

Adela-Cristina Moroianu
Dr. med.

**Die spezifische Bindung des Nichtstrukturproteins NS1 des Minute Virus of Mice an
[ACCA]₂-Elemente der 5'-terminalen MVM-DNA als Grundlage der Haarnadel-
induzierten viralen DNA-Replikation**

Geboren am 21.12.1975 in Temeschburg
Reifeprüfung am 27.06.1995
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1995/96 bis WS 2001/2002
Physikum am 09.09.1997
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Bretten, Valens (Schweiz)
Staatsexamen am 13.11.2001

Promotionsfach: Innere Medizin
Doktorvater: Prof. Dr. med. Wolfgang Stremmel

Parvoviren, eine Familie der kleinsten obligaten Zellparasiten entwickelten einen besonderen, unidirektionalen Mechanismus zur Vervielfältigung ihres einzelsträngigen, linearen Genoms: die Rolling Circle Replication. Einzelne Schritte der Replikation konnten experimentell erwiesen werden, zum größten Teil im System des Parvovirus' MVM.

Der für die Replikation essentielle Charakter der terminalen Palindrome wurde schon früh erkannt (1983). Der molekulare Zusammenhang hierfür blieb jedoch lange hypothetisch. Es wurde vermutet, dass die während der Replikation gebildeten, terminalen Palindrome in Haarnadelstrukturen zurückgefaltet werden, welche als Primer für die Reinitiation der Replikation dienen. *In vitro* zeigte sich eine erhebliche Stimulation der terminalen strukturellen Umwandlung durch NS1. Als molekularer Mechanismus hierfür kam eine Bindung des NS1 an [ACCA]₂-Sequenzen im Bereich der Symmetrieachse der terminalen Palindrome in Frage.

Zur Untersuchung dieser Hypothese wurden in dieser Arbeit DNA-Protein-Bindungsstudien mit NS1 und synthetisch hergestellten DNA-Termini des MVM durchgeführt. Als Substrate dienten sowohl die Wildtypform der MVM-DNA, wtAC, als auch mutierte DNA-Fragmente, die eine Substitution von [ACCA]₂-Elementen durch alternative palindromische Sequenzen

enthielten. Der Sequenz-Austausch innerhalb der mutierten DNA-Formen bezog sich auf zwei bilateral der Symmetrieachse angeordnete [ACCA]₂-Elemente (Δ AC2), bzw. auf diese sowie ein lateral angeordnetes [ACCA]₂-Element (Δ AC1/2).

Immunopräzipitations-Bindungsstudien ergaben eine Abnahme der Bindungsaffinität für NS1 in der Reihenfolge wtAC \rightarrow Δ AC2 \rightarrow Δ AC1/2. Kompetitions-Bindungsstudien zeigten eine wesentlich höhere Affinität der NS1-Bindung für wtAC gegenüber Δ AC2.

In der vorliegenden Arbeit konnte damit gezeigt werden, dass NS1 an [ACCA]₂-Sequenzen bindet, die bilateral der Symmetrieachse des rechts-terminalen Palindroms der MVM-DNA angeordnet sind.

Es kann daher gefolgert werden, dass NS1 [ACCA]₂-Elemente an den drei Positionen innerhalb des rechts-terminalen Palindroms mit unterschiedlicher Affinität erkennt. Eine mögliche unterschiedliche Relevanz der diversen Bindungen im Rahmen der Rolling Circle Replication wird in der Arbeit diskutiert.