

Aurora Pujol Onofre
Dr.med.

The Self-association of the NS1 Protein as Key Element for the Parvoviral Life-Cycle

Geboren am 15.05.1968 in Barcelona, Spanien
Reifeprüfung am 07.06. 1986 in Barcelona, Spanien
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1986 bis SS 1993
Klinisches Studium in Barcelona, Spanien
Praktisches Jahr in Barcelona, Spanien und Heidelberg
Staatsexamen am 05.07.1993 an der Universität Autonoma de Barcelona

Promotionsfach: Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ)
Doktorvater: Prof. Rommelaere, PhD

„Die Oligomerisierung von NS1 als Schlüsselereignis des parvoviralen Lebenszyklus“

Die autonomen Parvoviren H-1 und MVM (Minute Virus of Mice), gehören zur Familie der Parvoviridae. Diese Viren infizieren Säugerzellen und besitzen onkosuppressives Potential *in vivo*. Die Vermehrung dieser Parvoviren ist von zellulären Faktoren abhängig, die präferentiell in der S-Phase des Zellzyklus vorhanden sind. Sie sind außerdem von der Replikation der Wirtszelle abhängig, weil sie nicht den Übergang ruhender Zellen in die S-Phase steuern können. Damit unterscheiden sie sich von anderen DNA-Tumoviren, die einen solchen Mechanismus für ihre eigene Vermehrung nutzen. Eine Schlüsselrolle im Verlauf der Replikation der Parvoviren spielt das Nichtstrukturprotein NS1. Für NS1 sind eine Reihe von Funktionen beschrieben worden. Es ist in der Lage, ATP zu binden und zu hydrolysieren und es besitzt Endonuklease- und Helikaseaktivität. Es reguliert weiterhin die Aktivität der viralen Promotoren und steuert die Replikation des viralen Genoms, Funktionen, die zusammenhängen mit der zytotoxischen Wirkung von NS1 in neoplastisch transformierten Zellen. Für viele dieser Eigenschaften wurde postuliert, daß NS1 als Homo-Oligomer vorliegen muß. Unser Ziel war es, diese Oligomerisierung nachzuweisen, und deren Folgen für die Funktion von NS1 zu untersuchen. Für eine grobe Lokalisierung der Oligomerisierungsdomäne wurden Deletionsmutanten im „Two Hybrid System“ eingesetzt. Eine genaue Identifikation des aus 2 Elementen bestehenden Interaktionsmotives konnte dann mit Hilfe eines Peptid-Immuno-ELISA's erreicht werden. Peptide, die die Oligomerisierungsdomäne von NS1 repräsentierten, wirkten als spezifische *in vitro* Inhibitoren der Helikaseaktivität von NS1. Dieses Peptide zeigten *in vivo* durch Mikroinjektionsexperimente eine vollständige Hemmung der parvoviralen DNA Replikation und stellen somit ein potentiell antivirales Agens dar. In weiteren Studien sollte die Frage geklärt werden, ob NS1-Oligomerisierung für die Regulation der Transkription notwendig ist. Mit einer dominant-negativen NS1-Mutante, die zwar weiterhin oligomerisieren kann, aber nicht mehr transkriptionell aktiv ist und keine DNA mehr bindet, wurden eine Reihe von Versuchen durchgeführt. Es konnte gezeigt werden, daß die Oligomerisierung von NS1 nicht nur notwendig ist für die virale DNA-Replikation, sondern auch Voraussetzung für die transkriptionelle Regulation der viralen und heterologen Promotoren sowie für die Zytotoxizität von NS1 in transformierten Zellen. Die Untersuchung und Aufklärung der Oligomerisierungsdomäne in dieser Arbeit erlaubt einen tieferen Einblick in die Funktions- und Wirkungsweise von NS1.