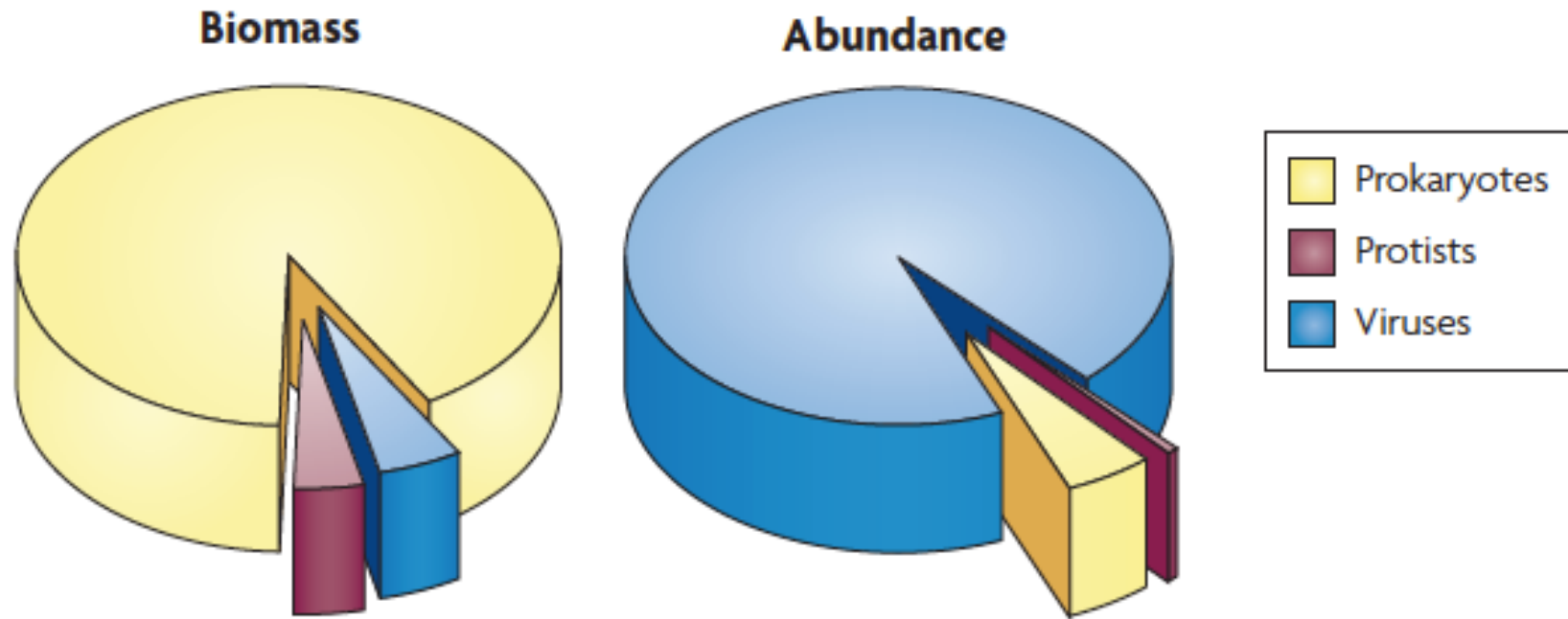
Grundlagen Virologie

J. Kühn

Virosphäre

- Häufigkeit von Viren wird dramatisch unterschätzt
- ca. 3×10^9 Viruspartikel/l Meerwasser
- ca. 4×10^{30} Viruspartikel in den Ozeanen
dies entspricht
- ca. 8×10^8 Tonnen biologisch gebundenem Kohlenstoff
- aneinander gereihte Viruspartikel 4×10^{23} m lang
(ca. 10^7 Lichtjahre..)

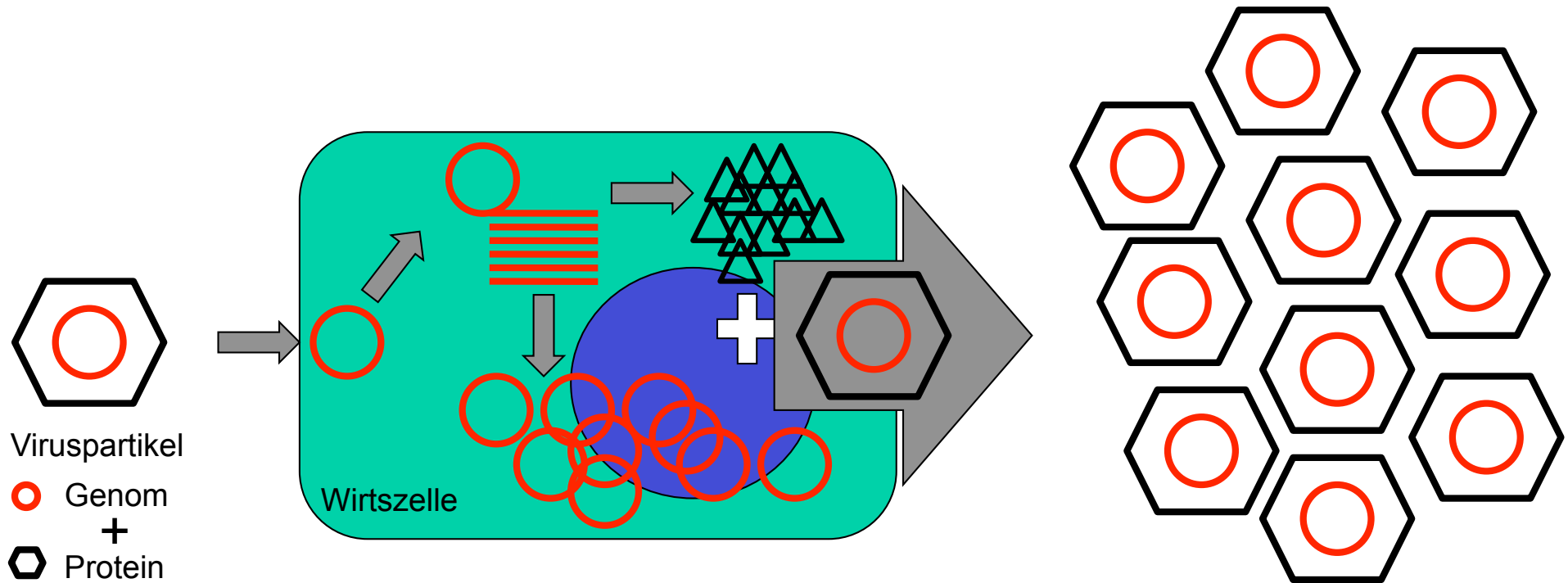
C. Suttle NATURE 437: 356ff (2005)



Virosphäre in den Ozeanen

- Partikel überwiegend infektiös
- enorme genetische und biologische Vielfalt
- extreme genetische Diversität
- Infektion aller Lebensformen
- Einfluss auf globale Nährstoffkreisläufe

Was ist ein Virus?



extrazelluläres
infektiöses
Partikel

intrazelluläre Vermehrung,
Synthese von Virusproteinen,
Genomreplikation

Nachkommenviren,
extrazellulär

Allgemeine Virologie

etwas Terminologie...

- virus, i n *ursprünglich lat. Gift, das Virus*
- Virus *gesamtes infektiöses Prinzip*
- Virion *Viruspartikel, überträgt die
Infektion von Zelle zu Zelle*

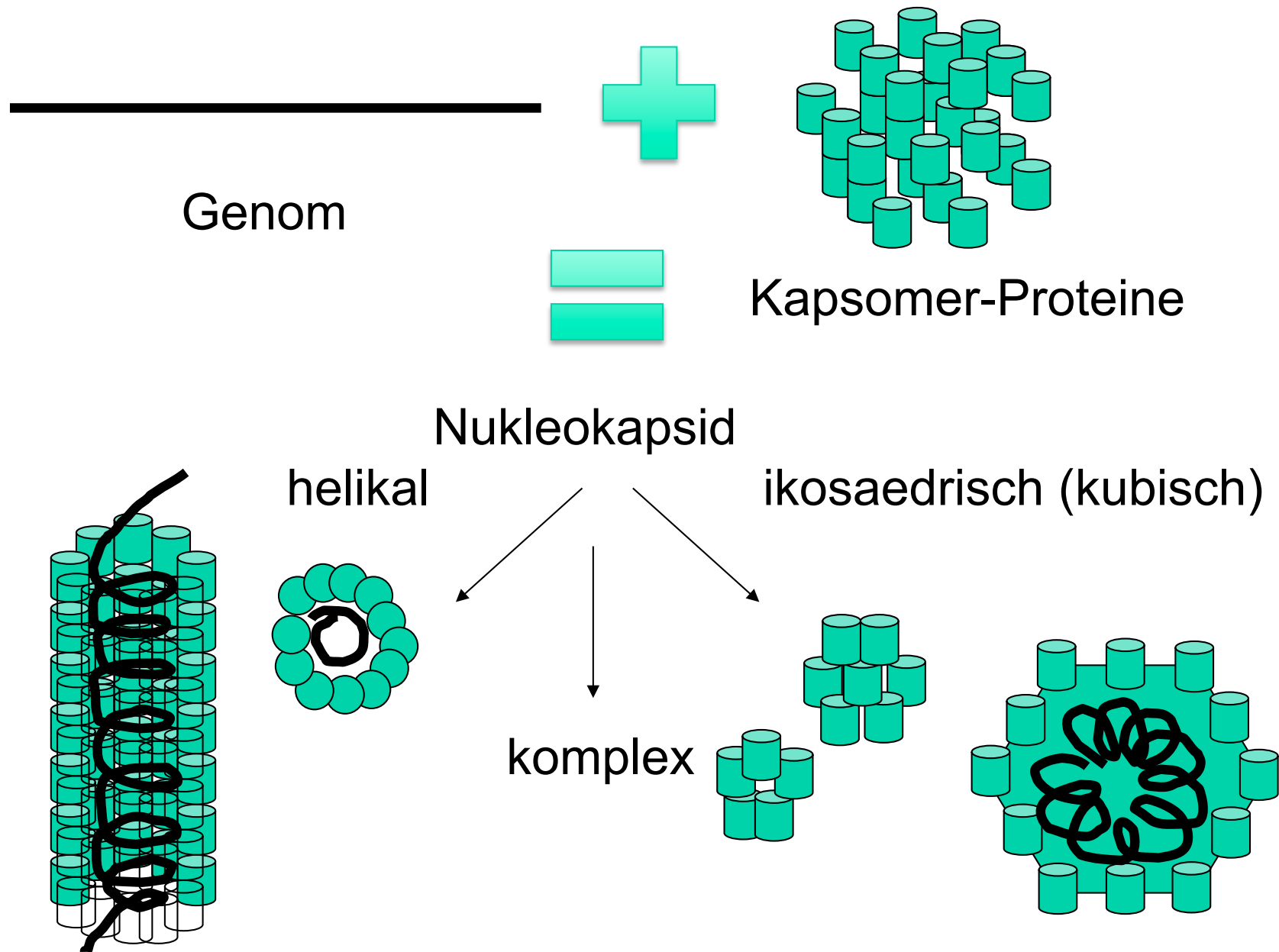
Viruspartikel: Proteinstruktur

- reine „Zweckkonstruktion“: **Genom-Shuttle, keine Zelle!**
- benötigte Funktionalität wird mit einfachstem Aufbau realisiert (*genetischer „Platzbedarf“ gering*)
 - extrazellulär
 - Schutz des viralen Genoms
 - Andocken an die Zielzelle
 - Aufnahme in die Zielzelle
 - intrazellulär
 - intrazellulärer Transport
 - Freisetzung des viralen Genoms
 - Ausschleusung von Nachkommenviren

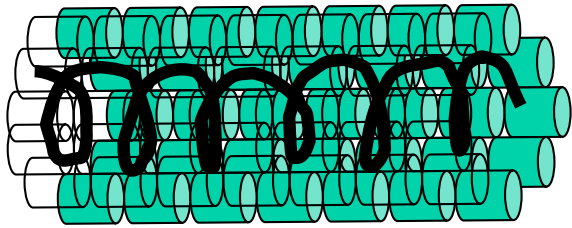
Viruspartikel: Genom

- je nach Virusfamilie ss-RNA, ds-RNA, ss-DNA, ds-DNA
- *genetische Information kodiert für*
 - Genomreplikation
 - Zellregulation
 - Strukturproteine
 - Immunevasion.....
 - keine Gene für eigene Proteinsynthese
 - keine Gene für Energiestoffwechsel

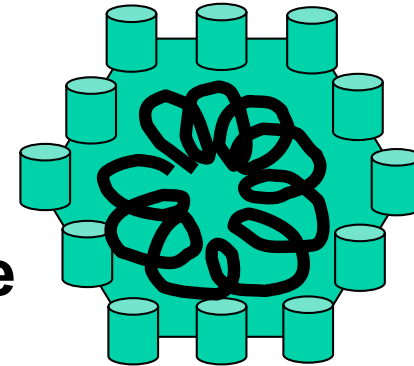
Aufbau eines Viruspartikels



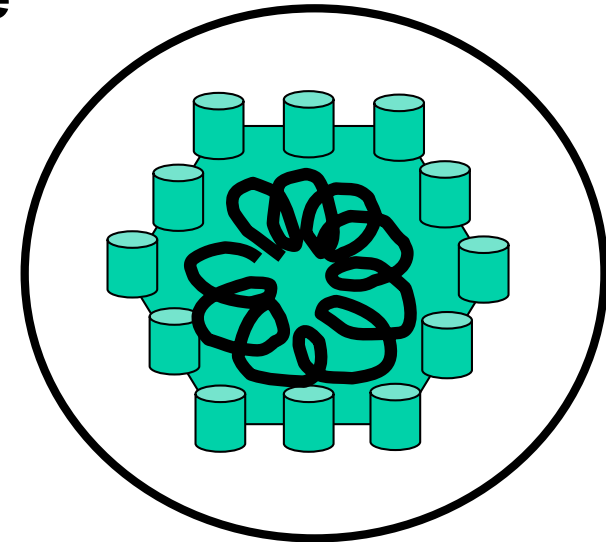
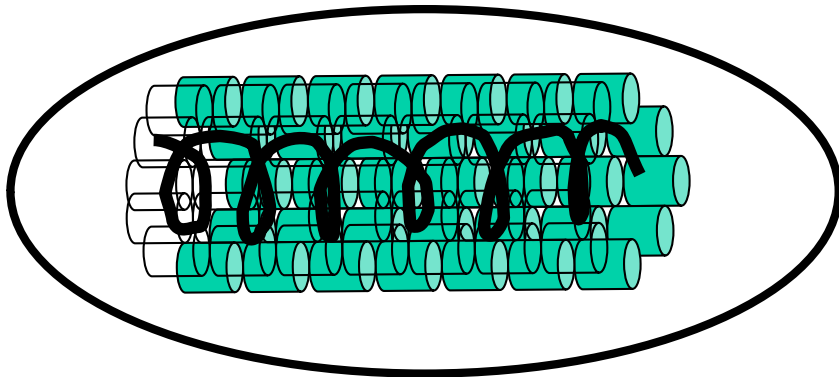
Aufbau eines Viruspartikels



„nackt“
ohne Lipidhülle



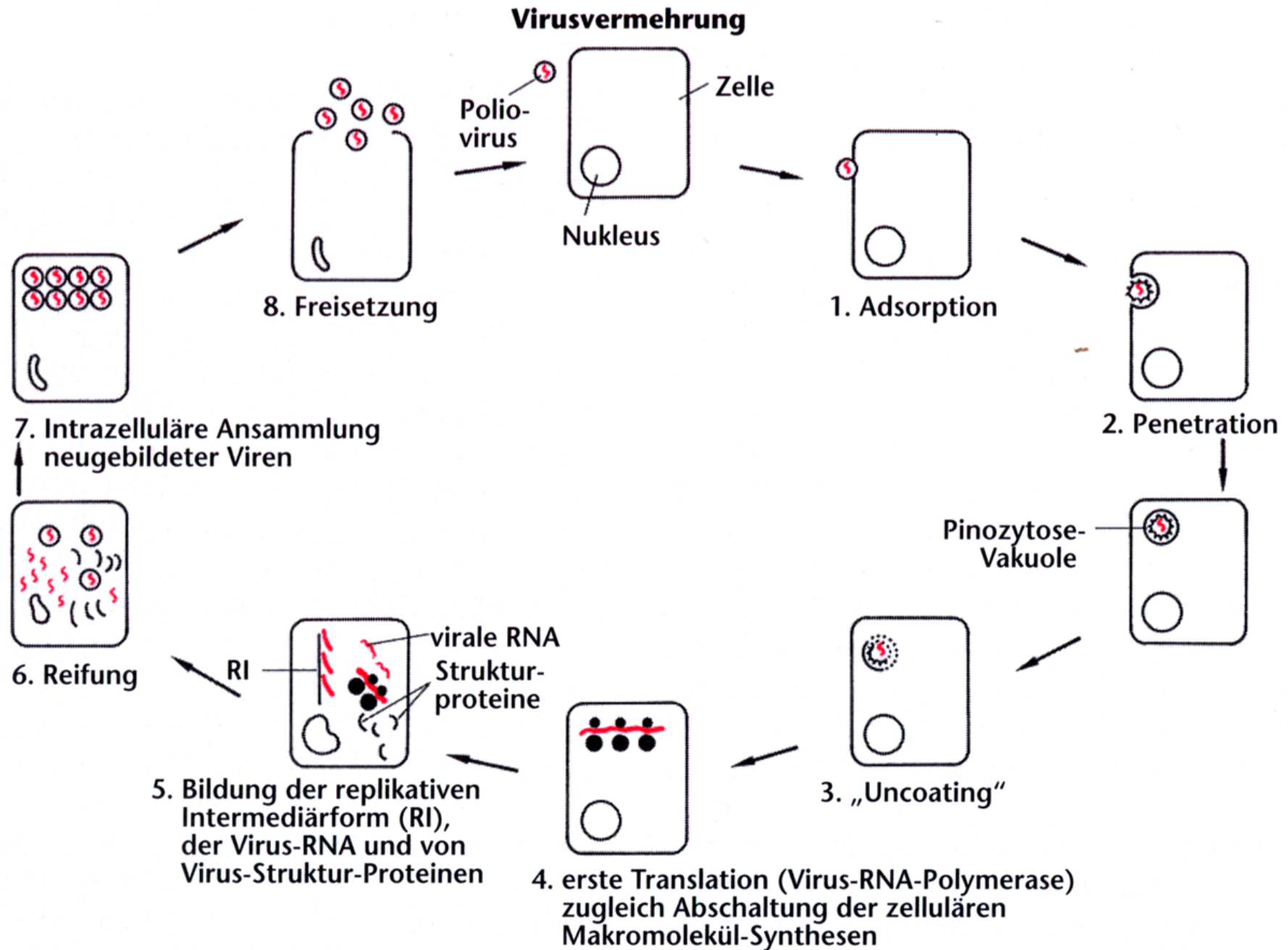
mit Lipidhülle
umhüllt



„Klinische“ Klassifikation nach

- Symptomatik, z.B. Durchfallserreger
- Übertragungswege, z.B. Vektor-übertragene Infektionen
- Vorkommen, z.B. Reiseerkrankungen
- Patientenkollektiv, z.B. opportunistische Erreger beim Immundefizienten

Virusreplikation am Beispiel von Poliovirus



Replikationszyklus *am Beispiel von Poliovirus*

- **Adsorption** an Zelloberfläche
- **Penetration** ins Zytoplasma
- **Uncoating, Freisetzung des Genoms** (ss + RNA = mRNA)
- **frühe Proteinsynthese** (Polyprotein)
- **Genomreplikation**
 - **Synthese von ss - RNA (Matrize)**
 - **Synthese von ss + RNA**
- **späte Proteinsynthese**
- **Selfassembly** neuer Viruspartikel
- **Ausschleusung, Zelltod**

Schicksal der virusinfizierten Zelle

- **lytische Infektion:** Freisetzung von Nachkommenvirionen, Zelltod
- **persistierende Infektion:** anhaltende Freisetzung von Virionen, kein Zelltod
- **latente Infektion:** keine Freisetzung von Virionen, kein Zelltod
- **Transformation,** Tumorinduktion, z.B. durch virale Onkogene
- **abortive Infektion,** infizierte Zelle nicht permissiv
 - Effekte der angeborenen und erworbenen Immunität
 - vorzeitiger Stop des viralen Replikationszyklus
 - Zellnekrose, Apoptoseinduktion, Elimination der infizierten Zellen

Wesentliche Unterschiede zwischen Viren und anderen Mikroorganismen

- obligat intrazelluläre Vermehrung (auch bei einigen Bakterienarten)
- **entweder DNA oder RNA als Träger der genetischen Information**
- **kein zellulärer Aufbau**
- **keine Vermehrung durch Zweiteilung**
- kein eigener Energiestoffwechsel (teilweise auch bei Chlamydien)
- **kein eigener Proteinsyntheseapparat**

Viren sind intrazelluläre Parasiten ohne Ribosomen, deren extazelluläre Verbreitung durch Kapsid-Genom-Komplexe erfolgt

Woher stammen Viren?

- kein gemeinsamer evolutionärer Ursprung erkennbar, einzelne Gruppen zeigen aber Übereinstimmungen
- **Regression** von zellulären Organismen?
- **zellulärer Ursprung** (jumping genes)?
- **Koevolution mit zellulären Organismen?**
 - *virus first hypothesis*
 - stammen aus einer Zeit vor der Auftrennung des Lebens in die verschiedenen Domänen
- **Wie "alt" sind die jeweiligen Virusfamilien?**
 - in das Wirtsgenom integrierte **Paläoviren**
 - 65-70 Mio. Jahre altes Hepatitis B-artiges Virus im Vogelgenom (Suh et al. Nature Commun 4:179, 2013)
 - ***können Paläoviren wieder "aufgeweckt" werden?***

Sind Viren lebendig?

Viren sind Teil der Biosphäre der Erde mit

- eigener Erbinformation und Genen
- Vermehrungsfähigkeit (als obligate Parasiten)
- Selektions- und Evolutionsfähigkeit im Sinne Darwins

aber leben Viren wirklich?

- infektiöse Nukleinsäure
- synthetische Viren

Warum sich mit Viren befassen?

- akute und chronische, vermeidbare Erkrankungen beim Menschen
- Impfstoffe
- ökonomisch wichtige Infektionen bei Tieren und Pflanzen

Warum sich mit Viren befassen?

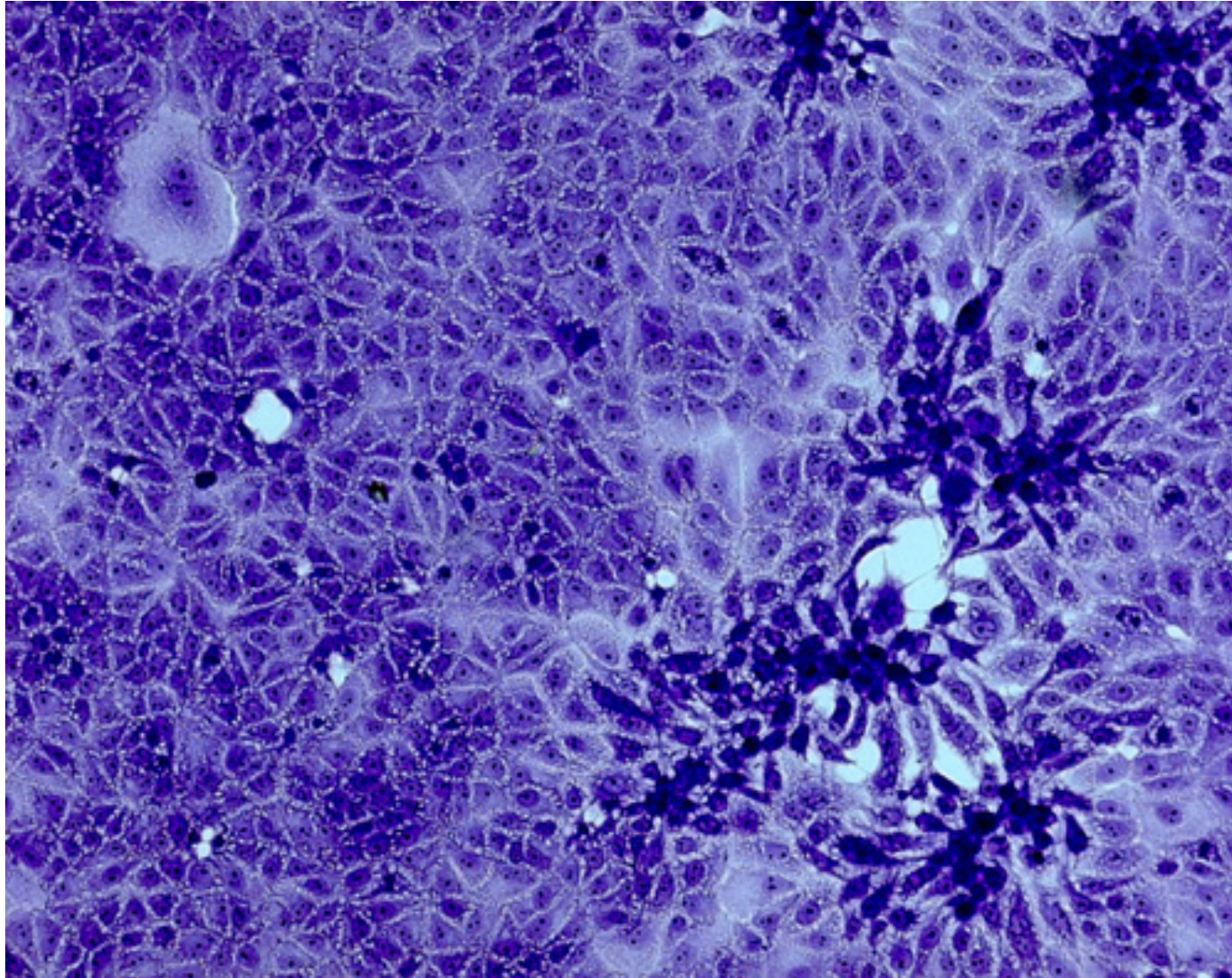
- Genome zellulärer Organismen sind massiv durchsetzt mit integrierten viralen Genomen
- Viren sind ubiquitär in uns selbst...
- ca. 8% unseres Genoms (230 000 Kopien/Genom) besteht aus Sequenzen viralen Ursprungs (LTR Retrotransposons, endogene Retroviren), die zur autonomen Replikation befähigt sind (**Lander, E. et al. Nature 409:860–921 (2001)**)
- **einige der integrierten Virussequenzen sind für den Fortbestand unserer Spezies essentiell**
- **endosymbiotische endogene Retroviren**
 - während der Einnistung des Embryos stark exprimiert
 - **Bildung des Synzytiotrophoblasten** (Mi S, Lee X, Li X, et al. "Syncytin is a captive retroviral envelope protein involved in human placental morphogenesis". *Nature* **403: 785–9 (2000)**)

Virusvermehrung im Labor

- Versuchstier
- Brutei
- **Zellkultur**
 - **Organkulturen**
 - **primäre Zellkulturen**
 - **permanente Zellkulturen**
- *ausnahmsweise auch Zytoplasmaextrakte (Poliovirus)*

virusbedingter **cytopathischer Effekt (CPE)**

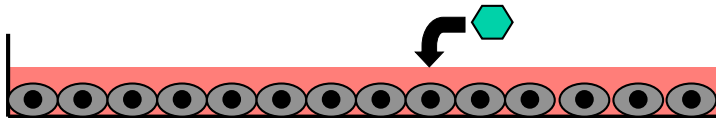
Herpes simplex-Virus Typ 1 in Vero-Zellen (Affenniere)



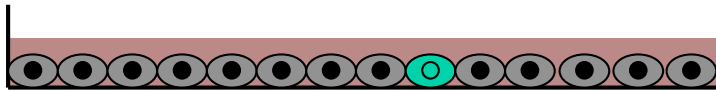
Konzentrationsbestimmung infektiöser Viren: **Plaque-Assay (plaque forming units pfu/mL)**



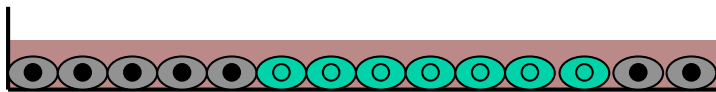
Zellkultur-Monolayer,
Flüssigmedium



Infektion mit Virussuspension



Überschichten mit Spezial-Medium, das
nur Virusausbreitung über Zellkontakte
erlaubt



Ausbildung von **Plaques**, d.h. abgegrenzten,
virusinfizierten Arealen im Monolayer

**1 Plaque = 1 infektiöses Partikel in der
Originalsuspension**

Konzentrationsbestimmung infektiöser Viren:
Plaque-Assay (plaque forming units pfu/mL)

