

Vorlesung: Virusstruktur, Viruseintritt

1. Viren produzieren (fast) identische Nachkommen - Leben?

Beinhalten die *Information* zur Reproduktion - nicht die dazu notwendige *Maschinerie*. Sie sind außerhalb der Zelle leblos (Molekül) - innerhalb "lebend" (Mikrobe)

2. Alle Viren sind kleiner als jede Zelle

1nm = 10Å, C-C Bindung 0,154 nm, DNA-Helix 3,4 nm, kleinste sphärische Viren 25 nm, Länge TMV 300 nm, Länge E.coli 2000 nm

3. Viren haben keinen eigenen Stoffwechsel (weder katabol noch anabol)

Sie können keine Energie durch Nahrungsaufnahme/Photosynthese gewinnen (ATP-Erzeugung) und keine de novo Biosynthese aus umgewandelten Nährstoffen durchführen. =>

- ohne Wirt kein Virus, ohne Virus aber Wirt (Viren sind Parasiten)
- Viren sind auf intakte Wirtszelle angewiesen (Bausteine + Energie)
- Viren enthalten eine *Auswahl* der in lebenden Zellen vorkommenden Biomoleküle
- Virus-Biomoleküle müssen kompatibel sein mit Wirtsmaschinerie

4. Viren vermehren sich nicht durch Wachsen und Teilen

sondern durch Zusammenbau ("Assembly") von Einzelteilen (ähnlich einer Fabrikationsstrasse in einer Autofabrik). Sie durchlaufen eine "eclipse"-Phase ohne detektierbare Viren, danach sind neue Viren da (zelluläre Parasiten)

5. Viren besitzen nur eine Sorte Nukleinsäure

entweder RNA oder DNA; Zellen immer DNA + RNA.

6. Viren haben eine extrazelluläre Phase (Unterschied zu Plasmiden)

Nachkommenerzeugung braucht Erbinformation = Nukleinsäure (Ausnahme Prionen!). Da Nukleinsäuren meist instabil sind (pH, Temperatur, Nukleasen) bilden sie Kapside aus Protein als Container (Ausnahme: *Viroide* - kleine, circuläre "ds-RNA" mit hoher Stabilität)

7. Viren und Wirt koevolvierern

Gleichgewicht/"Koevolution"/"Räuber-Beute-Verhältnis"

8. Klassifikation:

Pathogener Effekt (z.B. Poliovirus, Maul und Klauenseuche Virus)

Wirtsbereich (z.B. Hepatitisviren)

Morphologie (z.B. Baculoviren)

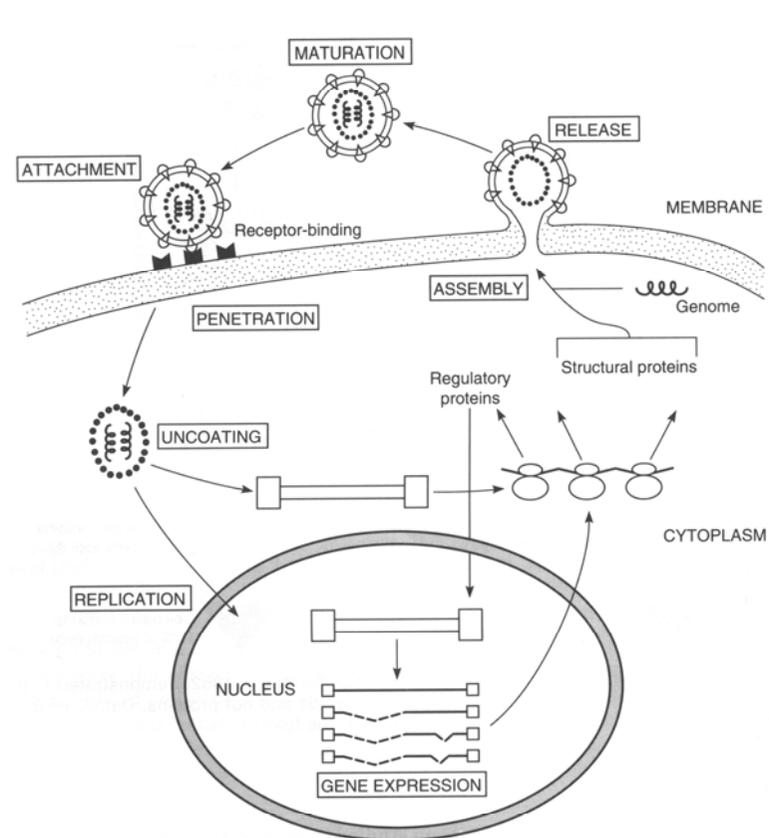
Genom-Struktur

Replikationsmechanismus/m-RNA Synthese Strategie (z.B. Retroviren)

Allgemeiner Replikationszyklus von Viren

Was sind Viren?

Viren sind infektiöse, obligat intrazelluläre Parasiten mit einer extrazellulären Phase, die Entweder DNA oder RNA als genetisches Material enthalten und für Ihre Vermehrung von den Stoffwechsellleistungen ihrer Wirtszelle abhängen.



Viruseintritt in Wirtszellen

Wie gelangen Viren in Ihre Zielzellen, ohne diese zu zerstören?

Als obligat intrazelluläre Partikel deren Vermehrung auf Stoffwechsellleistungen der Wirtszelle angewiesen sind haben Viren ein Problem:
Sie müssen in die Wirtszelle gelangen können ohne sie zunächst zu zerstören.

Der Mechanismus des Eintritts eines Virus in seine Zielzelle, d.h. der Initialschritt der Infektion spiegelt dabei die Struktur der Wirtszelle wider:



Generelle Mechanismen des Viruseintritts in Wirtszellen

Animalviren

Rezeptor

Nukleinsäure mit
Proteinhülle

Bakteriophagen

Rezeptor

Meist nackte Nukleinsäure
(Hershey/Chase Experiment)

Pflanzenviren

Vektorvermittelt (Insekt)
Mechanisch (Verletzung)

nackte Nukleinsäure

Die Architektur der Viren aus den verschiedenen Reichen belebter
Materie spiegelt den äußeren Aufbau fundamentaler zellulärer Strukturen
Ihrer Wirtszellen wider

Die Rezeptor-vermittelte Aufnahme von Animalviren

1. Virusbindung (attachment), oft hoch spezifisch, energieunabhängig
2. Viruspenetration (Zytoplasmazugang), energieaufwändig

Definitionen:

Virusrezeptor: Zelluläre Struktur die bei permissiven Zellen eine produktive Infektion vermitteln kann

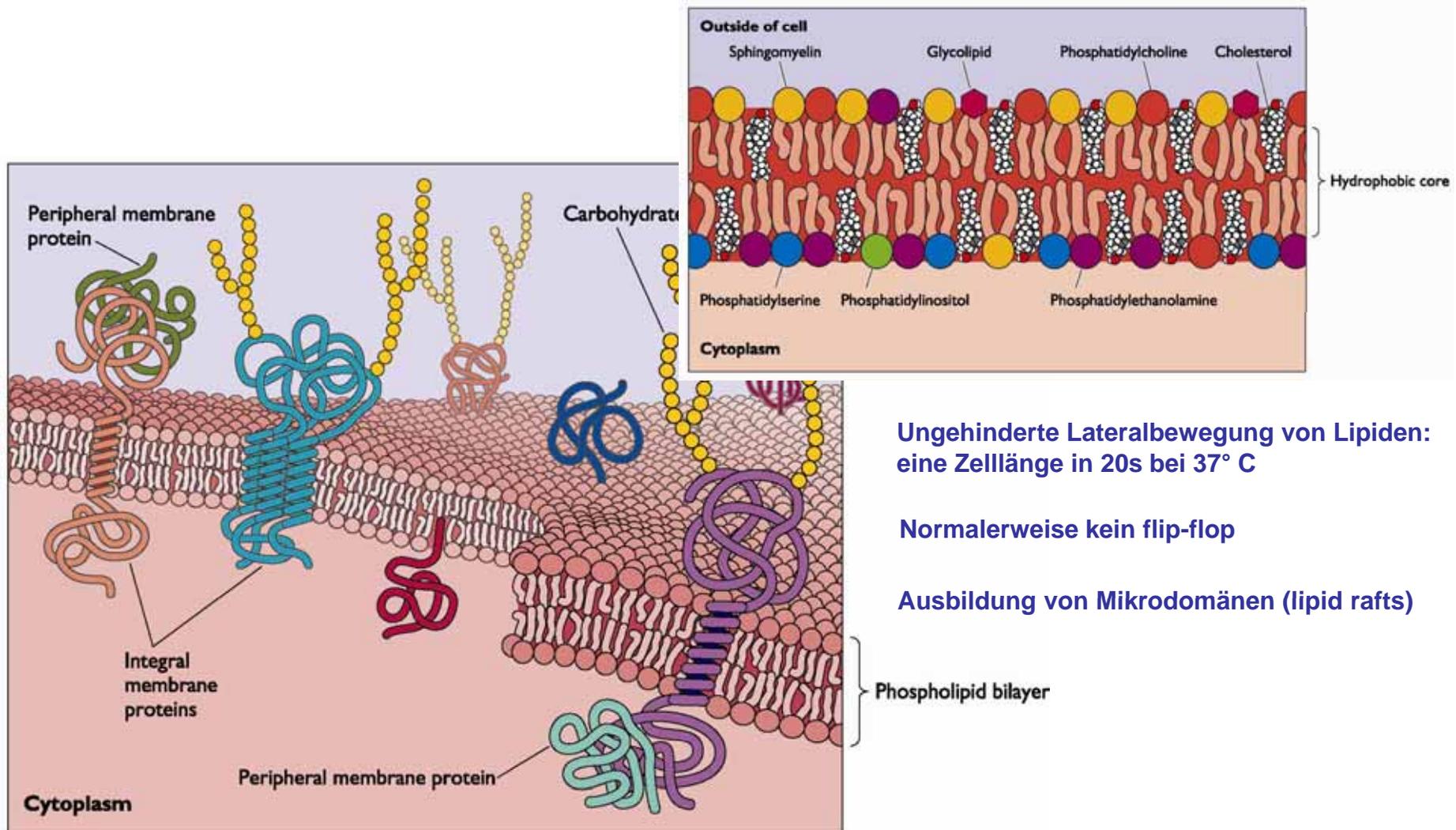
Permissivität: Permissive Zellen ermöglichen die Replikation Viraler Genome.

Suszeptibilität: Fähigkeit einer Zelle ein bestimmtes Virus über Rezeptoren zu binden und aufzunehmen.

⇒ Rezeptoren sind nicht primär Virusrezeptoren, sondern haben wichtige zelluläre Funktionen. Viren „missbrauchen“ zelluläre Transport und Rezeptorproteine um sich Eingang in die Zelle zu verschaffen. Die hohe Spezifität dieser Erkennung ist auf eine enge Coevolution viraler Rezeptorbindedomänen auf Strukturelemente zellulärer Oberflächenproteine zurückzuführen.

Aufbau der Plasmamembrane

-mögliche Bindungsstellen für virale Oberflächenproteine



Ungehinderte Lateralebewegung von Lipiden:
eine Zelllänge in 20s bei 37° C

Normalerweise kein flip-flop

Ausbildung von Mikrodomänen (lipid rafts)

Beispiele zellulärer Virusrezeptoren

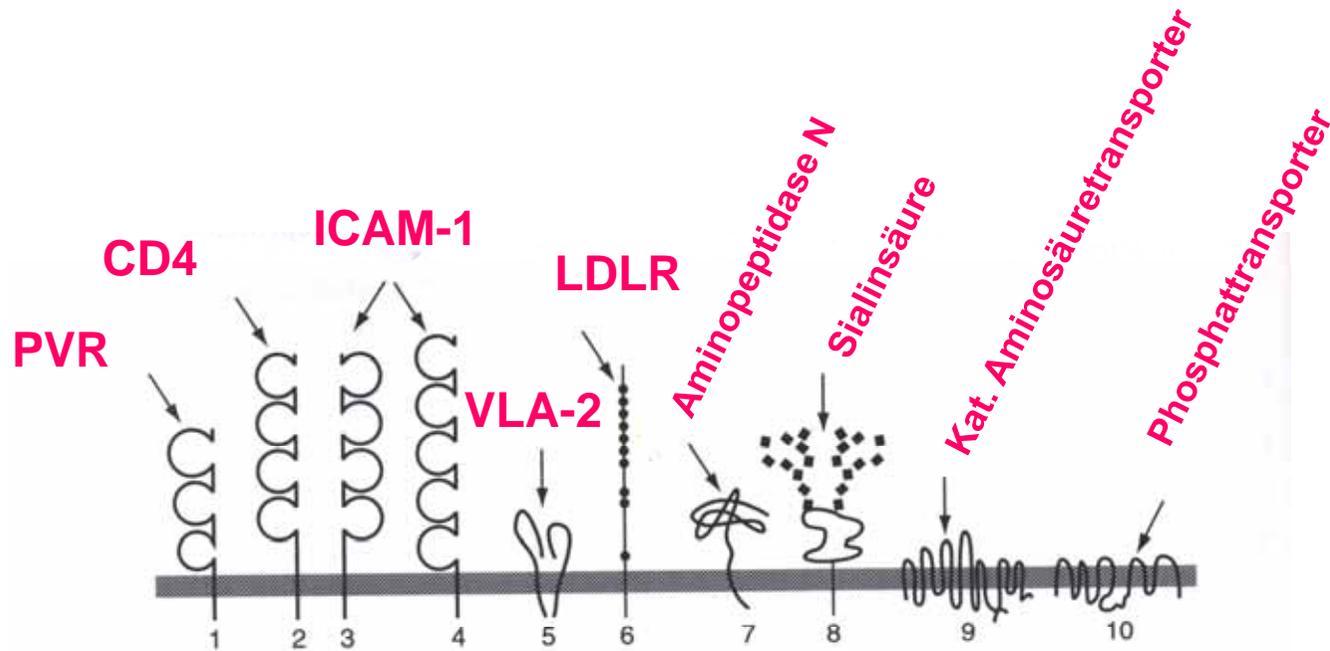


Figure 4.7 Schematic representation of known virus receptors. Arrows indicate virus attachment sites. (1) Poliovirus receptor (PVR); (2) CD4: HIV; (3) carcinoembryonic antigen(s): MHV (coronavirus); (4) ICAM-1: most rhinoviruses; (all immunoglobulin superfamily molecules). (5) VLA-2 integrin: ECHO viruses; (6) LDL receptor: some rhinoviruses; (7) aminopeptidase N: coronaviruses; (8) sialic acid (on glycoprotein): influenza, reoviruses, rotaviruses; (9) cationic amino acid transporter: murine leukaemia virus; (10) sodium-dependent phosphate transporter: gibbon ape leukaemia virus.

Identifizierte zelluläre Virusrezeptoren

Table 4.1 Viral receptors and coreceptors^a

Virus	Receptor	Type of molecule	Coreceptor
<i>Picornaviridae</i>			
Foot-and-mouth disease virus (cell culture adapted)	Heparan sulfate	Glycosaminoglycan	
Foot-and-mouth disease virus	$\alpha_5\beta_1$ (vitronectin receptor)	Integrin	
Encephalomyocarditis virus	Vcam-1	Ig-like	
	Sialylated glycoprotein A (for hemagglutination only)	Carbohydrate	
Poliovirus type 1 to 3	Pvr	Ig-like	
Coxsackieviruses A13, A18, A21	Icam-1	Ig-like	
Coxsackievirus A21	Decay-accelerating protein (CD55)	SCR-like (complement cascade)	Icam-1
Coxsackievirus A9	$\alpha_5\beta_1$	Integrin	
Coxsackieviruses B1 to B6	Car (coxsackievirus-adenovirus receptor)	Ig-like	
Coxsackieviruses B1, B3, B5	CD55	SCR-like (complement cascade)	$\alpha_5\beta_1$ integrin
Echoviruses 1 and 8	$\alpha_5\beta_1$ integrin (Vla-2)	Integrin	β_2 microglobulin
Echovirus 22	$\alpha_5\beta_1$ (vitronectin receptor)	Integrin	
Echoviruses 3, 6, 7, 11 to 13, 20, 21, 24, 29, 33	CD55	SCR-like (complement cascade)	β_2 microglobulin
Enterovirus 70	CD55	SCR-like (complement cascade)	
Bovine enterovirus	Sialic acid	Carbohydrate	
Hepatitis A virus	HAVCr-1	Ig-like, mucin-like	
Major group rhinoviruses (91 serotypes)	Icam-1	Ig-like	
Minor group rhinovirus (10 serotypes)	Low-density lipoprotein receptor protein family	Signaling receptor	
Rhinovirus 87	Sialic acid	Carbohydrate	
<i>Coronaviridae</i>			
Mouse hepatitis virus	Bgp (biliary glycoprotein)	Ig-like	
Human coronavirus 229E	Aminopeptidase N	Protease	
Transmissible gastroenteritis virus	Aminopeptidase N	Protease	
Human coronavirus OC43	Sialic acid	Carbohydrate	
Bovine coronavirus	Sialic acid	Carbohydrate	
<i>Togaviridae</i>			
Semliki Forest virus	Major histocompatibility class I molecule	Ig-like	
Sindbis virus	High-affinity laminin receptor	Integrin	
	Heparan sulfate	Glycosaminoglycan	
Dengue virus	Heparan sulfate	Glycosaminoglycan	
<i>Rhabdoviridae</i>			
Rabies virus	Nicotinic acetylcholine receptor	Neurotransmitter receptor	
	Neural cell adhesion molecule CD56	Ig-like	
	Low-affinity nerve growth factor receptor	Tnf receptor protein superfamily	
<i>Paramyxoviridae</i>			
Measles virus	Membrane cofactor protein, CD46	Complement-regulating protein	
Sendai virus	Sialic acid	Carbohydrate	
	Asialoglycoprotein receptor Gp-2	Transport protein (receptor-mediated endocytosis)	
<i>Orthomyxoviridae</i>			
Influenza A and B viruses	Sialic acids (N-acetyl neuraminic acid)	Carbohydrate	
Influenza C virus	Sialic acids (9-O-acetyl neuraminic acid)	Carbohydrate	
<i>Arenaviridae</i>			
Lymphocytic choriomeningitis virus	α -Dystroglycan	Laminin receptor	
Lassa virus	α -Dystroglycan	Laminin receptor	

(continued)

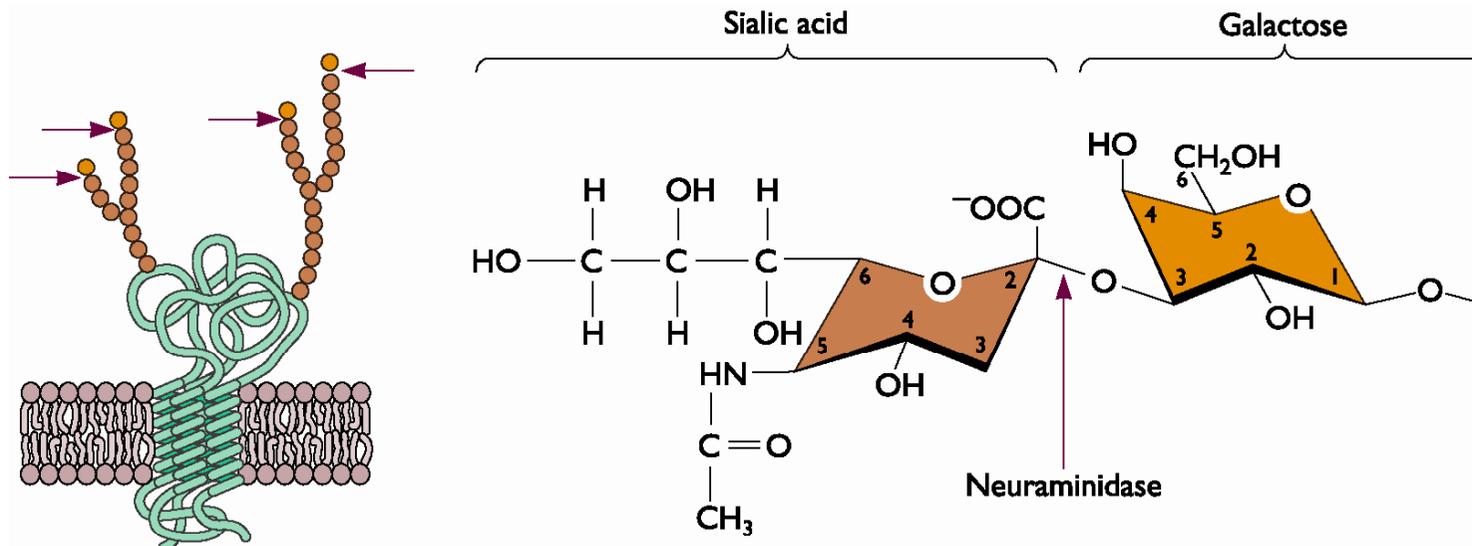
Table 4.1 Viral receptors and coreceptors^a (continued)

Virus	Receptor	Type of molecule	Coreceptor
<i>Reoviridae</i>			
Reovirus	Sialic acids	Carbohydrate	
Group A porcine rotavirus	Sialic acids	Carbohydrate	
<i>Retroviridae</i>			
Human immunodeficiency virus type 1	CD4	Ig-like	Chemokine receptors (Ccr5, Cxcr4, Ccr3)
	Galactosylceramide	Glycolipid	
Human immunodeficiency virus type 2	CD4	Ig-like	Chemokine receptors
	Cxcr4	7-transmembrane superfamily	
Simian immunodeficiency virus	CD4	Ig-like	Chemokine receptors
Gibbon ape leukemia virus	Glvrl	Sodium-dependent phosphate transport protein	
Feline leukemia virus B	Glvrl	Sodium-dependent phosphate transport protein	
Amphotropic murine leukemia virus	Ram-1	Sodium-dependent phosphate transport protein	
Ecotropic murine leukemia virus	Cat	Cationic amino acid transport protein	
Subgroup A avian leukosis and sarcoma virus	Tva	Low-density lipoprotein receptor protein family	
Subgroup B and D avian leukosis and sarcoma viruses	Car1	Tnf receptor family protein superfamily	
Bovine leukemia virus	BLVRcp 1	Unknown	
Feline immunodeficiency virus	Cxcr4	7-transmembrane superfamily	
Visna virus	Major histocompatibility complex class II molecule	Ig-like	
<i>Parvoviridae</i>			
Bovine parvovirus	Sialic acids	Carbohydrate	
Adeno-associated virus type 2	Heparan sulfate	Glycosaminoglycan	$\alpha_5\beta_1$ integrin
<i>Papovaviridae</i>			
Simian virus 40	Major histocompatibility class I molecule	Ig-like	
<i>Adenoviridae</i>			
Adenovirus subgroups A, C, D, E, F	Car	Ig-like	α_3 integrins
Adenovirus type 5 (subgroup C)	Major histocompatibility class II molecule	Ig-like	α_3 integrins
Adenovirus type 2 (subgroup C)	$\alpha_5\beta_1$	Integrin	α_3 integrins
Adenovirus type 9 (subgroup D)	α_3 integrins	Integrin	
<i>Herpesviridae</i>			
Herpes simplex type 1	Heparan sulfate	Glycosaminoglycan	HveA, Prr1
Herpes simplex type 2	Heparan sulfate	Glycosaminoglycan	HveA, Prr1, Prr2
Pseudorabies virus	Heparan sulfate	Glycosaminoglycan	Pvr, Prr1, Prr2
Bovine herpesvirus 1	Heparan sulfate	Glycosaminoglycan	Pvr, Prr1
Human herpesvirus 7	CD4	Ig-like	
Epstein-Barr virus	Complement receptor Cr2 (CD21)	SCR-like (complement cascade)	
Human cytomegalovirus	Heparan sulfate	Glycosaminoglycan	Aminopeptidase N (CD13)
<i>Poxviridae</i>			
Vaccinia virus	Heparan sulfate	Glycosaminoglycan	
	Epidermal growth factor receptor	Signaling receptor	

^aThe name of the receptor and the type of molecule are listed for selected viruses. When coreceptors have been identified, they are listed; a blank in the coreceptor column indicates that none have been identified to date. Abbreviations: Vcam, vascular cell adhesion molecule; Prr1, Prr2, Pvr-related proteins 1 and 2; SCR, short consensus repeat; Ig, immunoglobulin; Tnf, tumor necrosis factor; Car1, cytopathic avian leukosis and sarcoma virus receptor; Car, coxsackievirus and adenovirus receptor; HveA, herpesvirus entry mediator.

Sialinsäure als Virusrezeptor

Virale Rezeptoren müssen nicht notwendigerweise Proteinstrukturen sein
Beispiel: Sialinsäure = N-Acetylneuraminsäure bei Influenza A und B Virus



Erster identifizierter Virusrezeptor (bis 1985 auch einziger)
-Vorbehandlung der Zellen mit Neuraminidase führt zur Abrogation der Virusbindung und Infektion

Evolutionäre Verwandtschaft von Viren und Rezeptorverwendung

Evolutiv nahe verwandte Viren können völlig unterschiedliche Rezeptoren benutzen. Beispiel: „major“ und „minor group“ humaner Rhinoviren.

**„major group“ huRV benutzt ICAM-1
„minor group“ huRV benutzt LDL-R**

Evolutiv nicht verwandte Viren können den gleichen Rezeptor verwenden. Beispiel: Masernvirus und humanes Herpesvirus 6 benutzen CD46.

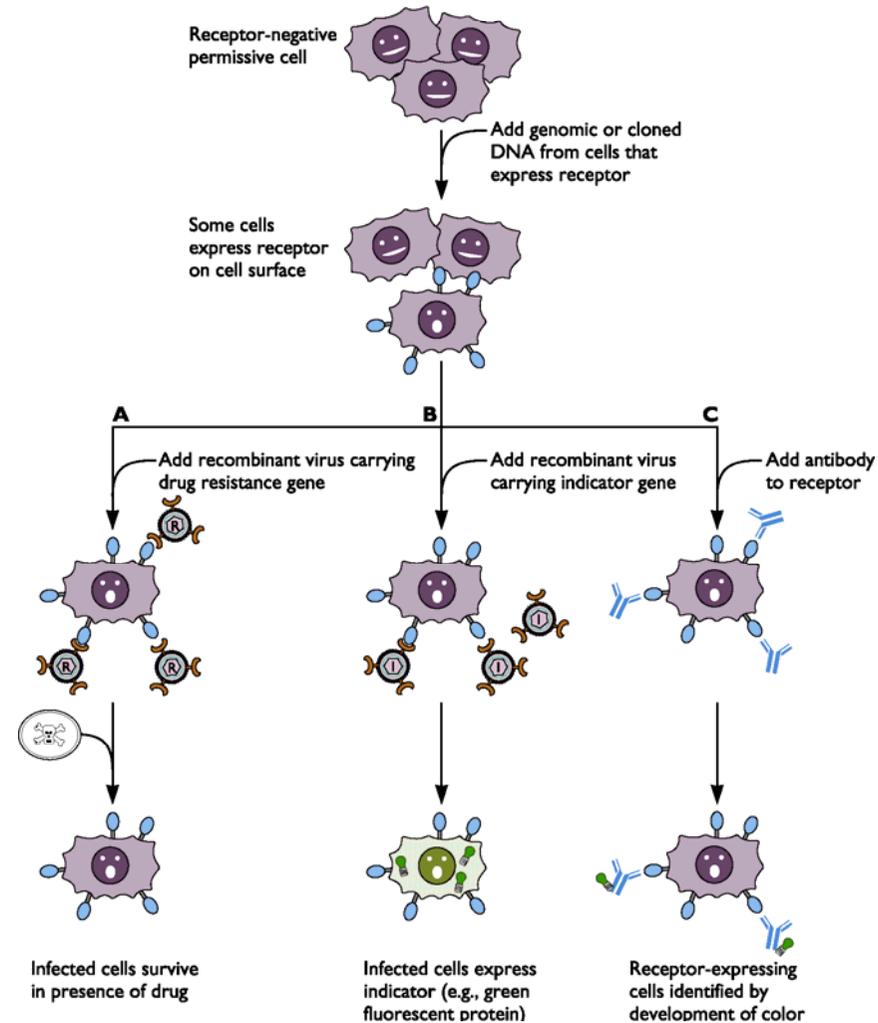
- ⇒ Aus der Rezeptorverwendung lässt sich nicht auf die evolutionäre Verwandtschaft von Viren schließen**
- ⇒ Viren mit unterschiedlichen Rezeptorverwendungen (und damit oft unterschiedlichen Tropismen) können evolutiv eng miteinander verwandt sein. Beispiel Poliovirus und Cocksackieviren**

Strategien zur Identifikation zellulärer Virusrezeptoren

- 1. Generierung monoklonaler Antikörper gegen Zelloberflächenstrukturen**
- 2. Kompetitionsanalyse mit löslichen viralen und zellulären Komponenten**
- 3. Affinitätschromatographie –biochemische Methoden**
- 4. Genetischer Ansatz: Transfektion permissiver, nicht-suszeptibler Zellen mit cDNA Bank aus einer infizierbaren Zelllinie**

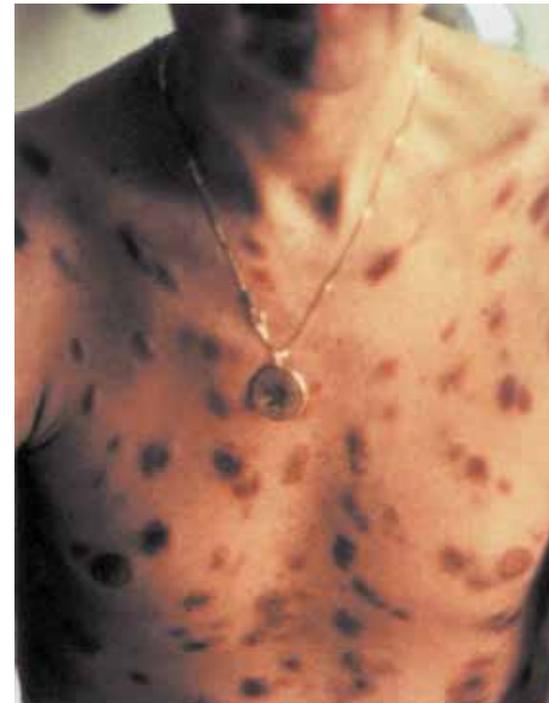
**Experimenteller Rezeptornachweis: Transfektion des klonierten Rezeptors
In nicht infizierbare aber permissive Zielzelle unter Rekonstitution der Infizierbarkeit
z.B. CD4 in HeLa führt zur Infizierbarkeit mit HIV**

Experimentelle Strategien zur Identifikation und Isolierung zellulärer Gene viraler Rezeptoren



Kaposi's sarcoma-associated herpes virus (KSHV; HHSV-8)

- Kaposi's sarcoma (KS): first described in 1872 by Moritz Kaposi.
- multifocal cancer, lesions contain many cell types from endothelial origin (e.g. spindle cells)
- Tumours contain infiltrating inflammatory cells and many newly formed blood vessels.
- „Classical form“ of KS is found in older men from the mediteranian rim and Eastern europe.
- Here, and in immunocompetent individuals KS appears non-aggressive, is confined to the skin and is rarely lethal
- In HIV-infected men KS is more aggressive (20% of HIV infected homosexual men, 2% in HIV-infected women)
- Epidemiological studies suggested that not HIV but another sexually transmitted virus is the inducing agent of KS.
- KSHV is the causative agent of Kaposi's sarcoma (KS) and other lymphoproliferative syndromes
- KS is predominantly found in immunocompromised individuals, including those with HIV/AIDS



Reprinted from Color Plate 13 of J. A. Levy, *HIV and the Pathogenesis of AIDS*, 2nd ed. (ASM Press, Washington, D.C., 1998), with permission.

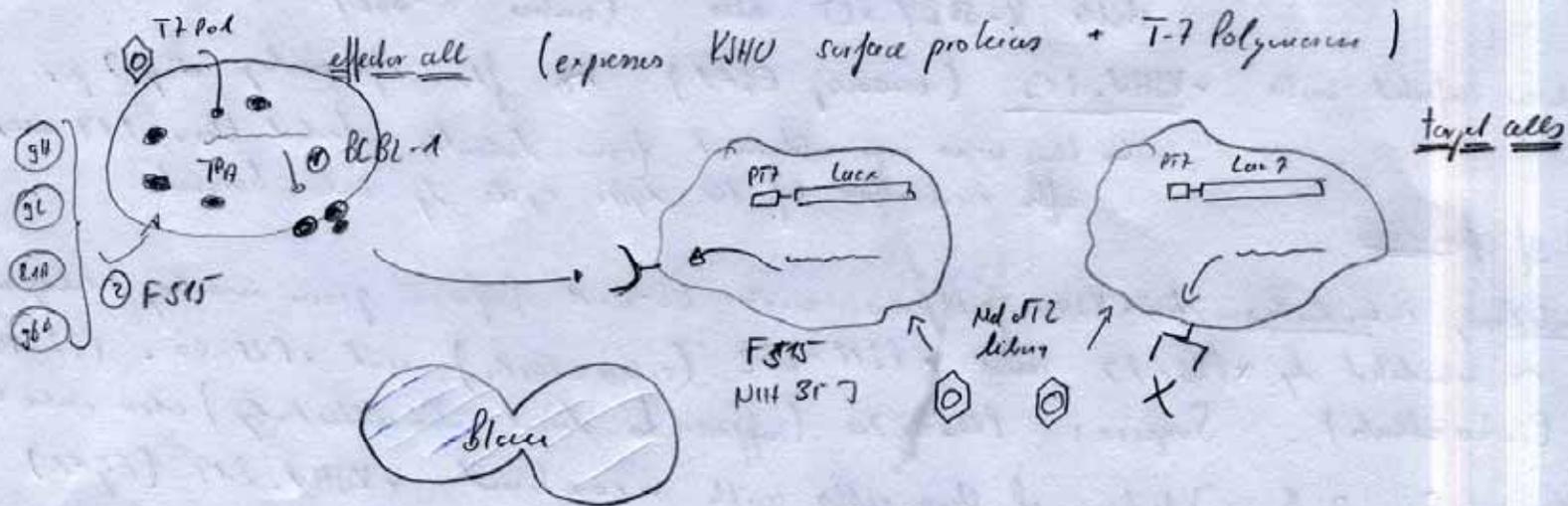
Method/principle: Functional complementary DNA selection using a vaccinia based cell fusion assay

Method: Vaccinia-based strategy to identify cell/cell fusion.

effector cells: express the surface proteins of KSHV responsible for fusion (entry).

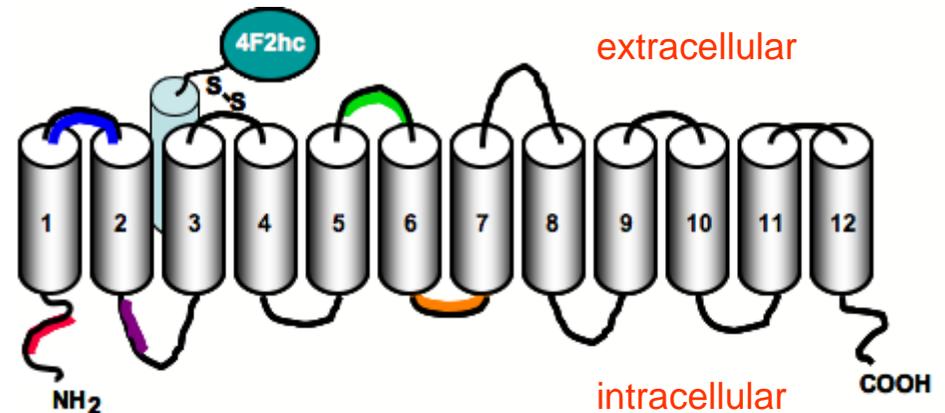
- 2 types of cells:
- ① BCBL-1, stimulated with TPA (chronically infected lymphoma cell)
 - ② F545 mouse fibroblast, lipofected with mixture of gH, gL, vB, vC, gB
- both cells were infected with vaccinia T7 Pol expressing virus.

"target cells" expressing a cDNA library Md dT2 of Md-1700 unknown cell line (highly permissive for KSHV glycoprotein mediated fusion) in a vaccinia virus library. In addition the LacZ gene with T7 promoter coded



The 501 amino acid xCT light chain of the amino acid transport system x_c^- is enriched through sequential selection

- The fusion conferring cDNA sequence encodes the human xCT
- xCT is a 501 amino acid protein that builds the light chain of a heterodimeric amino acid transporter (HATS)
- The holo-enzyme called x_c^- mediates uptake of extracellular L-cystine coupled to the efflux of L-glutamate
- The non-glycosylated light chain is coupled by a Cys-Cys bond to the 4F2-heavy chain (CD98) and mediates substrate specificity (here cystine/glutamate).
- 4F2 heavy chains are coupled to many different 12 TMD light chain proteins building a whole family of amino acid transporters giving rise to various substrate specificities
- 4F2hc is a ubiquitous multifunctional type 2 transmembrane protein.



<u>Peptide</u>	<u>Sequence</u>	<u>Rabbit sera</u>
P25-40	QPSLGNKEPPGQEKVQL	KAL-1, KAL-2
P66-77	QPKGVLQNTGSVG	KAL-3, KAL-4
P97-109	QYAELGTTIKKSGG	KAL-5, KAL-6
P218-232	TQNFKDAFSGRDSSIQ	KAL-7, KAL-8
P255-270	VTEEVENPEKTIPLAIQ	KAL-9, KAL-10

Proposed topology of xCT and peptides used for the subsequent functional studies

Beispiele für Virus-Rezeptorinteraktionen: 1. Picornaviren

Poliovirus und humanes Rhinovirus sind Prototypen nackter Animalviren

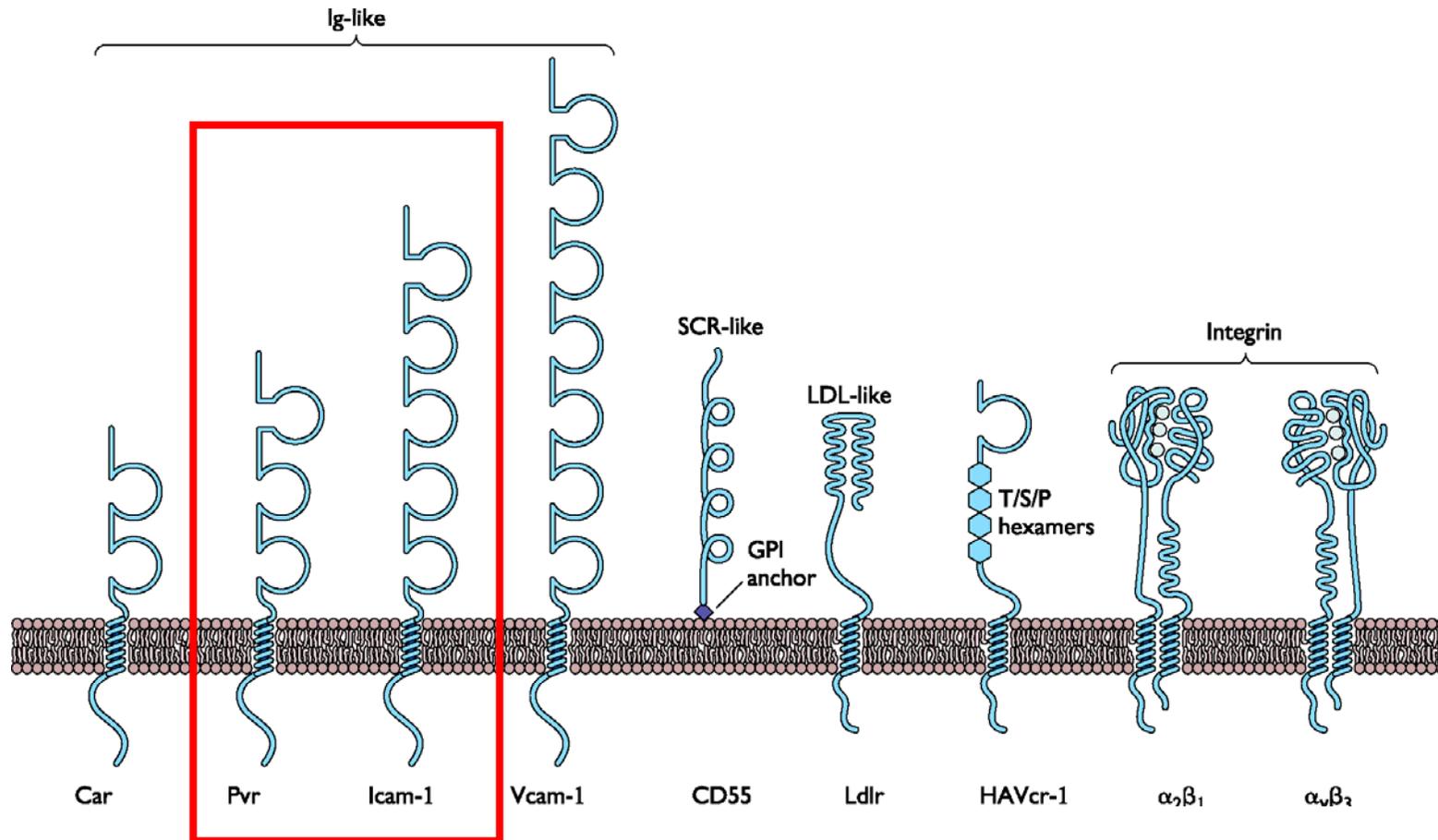
Beides sind lytische Viren (generelles Kennzeichen nackter Animalviren)

Strukturelle Details der Rezepto/Viruserkennung sind bekannt

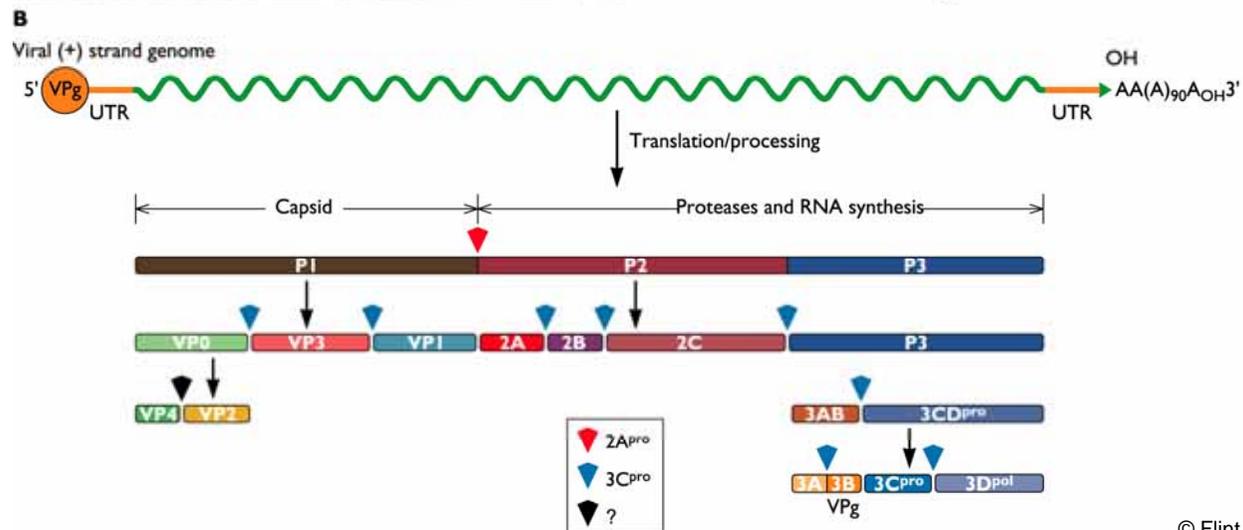
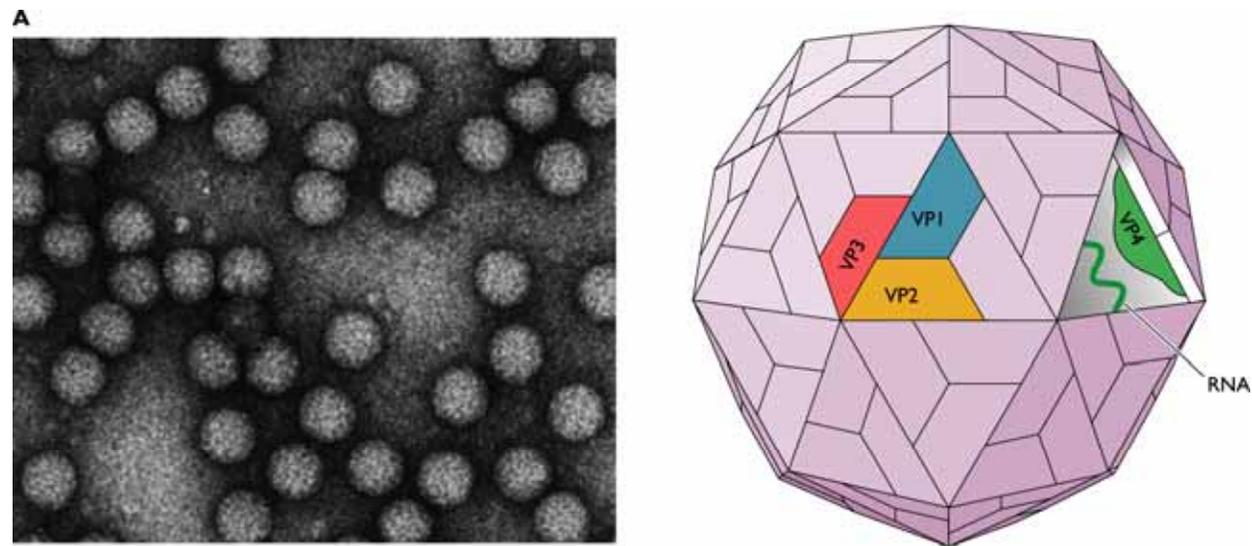
Kristallstrukturen von HRV und HPV sowie für ICAM-1 und PVR sind gelöst

**ICAM-1 und PVR gehören zur Klasse der Immunglobulin Superfamilie
(wie IgGs oder T-Zellrezeptor)**

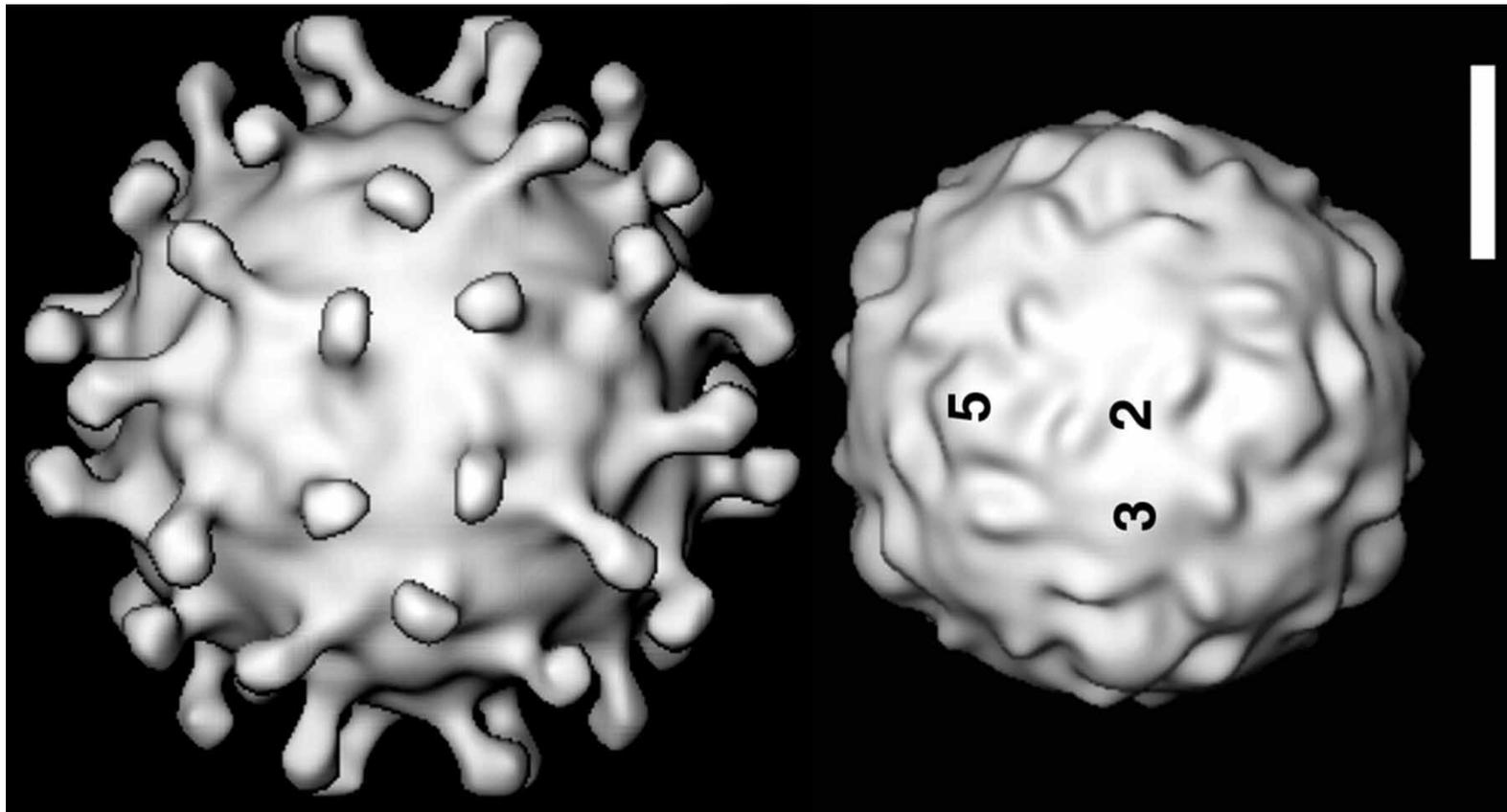
Zelluläre Rezeptoren für Picornaviren



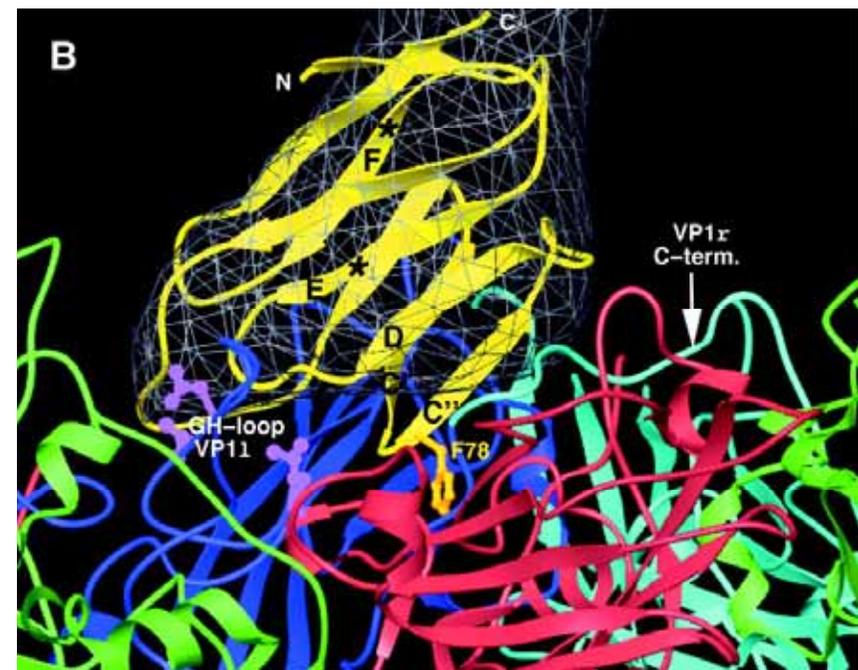
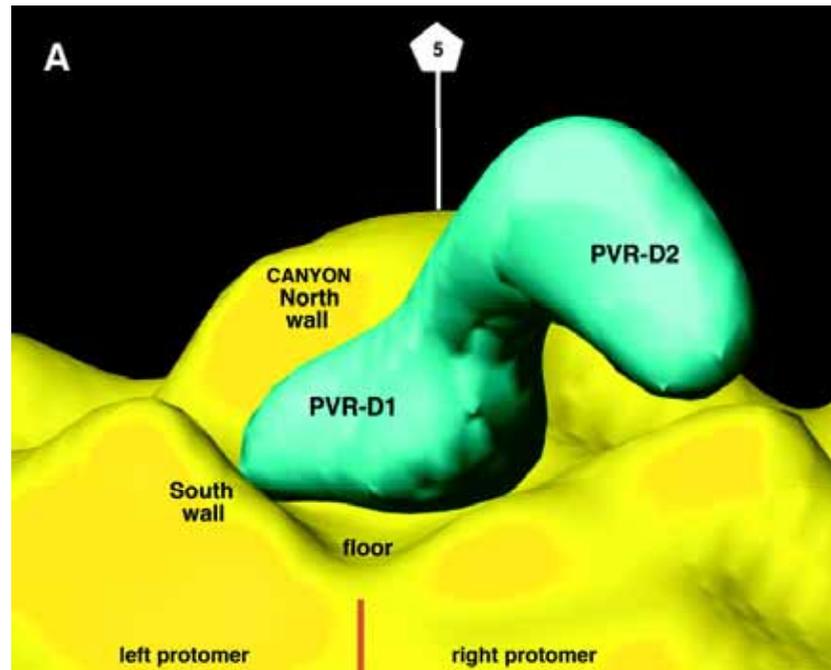
Struktur und Genomorganisation des (+) Strang Picornavirus: Poliovirus



Kryoelektronenmikroskopische Analyse des PV/Rezeptor Komplexes

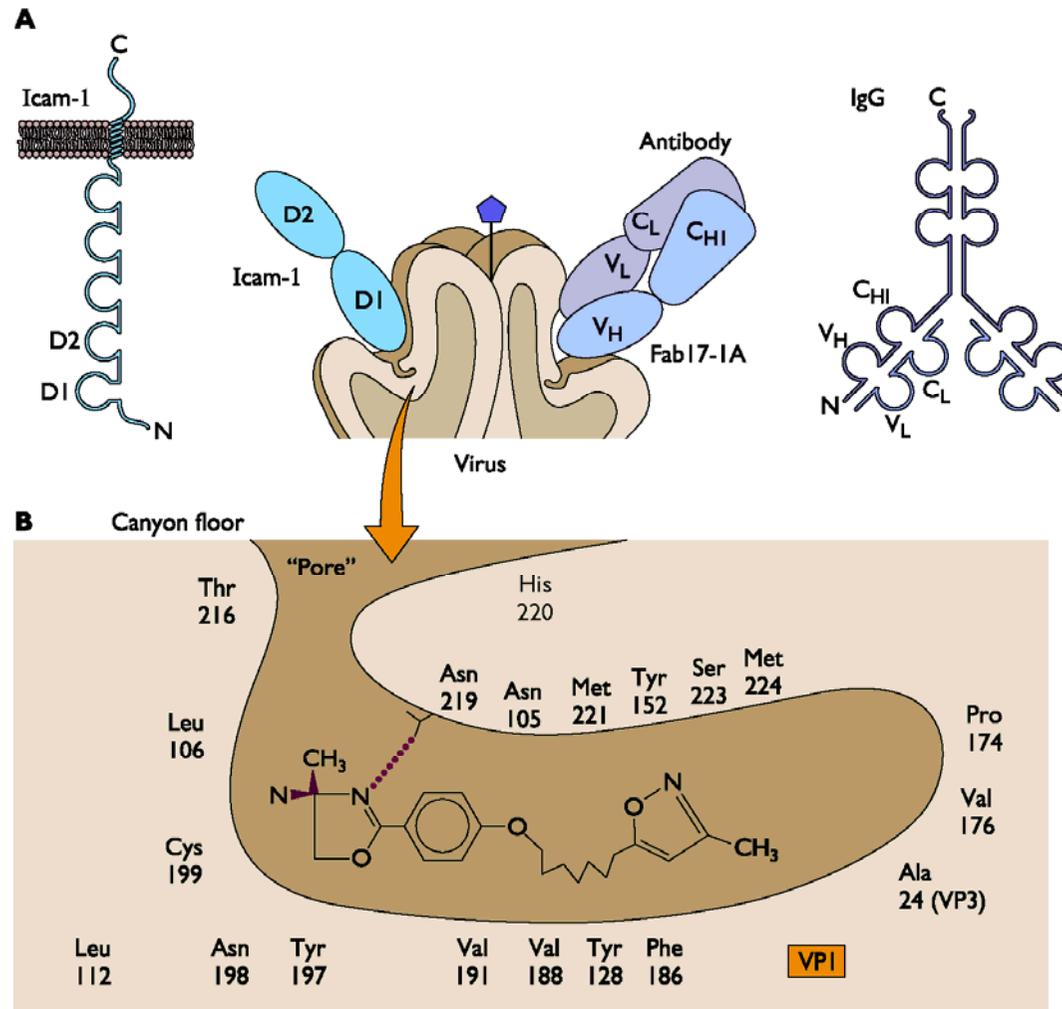


Interaktion des Poliovirusrezeptors am Fuß des „Canyons“



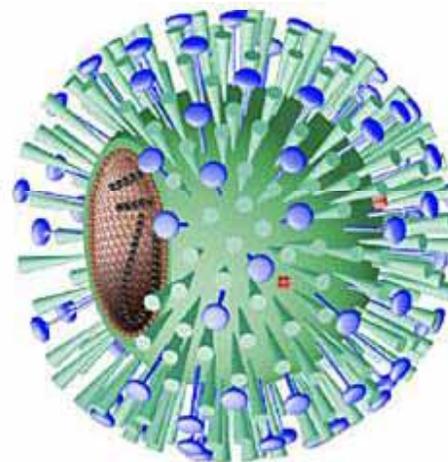
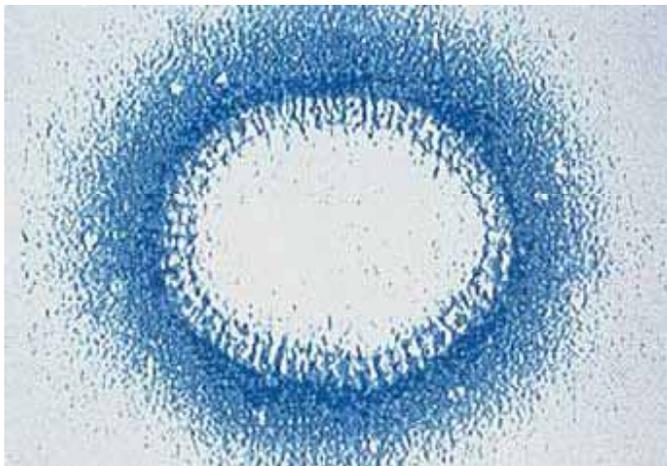
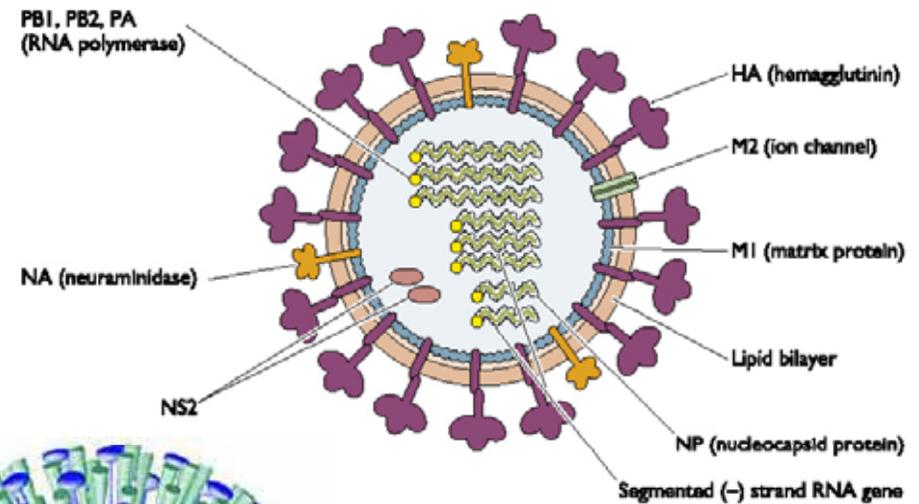
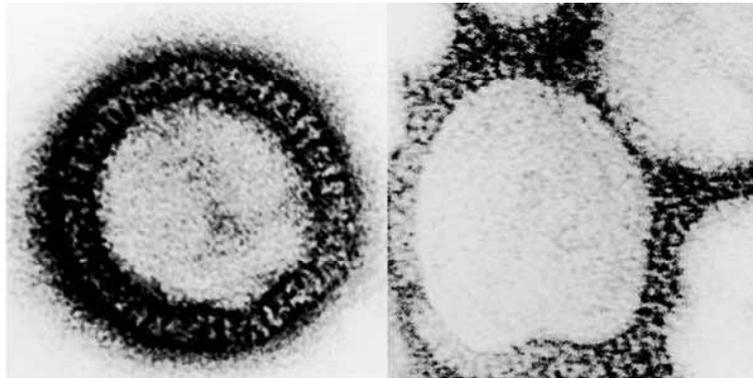
Worin liegt der Vorteil der gewissermaßen versteckten Rezeptorinteraktion am Boden des Canyons???

Rezeptor-, Antikörper- und Inhibitorbindung am Kapsid von Picornaviren

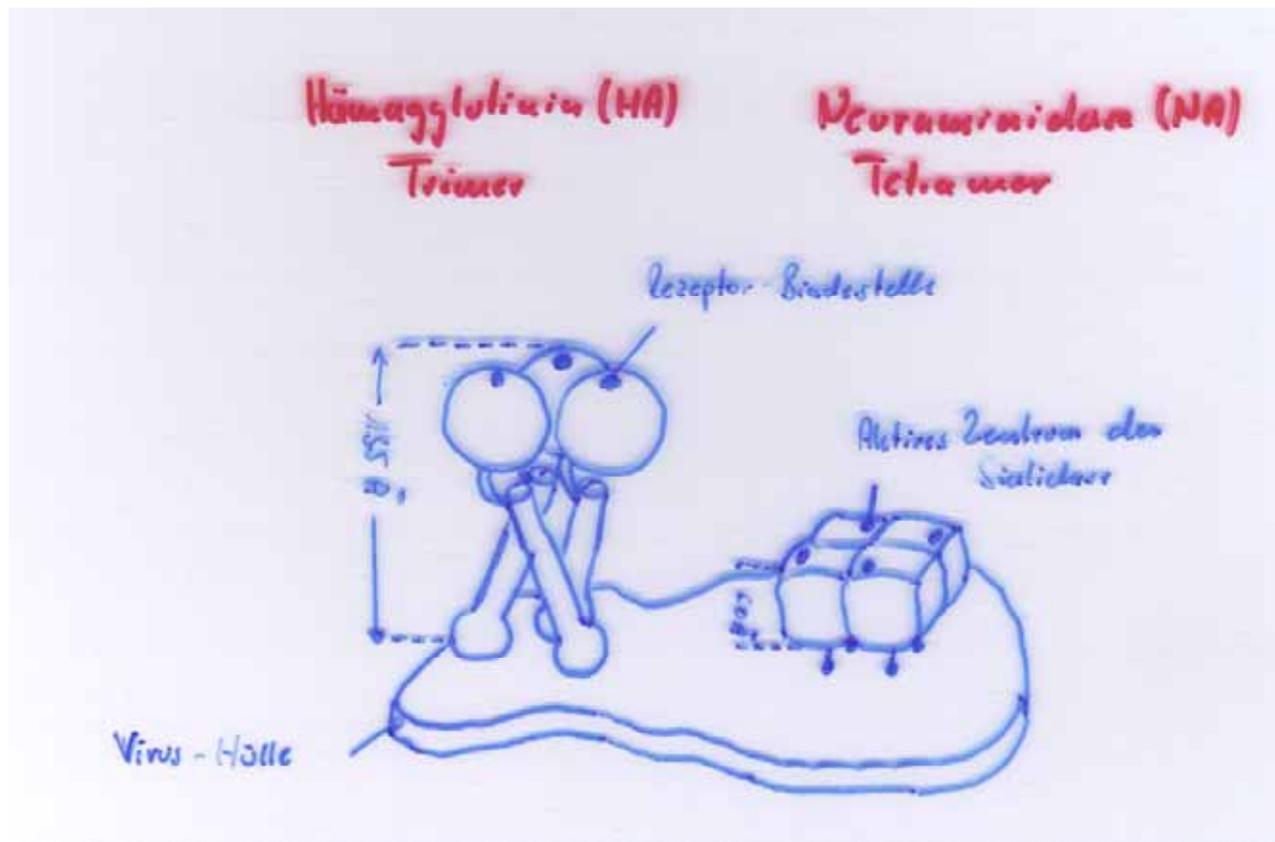


Beispiele für Virus-Rezeptorinteraktionen: 2. Influenza A

Struktur des segmentierten (-) Strang Orthomyxovirus: Influenza A

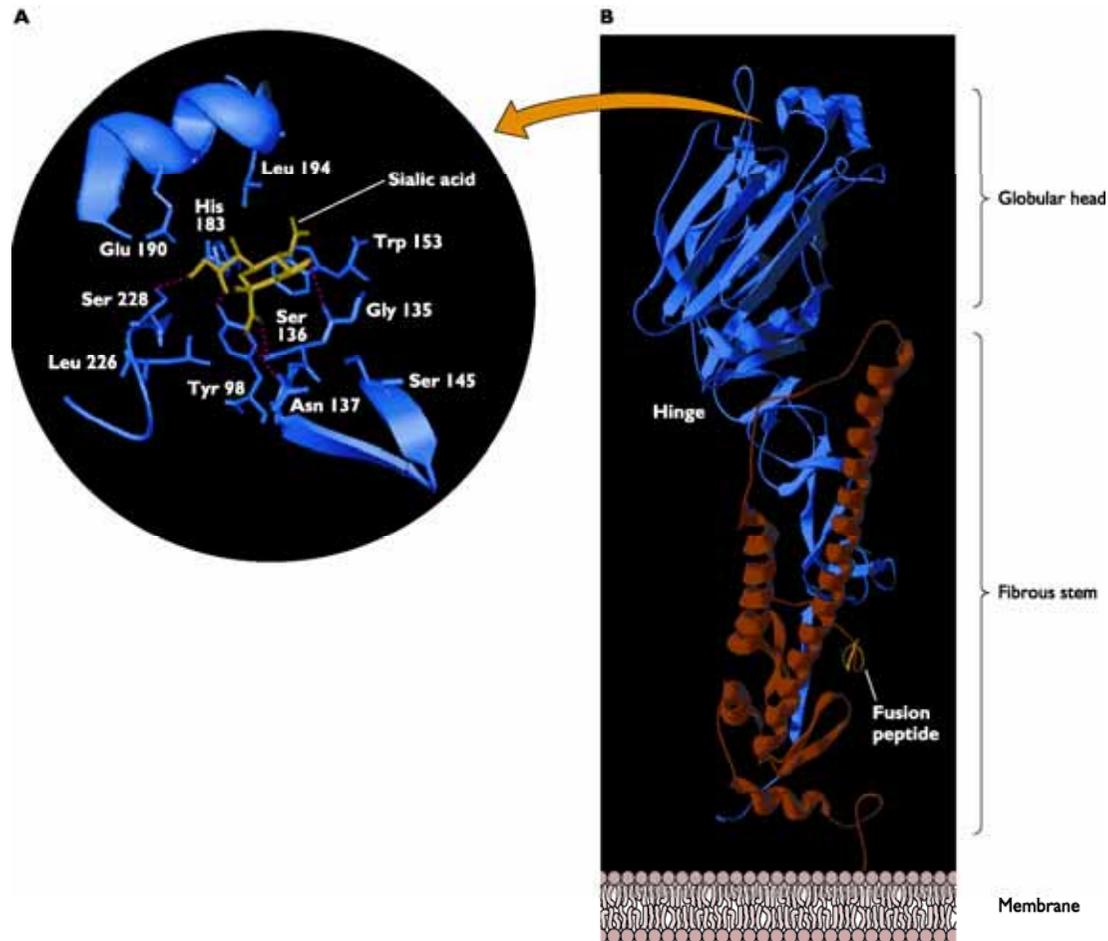


Struktur und Geometrie des Influenza Hämagglutinin (HA) und der Neuraminidase NA



Struktur des monomeren Influenza Hämagglutinin

Struktur des Sialinsäure/Rezeptor Komplexes



Die Anheftung (attachment) von Viren an Zielzellen bedingt oft die Wirtsspezifität und den Gewebstropismus

Sie erfolgt unabhängig von Stoffwechselleistungen des Wirtes

Bindung des Liganden an den Rezeptor geht häufig mit Konformationsänderungen einher

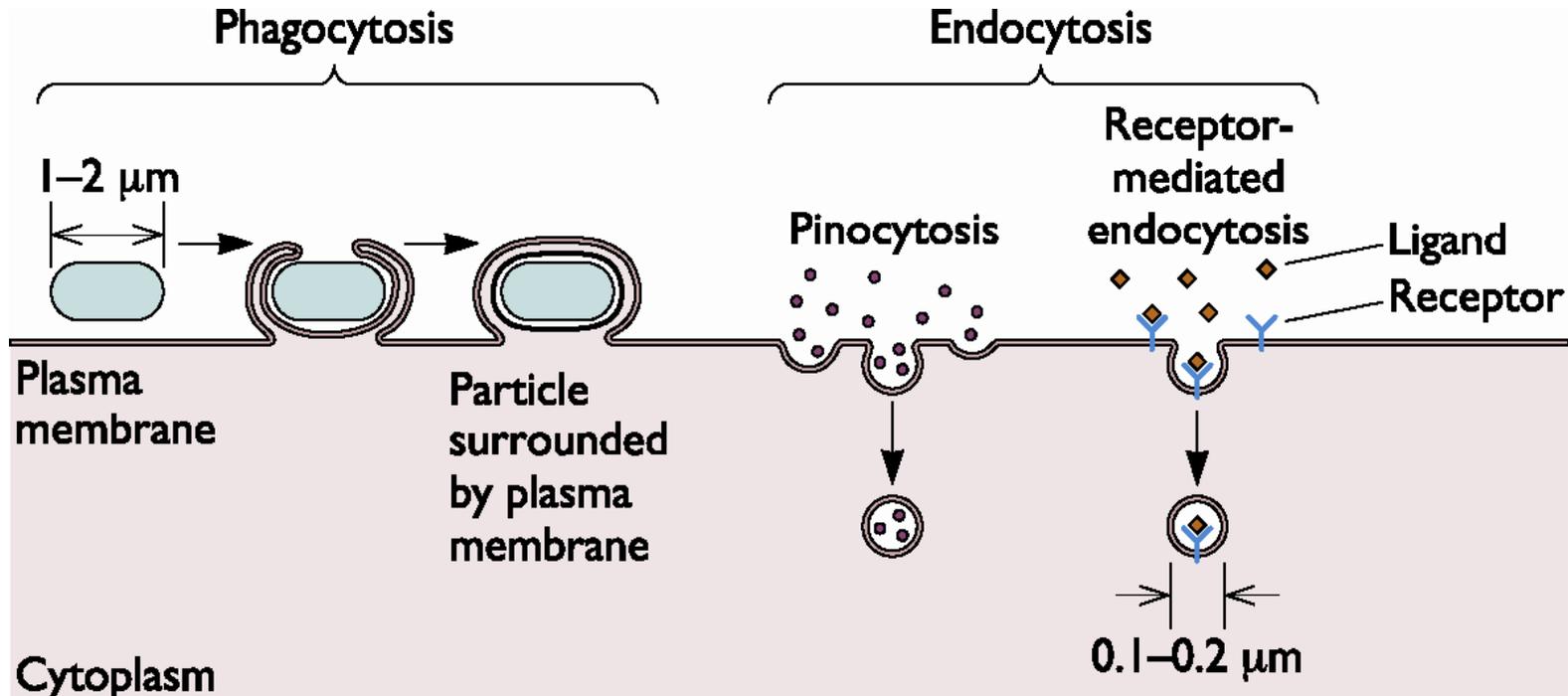
Der Bindung folgt die Penetration (=Zugang zum Cytoplasma)

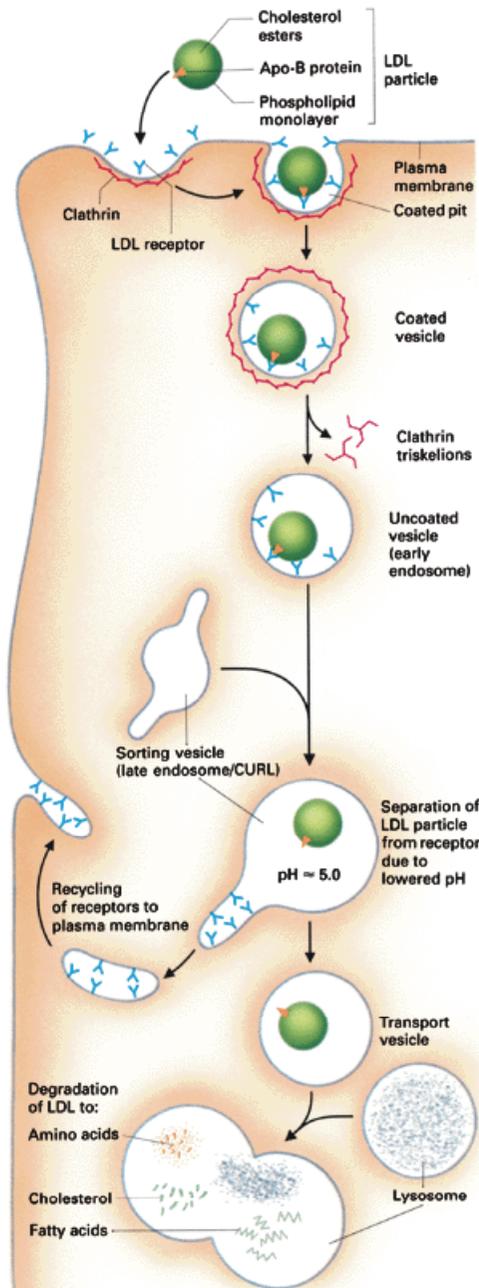
Dieser Schritt ist energieaufwändig, d.h. die Zelle muß Stoffwechselleistungen erbringen

Der Zugang des Nukleokapsids ins Zytoplasma erfolgt in den meisten Fällen durch rezeptorvermittelte Endozytose gefolgt von der Fusion der Virusmembrane mit der Wirtsmembrane

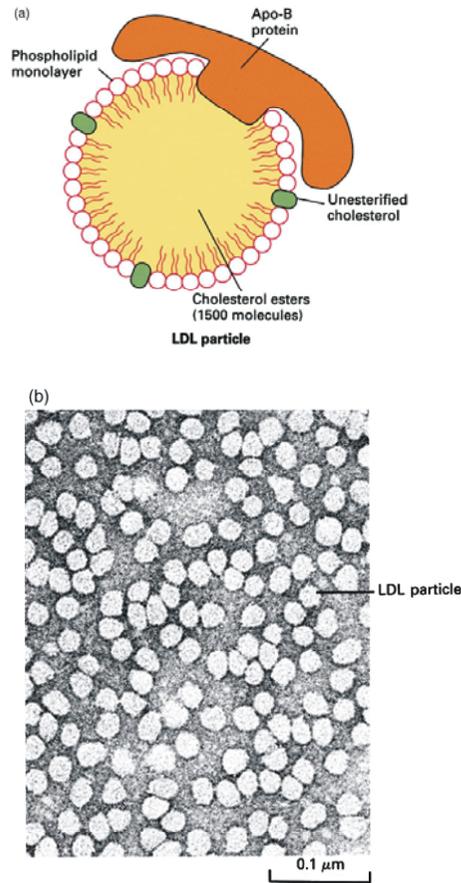
**Endozytose erfordert (außer des viralen RBP) nur zelluläre Proteine
Zur Fusion sind in der Regel virale Fusionsproteine erforderlich**

Mechanismen der Aufnahme von Makromolekülen



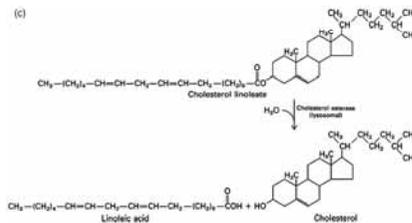


LDL-Endocytose



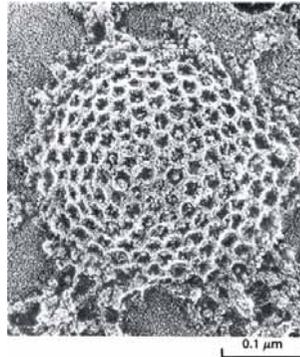
Rezeptorvermittelte Endozytose von LDL mit seinem Rezeptor

- Rezeptorbindung
- Bildung von „coated pit“
- Bildung von „Clathrin coated vesicle“
- Auflösung des Clathringerüsts
- Bildung eines „early endosomes“
- Verschmelzung mit „curls“
- Ansäuerung
- pH induzierte Ablösung von LDL
- Rezeptorrecycling
- Verschmelzung mit Lysosom
- Degradation von LDL zu AS, Chol., FS

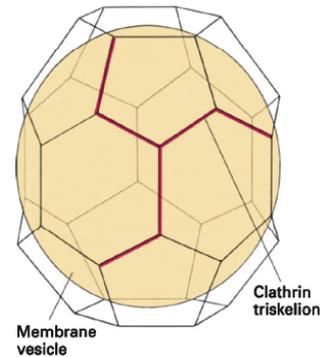


Clathrin-coated pits und Clathrin-coated vesicles

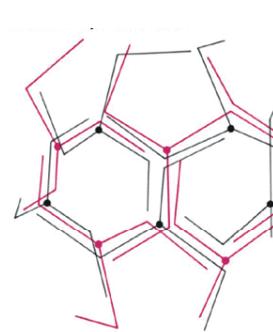
EM eines "coated-pit"



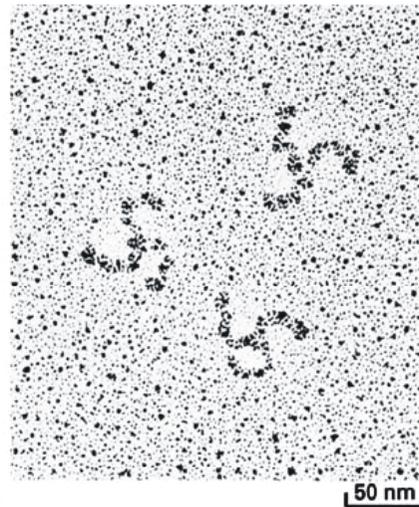
Modell eines "coated-vesicle"



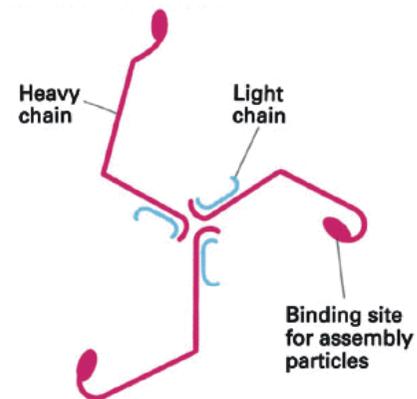
Assembly-Intermediat



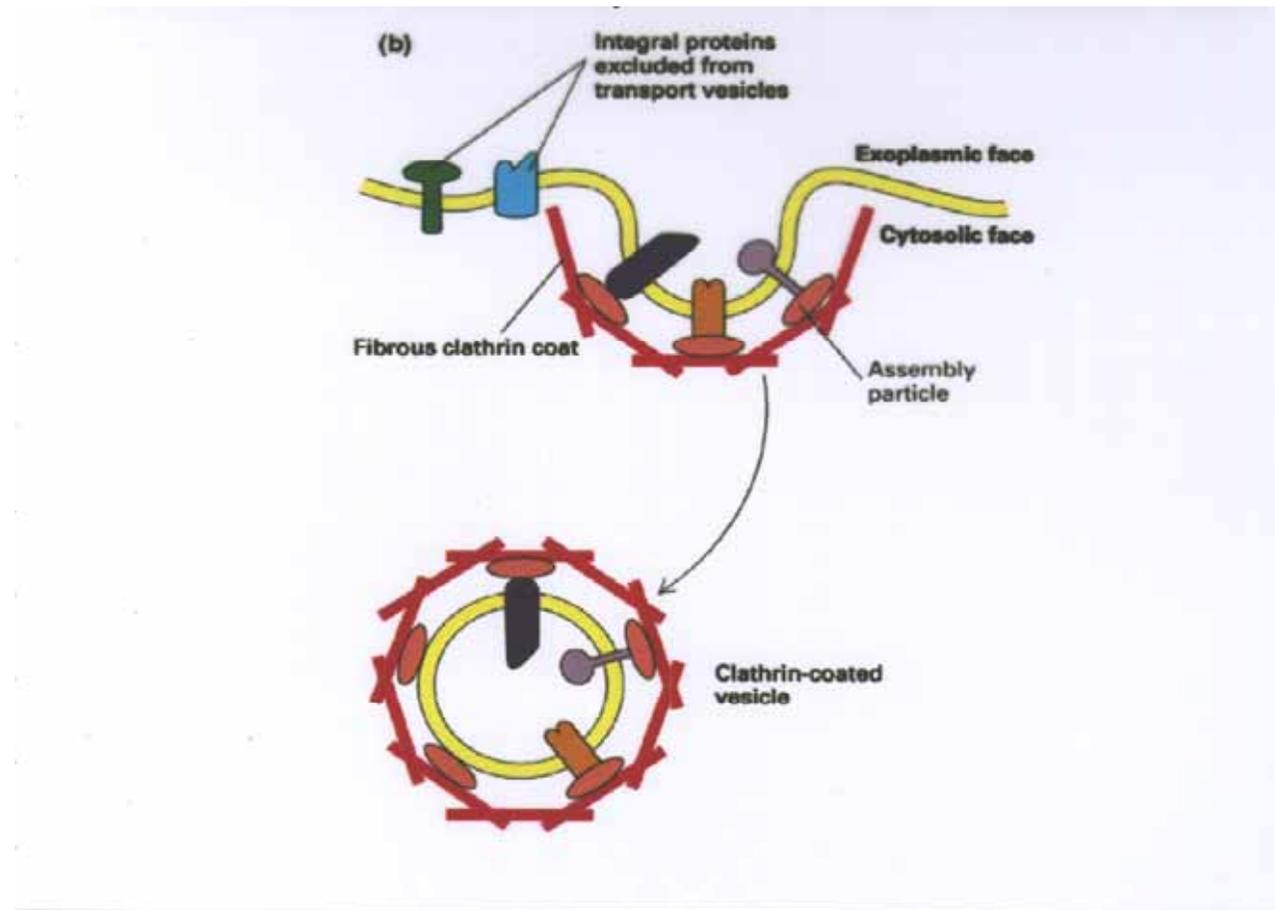
EM-Aufnahme gereinigter Triskelions



Molekularer Aufbau eines Triskelions

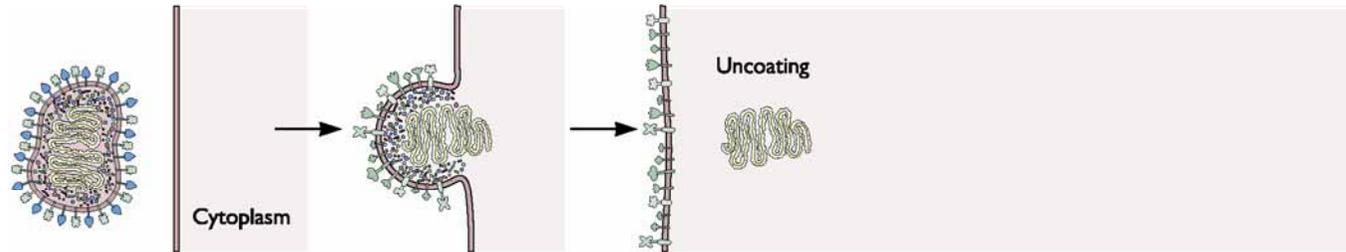


Cytoplasmatische Domänen im Rezeptor regeln die Endozytose durch Bindung an Adaptermoleküle

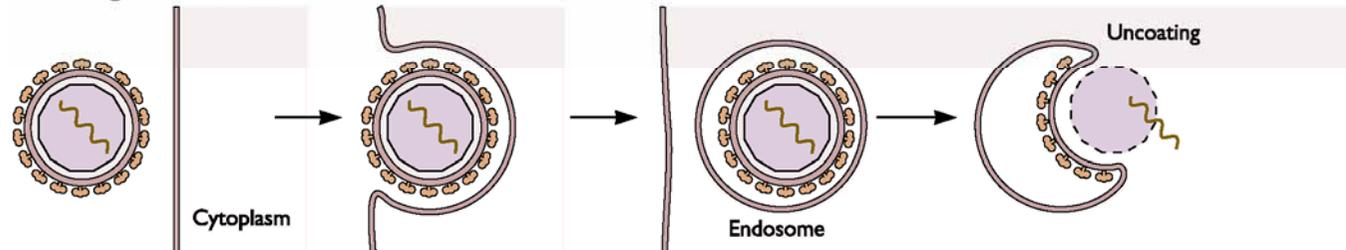


Drei Strategien des „uncoating“

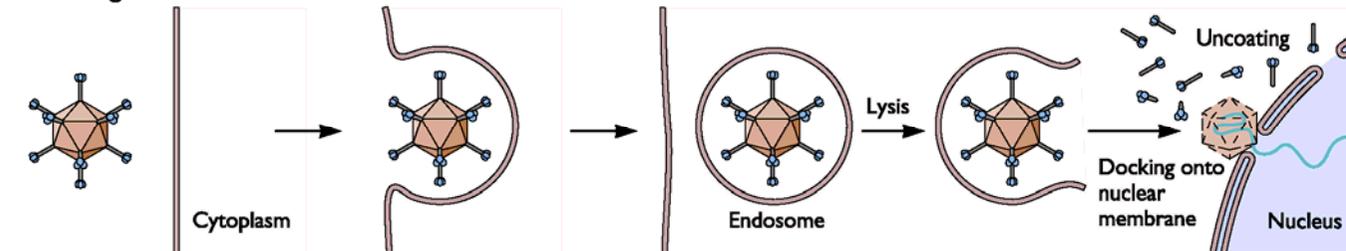
Uncoating at the plasma membrane



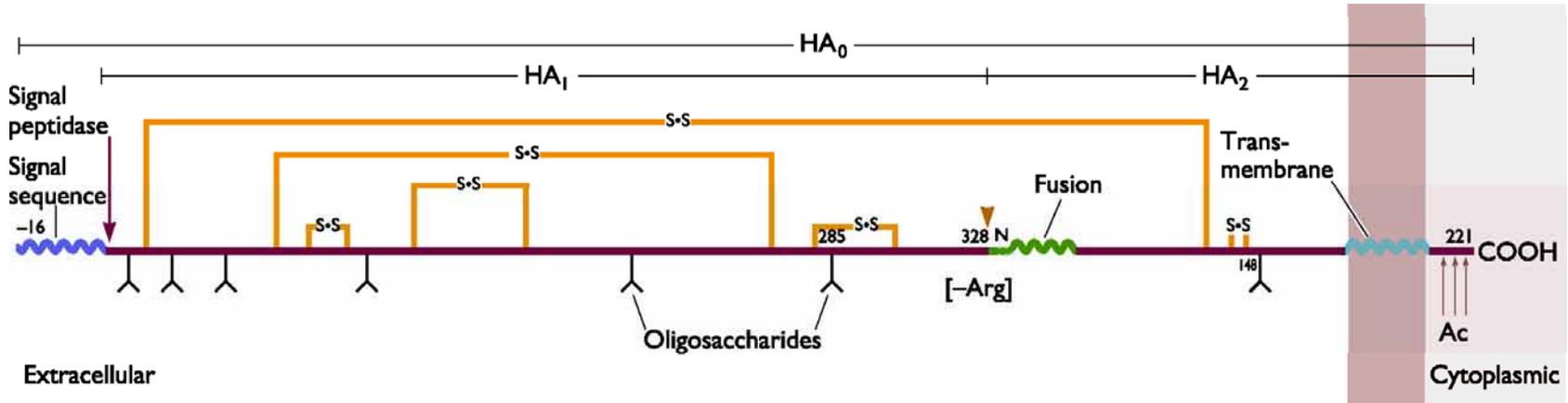
Uncoating within endosomes



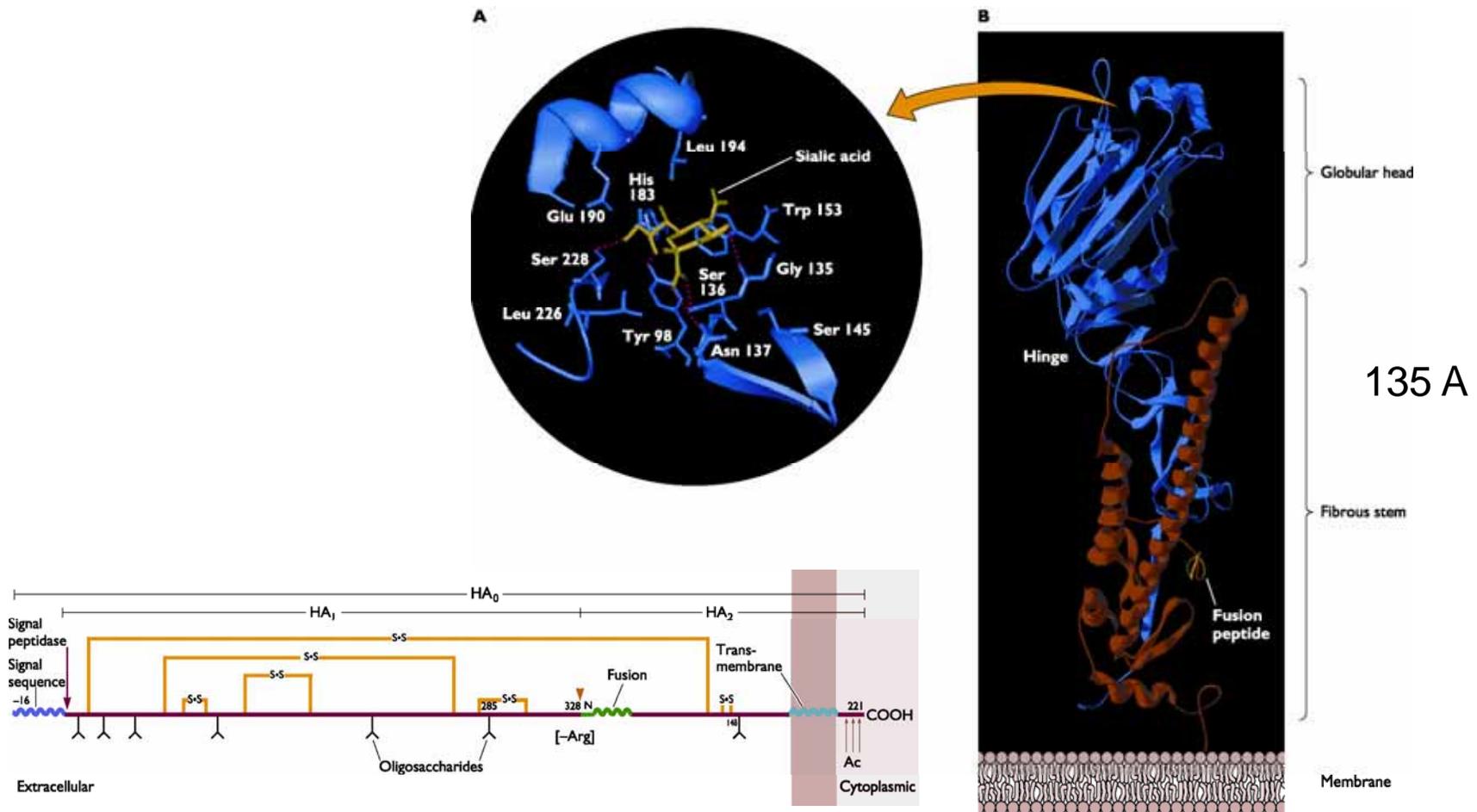
Uncoating at the nuclear membrane



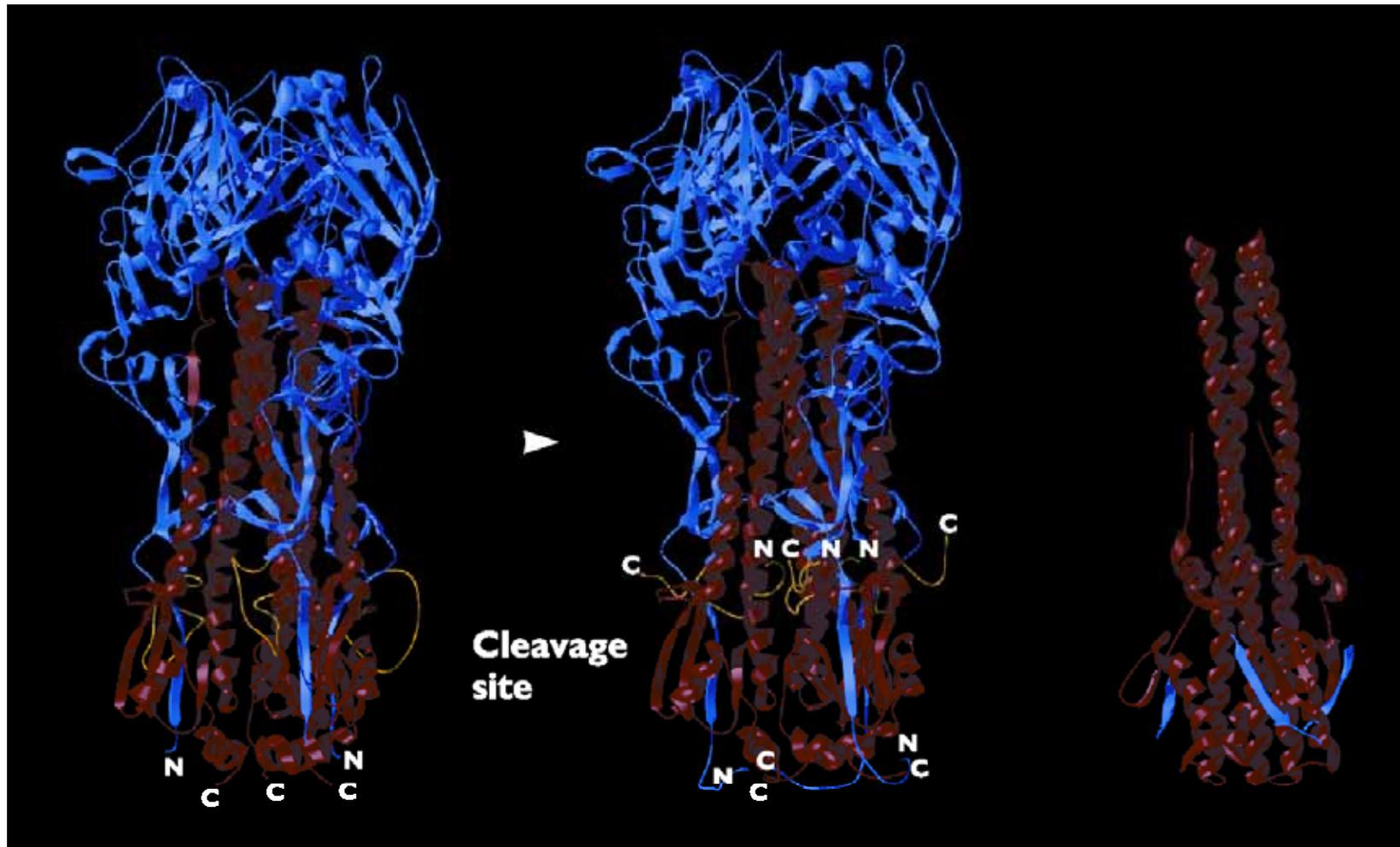
HA Struktur: Spaltung von HA0 in HA1 und HA2



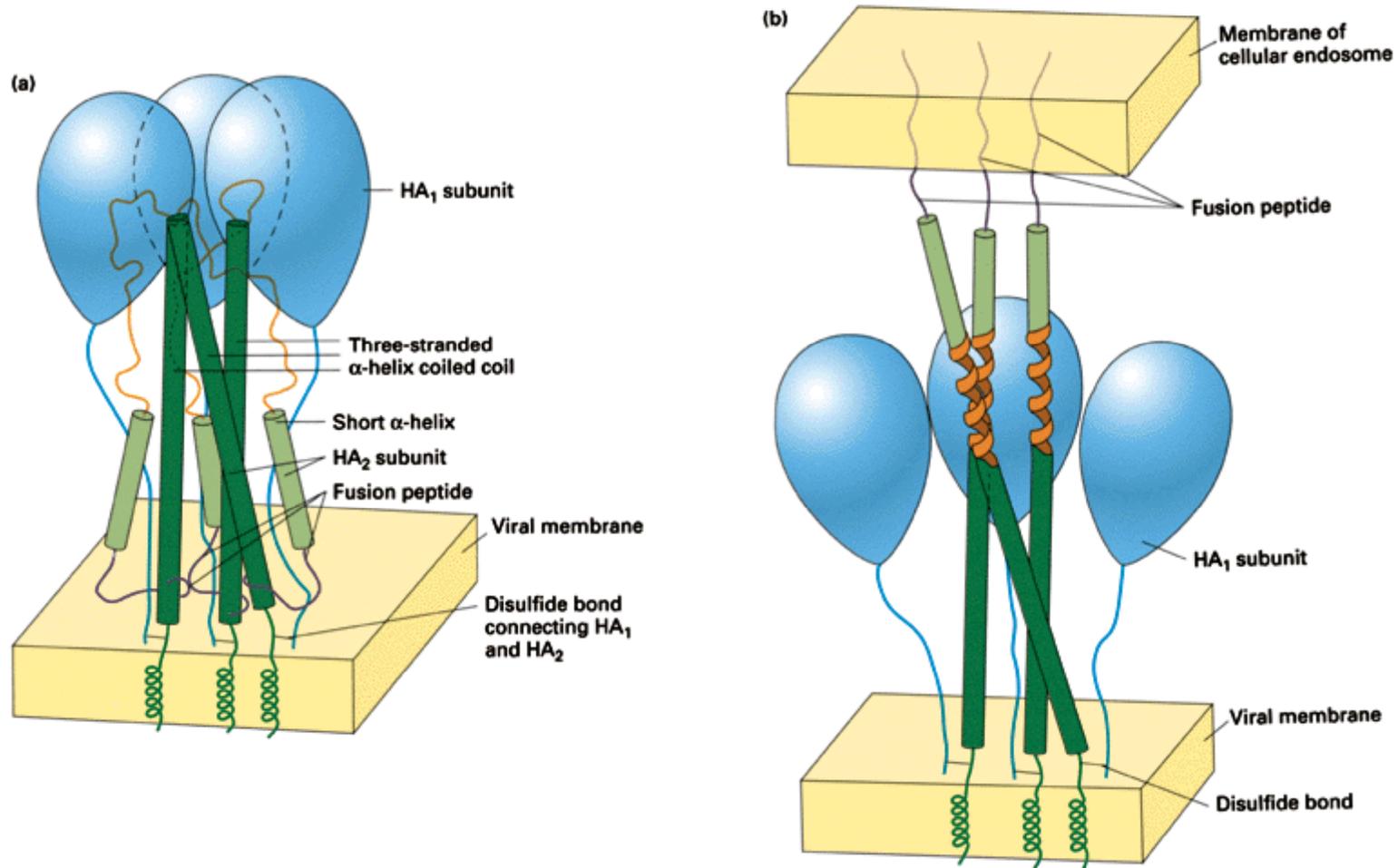
Schematische Darstellung der HA Sequenz und der 3D Struktur bei neutralem pH



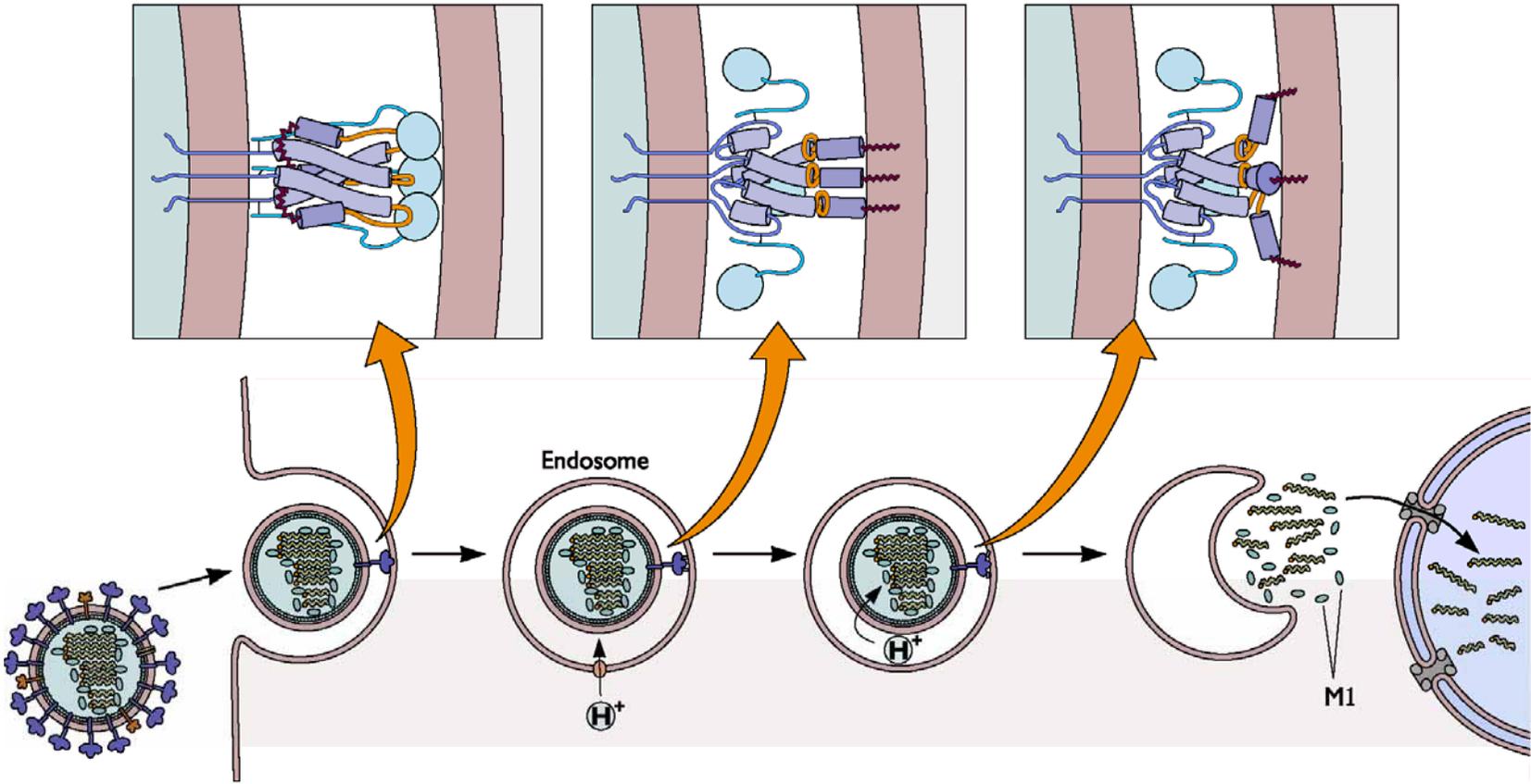
Rückrat des trimären Influenza HA bei neutralem pH

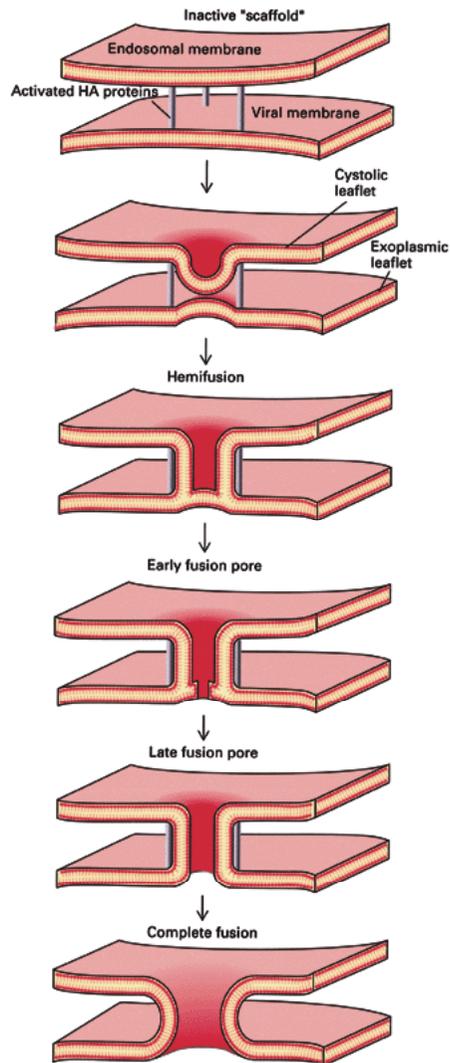


pH-induzierte Konformationsänderung von HA



Modell der pH-induzierten Konformationsänderung im Zuge des Fusionsprozesses

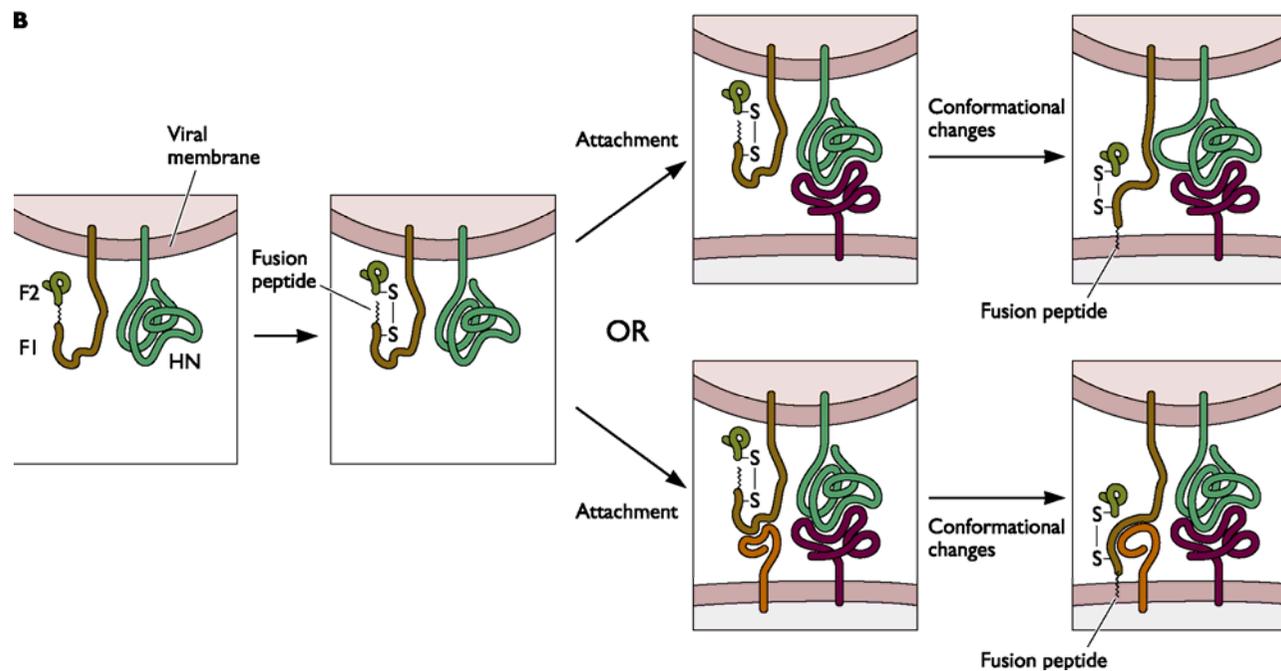
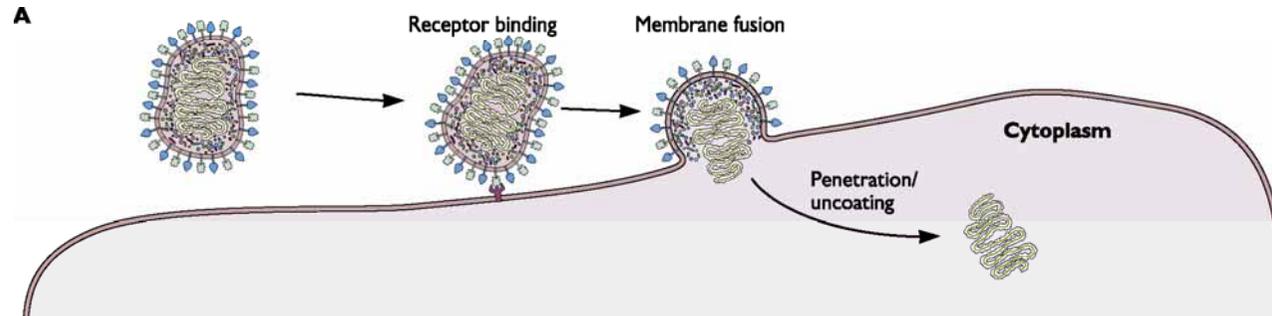




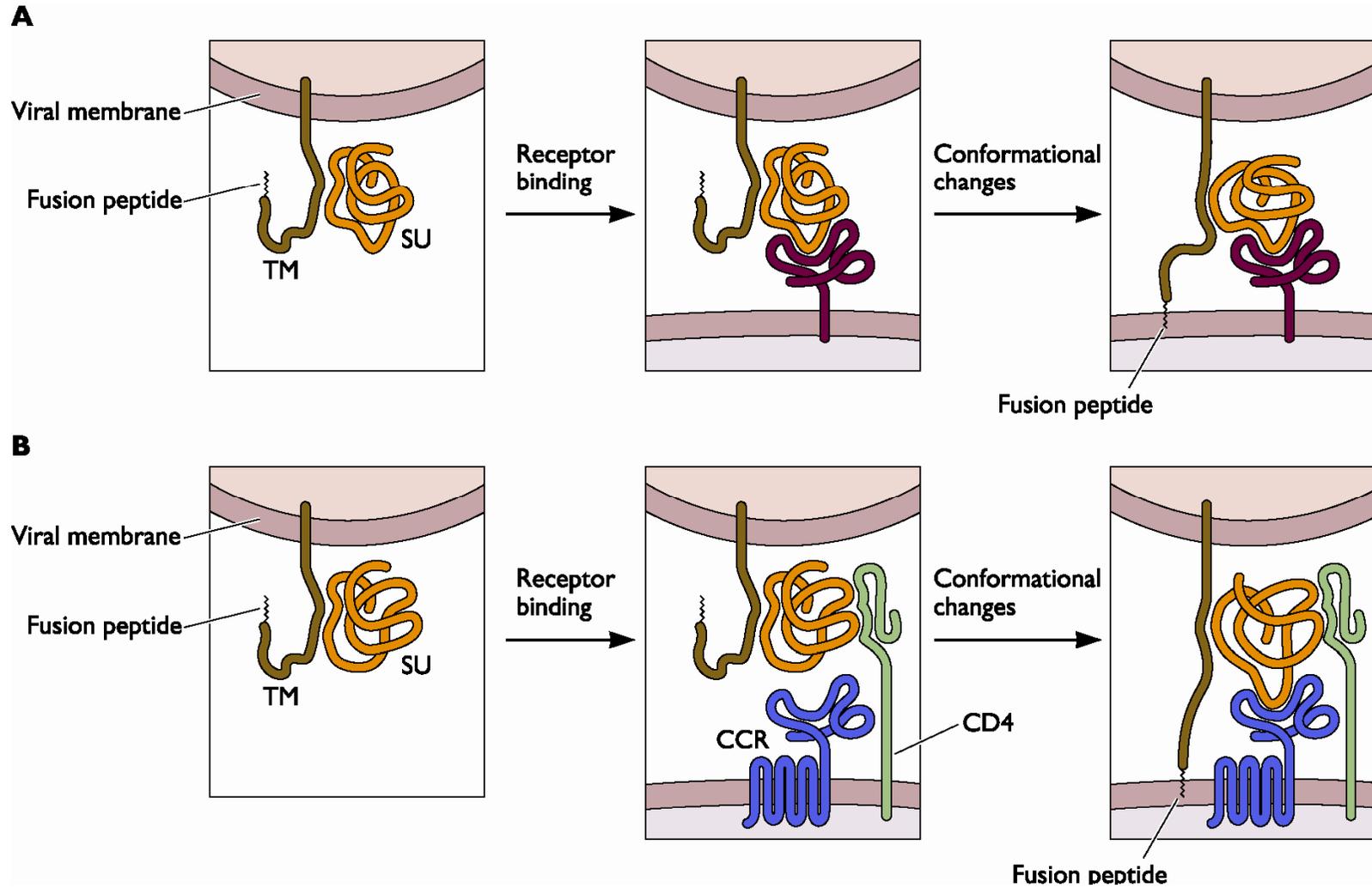
Der Membranfusionsprozess verläuft in mehreren Schritten

1. Verbrückung der beiden Membranen durch das virale Fusionsprotein
2. Annäherung beider Membranen durch Konformationsänderung
3. Ausbildung eines six helix bundle
4. Verschmelzung der beiden äußeren „leaflets“ (Hemifusion)
5. Ausbildung einer frühen Fusionspore
6. Ausbildung einer späten Fusionspore
7. Komplette Fusion beider Membranen, Freisetzung des Kapsids

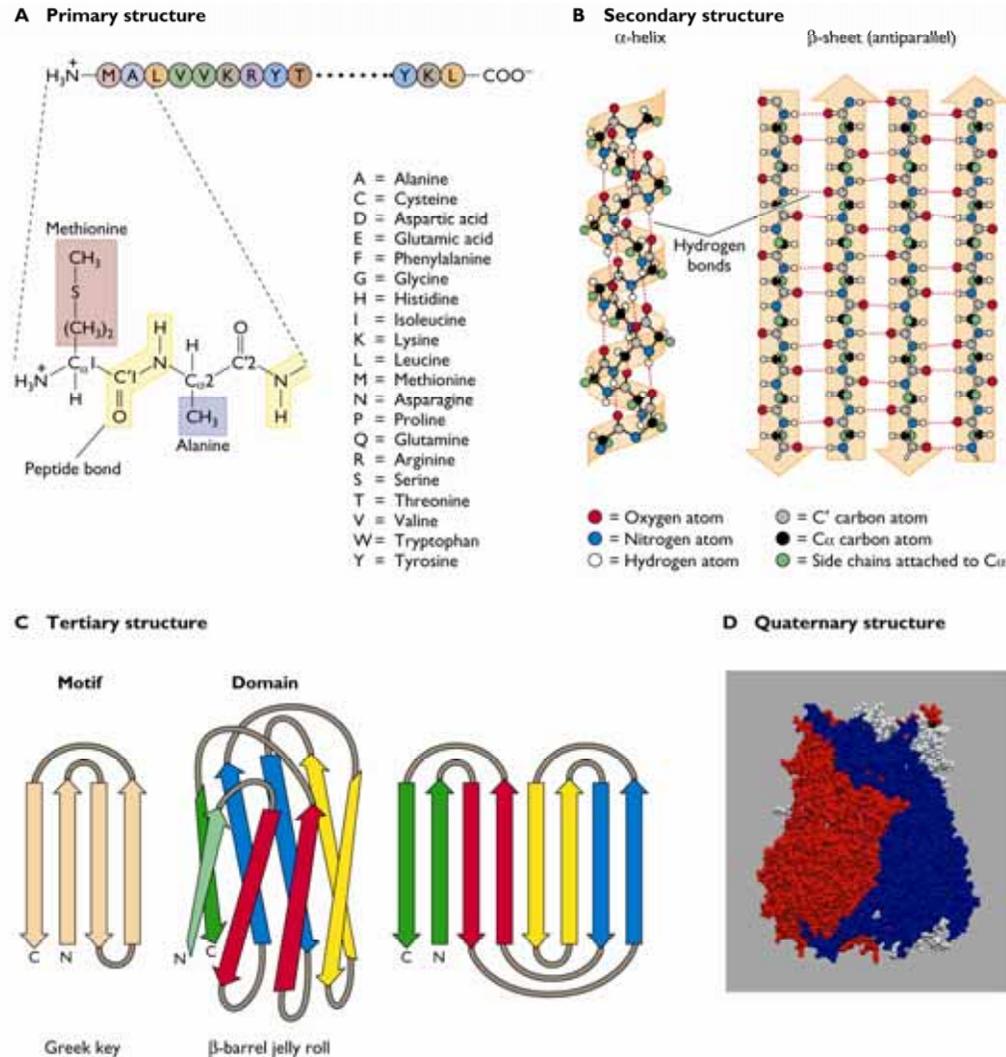
Penetration und „uncoating“ an der Plasmamembran



Mechanismus der retroviralen Fusion mit der Plasmamembran



Primär-, Sekundär-, Tertiär- und Quartärstruktur von Proteinen



Panel C is adapted from C. Branden and J. Tooze, *An Introduction to Protein Structure* (Garland Publishing, Inc., New York, N.Y., 1991), with permission.

Virusstruktur: Definitionen I

- Untereinheit (subunit, protein subunit):

einzelne, kontinuierliche Polypeptidkette (einzelne Bande im denaturierenden SDS-Gel)

- Protomere, strukturelle Untereinheiten:

Bausteine aus einzelnen oder mehreren verschiedenen Untereinheiten, die zusammen größere Assemblies bilden (z.B. VP0, VP1, VP3 Untereinheiten in Poliovirus)

- Capsomer/Morphologische Einheit:

Im EM erkennbare Oberflächenstrukturen, die nicht notwendigerweise strukturelle Untereinheiten darstellen (z.B. „Spikes“ bei Adenoviren, Plateaus bei Picornaviren)

- Assembly-Einheit (assembly unit):

Satz von Untereinheiten oder Protomeren, die als Assembly-Intermediate fungieren (z.B. VPI-Pentamere bei SV40; 14S Pentamere aus VP0, VP1 und VP3 bei Picornaviren)

Virusstruktur: Definitionen II

- Kapsid (capsid, coat):

Proteinhülle, die die genomische Nukleinsäure umgibt.

- Nukleokapsid (core):

Nukleinsäure-Proteinkomplex als distinkte Substruktur innerhalb eines Virions (z.B. Nukleokapsid des Hepatitis B Virus)

- Hülle, Virusmembran (envelope):

Virusumgebende Lipiddoppelschicht inklusive viraler Glykoproteine.

!!! Unterscheide coat und envelope!!!

- Virion:

Komplettes infektiöses Viruspartikel

Virusstruktur: Analysenmethoden, Beispiele

1. *Elektronenmikroskopie (EM)*
2. *Kryoelektronenmikroskopie + rechnergestützte Bildverarbeitung*
3. *Röntgenstrukturanalyse (X-ray analysis)*
4. *Mehrdimensionale Kernresonanzspektroskopie (2D-NMR)*

1. *Elektronenmikroskopie (EM):*

Seit Anfang der 30er Jahre verfügbare Technik.

1939: erste Virusstruktur (Tabak Mosaik Virus, TMV)

Auflösung 50 - 75 Å (ein Atom ca. 2-3Å; α -Helix ca. 10Å) =>

keine Sekundärstruktur-Elemente/Einzelatome sichtbar aber: Architektur der Partikel und Anordnung der Capsomere erkennbar.

Eine Reihe verschiedener elektronenmikroskopischer Techniken und Färbemethoden sind entwickelt worden, z.B.:

Transmissions EM (hohe Auflösung) **Scanning EM (3D-Bilder)**

Klassische EM liefert 2 Arten von Informationen:

- a. Absolute Anzahl von Viruspartikel in einer Präparation
- b. Grundeinsichten in Partikelarchitektur

Durch Kombination mit immunologischen Techniken sind spezifische Aussagen möglich: (Immuno-EM)