

Verena Geiselhart  
Dr. sc. hum.

## **Identifizierung, Charakterisierung und funktionelle Bedeutung des „Envelope Leader Proteins“ des Felinen Foamyvirus: Ein neuer Bestandteil retroviraler Partikel**

Geboren am 25.3.1973 in Heidelberg

Reifeprüfung am 19.5.1992

Studiengang der Fachrichtung Pharmazie vom SS 1993 bis SS 1998

Erstes Staatsexamen am 5.9.1995 an der Universität Heidelberg

Zweites Staatsexamen am 20.7.1998 an der Universität Heidelberg

Drittes Staatsexamen am 23.11.1999 am Regierungspräsidium Stuttgart

Promotionsfach: DKFZ

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. rer. nat. M. Löchelt

Zentrales Thema dieser Arbeit war die biochemische Charakterisierung des Env Leader Proteins (Elp), die Identifikation der für seine proteolytische Entstehung verantwortlichen Protease sowie die Bedeutung der Elp-Matrix-Interaktion während der Morphogenese des Felinen Foamy Virus (FFV).

Das bei anderen Retroviren in dieser Form nicht vorhandene ca. 16 kDa große Elp des FFV ist im Unterschied zu den typischen retroviralen Signalpeptiden Bestandteil freigesetzter Viruspartikel. Der N-Terminus von Elp ist innerhalb der viralen Lipidhülle lokalisiert und besitzt somit die richtige Topologie, um mit Gag-Matrix während der viralen Morphogenese zu interagieren. Elp ist am Asparagin 118 einfach N-glycosyliert; eine O-Glycosylierung konnte nicht nachgewiesen werden.

Die Spaltung zwischen Elp und SU erfolgt entsprechend der vorliegenden Befunde hinter dem Arginin an Position 127 des N-terminalen Bereichs von Env. Für diese Prozessierung sind mit hoher Wahrscheinlichkeit Furin oder furinähnliche Proteasen, die auch die Spaltung zwischen TM und SU hervorrufen, verantwortlich. Für die Freisetzung von Partikeln ist eine quantitative Abspaltung von Elp nicht erforderlich.

Ein kleineres 9 kDa großes Env-spezifisches Protein wird mit niedrigerer Effizienz gebildet. An seiner Entstehung sind vermutlich zelluläre Proteasen beteiligt; seine Bedeutung ist unbekannt.

Mittels Oberflächen-Plasmon-Resonanz-Messungen (Surface Plasmon Resonance, SPR) wurde der N-terminale Bereich von Elp als Interaktionsdomäne mit Gag-Matrix ermittelt. Eine besondere Rolle kommt dabei zwei innerhalb der Foamyviren konservierten Tryptophanen an den Positionen 12 und 15 in FFV-Env zu, ohne die eine Bindung an Matrix

entweder nicht möglich oder stark reduziert war. Die Interaktion der rekombinant exprimierten, cytoplasmatischen Domäne von Elp mit Matrix war hochspezifisch und stabil. Es liegt nahe, dass diese spezifische Interaktion zwischen Elp und Matrix eine entscheidende Rolle im Laufe der Morphogenese insbesondere während der Partikelfreisetzung spielt, zumal eine derartige Interaktion während des Abknospungsvorganges auch aufgrund cryo-elektronenmikroskopischer Beobachtungen postuliert wurde. Die direkte Beteiligung eines konservierten Arginins an Position 43 in FFV-Gag an der Elp-Matrix-Interaktion konnte nicht nachgewiesen werden.

Mit Hilfe der vorliegenden Arbeit wurde ein Beitrag zur weiteren Strukturaufklärung des Hüllproteins des Felinen Foamyvirus geleistet. Des Weiteren wurde ein für Retroviren in dieser Form unbekannter Mechanismus der Env-Gag-Interaktion exemplarisch für Foamyviren am FFV erstmals experimentell nachgewiesen. Ein vertieftes Verständnis bezüglich der foamyviralen Morphogenese sowie die Funktion und proteolytische Aktivierung des FFV-Env-Proteins kann wesentliche Implikationen für die Konstruktion, Etablierung und Optimierung foamyviraler Vektoren und für ihren Einsatz in der Gentherapie liefern.