

Robert Hadasch

Dr. med.

**Bestimmung der Primärstruktur und der Kodierungskapazität des Molluscum Contagiosum Virus Typ 1 Genoms zwischen den Genomkoordinaten 0.036 und 0.105 (12953 bp)**

Geboren am 21.03.1967 in Klosterbrück

Reifeprüfung am 10.06.1986 in Karlsruhe

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1988/89 bis SS 1995

Physikum am 29.08.1990 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr in Karlsbad-Langensteinbach

Staatsexamen am 21.11.1995 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Hygiene

Doktorvater: Prof. Dr. G. Darai

Das Molluscum Contagiosum Virus gehört zum Genus Mollusipox in der Familie der Pockenviren. Alle unternommen Versuche der Virusvermehrung auf Zellkulturen oder im Tiermodell waren bisher erfolglos, weshalb eine genauere Untersuchung von MCV durch virologische Standardmethoden nicht durchführbar ist.

Zur genaueren Charakterisierung dieses humanpathogenen Virus wurde im Rahmen der hier vorgelegten Dissertation die Primärstruktur und die Kodierungskapazität des viralen Genoms von Molluscum Contagiosum Virus Typ 1 zwischen den Genomkoordinaten 0.036 und 0.105 (12953 bp) durchgeführt.

Ausgehend von einer bereits etablierten Genbank von MCV 1 wurde zunächst nach der von Sanger beschriebenen Methode die Nukleotidsequenz der am linksterminalen Ende des Virusgenoms lokalisierten HindIII Fragmente Q (1352 bp), R (315bp), C (9513 bp), sowie das Fragment M (1780 bp) bestimmt. Bereits der GC-Gehalt von über 62% in der untersuchten DNA zeigte einen bemerkenswerten strukturellen Unterschied des MCV Genoms zu anderen Pockenviren (GC-Gehalt von Vaccinia Virus und Variola Virus ca. 34%).

Weiterhin konnten eine Vielzahl direkter und invertierter Repetitionen, sowie palindromische Sequenzstrukturen gefunden werden. Am eindrucklichsten fiel hierbei eine komplexe Clusterstruktur im HindIII C- Fragment zwischen den Genomkoordinaten 1802 und 2107 auf. Sie setzt sich aus drei tandemartig aufeinander folgenden DNA Elementen zusammen, wobei eine 15 Basenpaare umfassende Box (R3) jeweils aus einer 6 (Box R1) und einer 9 Basenpaare großen Box (R2) gebildet wird. Die Reihenfolge dieser DNA Boxen konnte wie folgt bestimmt werden:  $(5 \times R3) + (2 \times R2) + (1 \times R3) + (6 \times R2) + (1 \times R3) + (1 \times R2) + (8 \times R3)$ .

Durch computerunterstützte Sequenzanalysen bezüglich der Kodierungskapazität konnten 69 offene Leseraster mit einer Größe von mehr als 40 Aminosäuren ermittelt werden. Bei einem Teil der offenen Leseraster konnten zudem in ihrer unmittelbaren Nähe DNA-Sequenzen gefunden werden, die frühen und späten Promotorsequenzen bei Pockenviren entsprechen. Somit konnte gezeigt werden, daß sich das Molluscum Contagiosum Virus sehr wahrscheinlich eines Replikationsapparates bedient, der dem anderer Pockenviren entspricht.

Keines der hier untersuchten möglichen Proteine konnte bezüglich seiner Homologie zu bisher bekannten Proteinen, insbesondere denen bei Pockenviren, eindeutig bestimmt werden. Es ist vielmehr aufgrund der fehlenden Übereinstimmung bezüglich der Proteinsequenzen im Bereich der terminalen Regionen des MCV-Genoms davon auszugehen, daß hier Proteine kodiert werden, die die besonderen biologischen Eigenschaften dieses Virus bezüglich seiner Wirtsspezifität und Genese, sowie seines Verhaltens bei der Replikation bedingen.

Das offene Leseraster (ORF) HM17 kodiert mit 3525 Basenpaaren für ein mögliches Protein von 1175 Aminosäuren, wobei es im HindIII C Fragment in 3'-5'- Richtung zwischen den Genomkoordinaten 3758 und 233 lokalisiert ist. Ihm vorangestellt ist ein einem Abstand von 22 Nukleotiden eine für Vaccinia Viren beschriebene klassische frühe Promotorsequenz. Der Anfang der Proteinsequenz wird durch seinen hohen Seringehalt charakterisiert, der mittlere Bereich zeichnet sich durch eine etwa 130 Aminosäuren umfassende repetitive DNA und somit auch Aminosäuresequenz aus, die ausschließlich aus Glutamin und Alanin gebildet wird. Im Rahmen der Proteinsequenz vergleiche konnte noch keine eindeutige Homologie ermittelt werden, die einen eindeutigen Rückschluß auf die Funktion dieses Proteins zuläßt.

Für den im Rahmen dieser Dissertation untersuchten Genomabschnitt von MCV 1 konnten somit zahlreiche strukturelle Eigenschaften ermittelt werden, die einerseits die Zugehörigkeit des Molluscum Contagiosum Virus zur Familie der Pockenviren unterstreichen. Gleichwohl zeigt aber das Fehlen von Homologien, sowohl auf DNA als auch Proteinebene zu weiteren Pockenviren, die Sonderrolle von MCV in der Familie der Pockenviren.