

Thema:	Invasionsmechanismen von Humanpapillomviren
Projektleiter:	HD Dr. Martin Sapp und Univ.-Prof. Dr. Rolf E. Streeck, Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene
Fachrichtung:	Virologie und Infektionsbiologie
Arbeitsrichtung:	Molekulare Zellbiologie

Zusammenfassung

Humanpathogene Papillomviren (HPV) verursachen epitheliale Tumore, u.a. Gebärmutterhalskrebs. Das Verständnis der Biologie dieser Viren kann dazu beitragen, die Bekämpfung dieser Tumore zu verbessern. Wir konzentrieren uns in diesem Projekt auf die frühen Schritte der Papillomvirusinfektion. Papillomviren sind hüllenlose DNA-Viren mit einem doppelsträngigen DNA-Genom von ca. 8000 Bp, das in Form von Chromatin vorliegt. Das Kapsid ist aus zwei Proteinen aufgebaut, 360 Kopien des Hauptkapsidproteins L1, das 72 Pentamere(Kapsomere) bildet, sowie wahrscheinlich 12 Kopien des minoren Kapsidproteins L2. Wir haben in den vergangenen Antragsperioden zeigen können, dass (i) Heparansulfat-Proteoglykane (HSPG) als Bindungsrezeptoren für HPV fungieren, dass (ii) die Infektion Sulfatmodifikationen sowohl an der Aminogruppe als auch den 2- und 6-Hydroxylgruppen der Glucosamine und Glucuronsäuren sowie eine Mindestlänge von 10 Zucker-Untereinheiten erfordert (in Zusammenarbeit mit Ulf Lindahl, Stockholm), dass (iii) die Bindung eine Konformationsänderung im Kapsid auslöst, dass (iv) die Aufnahme clathrin-abhängig über rezeptor-vermittelte Endocytose erfolgt und intakte Actinfilamente und Mikrotubuli sowie eine Ansäuerung der Endosomen voraussetzt, dass (v) L2 an den initialen Schritten, wie Bindung an die Zelloberfläche und Internalisierung, nicht beteiligt ist, dass (vi) L2 aber für die Freisetzung der viralen DNA aus Endosomen erforderlich und daher für eine Infektion unerlässlich ist und haben schließlich (vii) die Domäne in L2 kartiert, die für die endosomolytische Aktivität verantwortlich ist. Durch diese Arbeiten wurden erstmals die molekularen Abläufe der Infektion durch Papillomviren in den Grundzügen aufgeklärt.

In der kommenden Antragsperiode sollen diese Erkenntnisse vertieft und erweitert werden. Zur genaueren Charakterisierung der Abläufe an der Zelloberfläche werden wir die viralen Determinanten identifizieren, die für die Bindung an die Sulfatgruppen der HSPG notwendig sind. Dies erfolgt über zielgerichtete Mutagenese von exponierten basischen Aminosäuren. Um diese Aufgabe zu erleichtern, wird in Zusammenarbeit mit Dr. Willi von der Lieth, DKFZ, Heidelberg, die Interaktion von HSPG mit HPV modelliert, womit Voraussagen über Kontaktstellen ermöglicht werden sollten. Wir wollen außerdem die Zusammenarbeit mit Ulf Lindahl fortsetzen, um die genauen Positionen der kritischen Sulfatreste im Heparansulfat zu bestimmen und die von uns beobachteten Unterschiede zwischen DNA-freien virusähnlichen Partikeln und DNA-haltigen Pseudovirionen bei der Interaktion mit HSPG zu definieren. Die Identifikation einer Keratinozyten-Zelllinie, die weder durch BPV1 noch durch HPV16 und HPV33 infizierbar ist, obwohl der Primärrezeptor in ausreichender Konzentration vorhanden ist, sollte mit Hilfe genetischer Komplementation die Identifikation weiterer zellulärer Faktoren ermöglichen, die am Infektionsprozess beteiligt sind. Dies können neben Zelloberflächenproteinen auch Proteine sein, die an der Aufnahme und dem Transport des Virus beteiligt sind.

Wir wollen weiterhin das L2-Peptid charakterisieren, das für die Endosomolyse verantwortlich ist. Hier sollen biochemische Untersuchungen unter Zuhilfenahme künstlicher Membranen in Zusammenarbeit mit den Teilprojekten C1 und C2 den Mechanismus der membran-destabilisierenden Aktivität aufklären helfen (Porenbildung oder Destabilisierung der Membran, Porengröße, pH-Abhängigkeit des Prozesses).

Wir haben außerdem Hinweise darauf, dass L2 direkt mit Komponenten des Mikrotubuli-Netzwerkes interagiert. Wir vermuten, dass diese Aktivität den retrograden Transport des viralen Genoms in Richtung Zellkern ermöglicht. Wir wollen diesen Hinweisen nachgehen und die Bereiche in L2 kartieren, die für diese Interaktion verantwortlich sind. In Zusammenarbeit mit P. Day (NIH, Bethesda, USA) soll nachgewiesen werden, dass diese Aktivität für eine produktive HPV-Infektion unerlässlich ist.

Beantragtes Fördervolumen: 1 x Bat IIa, 2 x Bat IIa/2, € 25.000,- Sachmittel

Hochschuldozent Dr. rer. nat. Martin Josef Sapp

2. 2. 1960 geb. in Eslohe als Sohn von Josef und Wilhelmine Sapp, geb. Schmidt
- 1978 Abschluss des Gymnasiums mit Hochschulreife
- 1978-1979 Ableistung des Wehrdienstes
- 1979-1984 Studium der Biologie an der Universität Konstanz. Schwerpunkte: Molekulare Genetik, Enzymologie, Pflanzenphysiologie, Biologische Chemie
- 1983-1984 Diplomarbeit am Lehrstuhl für Genetik der Universität Konstanz, Thema: Reinigung und biochemische Charakterisierung von zwei neuen ss-DNA-Bindeproteinen aus Kalbsthymus
- 1984-1987 Dissertation am Lehrstuhl für Genetik der Universität Konstanz (R. Knippers): "Reinigung und biochemische Charakterisierung eines 110 kDa nukleolären Proteins aus Kalbsthymus". Promotion "magna cum laude"
- 1987 Wissenschaftlicher Angestellter am Lehrstuhl für Genetik der Universität Konstanz. Forschungsprojekt: Isolierung, Sequenzierung und Expression der cDNA für menschliche DNA-Topoisomerase I
- 1988-1990 Postdoktorand im Labor von A. Worcel in Rochester, New York
- 1990 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Medizinische Mikrobiologie der Universität Mainz
- 1993 Ernennung zum Hochschulassistenten (C1)
- 1999 Abschluss der Habilitation, Venia legendi für Medizinische Mikrobiologie
Ernennung zum Hochschuldozenten auf Zeit (C2)

Projektrelevante Publikationen seit 2001

1. Rommel, O., Dillner, J., Fligge, C., Bergsdorf, C., Selinka, H.-C., and Sapp, M.: Heparan sulfate proteoglycans interact exclusively with conformationally intact HPV L1 assemblies: basis for a virus-like particle ELISA. **J. Med. Virol.:** **in press**.
2. Florin, L., Becker, K.A., Sapp, C., Lambert, C., Sirma, H., Müller, M., Streeck, R.E., and Sapp, M. (2004): Nuclear translocation of papillomavirus minor capsid protein L2 requires Hsc70. **J. Virol.** **78**:5546-5553.
3. Becker, K.A., Sapp, C., Florin, L., Selinka, H.-C., Maul, G.G., and Sapp, M. (2004): Nuclear localization but not PML is required for incorporation of papillomavirus minor capsid protein L2 into virus-like particles. **J. Virol.** **78**:1121-1128.
4. Selinka, H.-C., Giroglou, T., Nowak, T., and Sapp, M. (2003): Further evidence that papillomavirus capsids exist in two distinct conformations. **J. Virol.** **77**:12961-12967.
5. Becker, K.A., Florin, L., Sapp, C., and Sapp, M. (2003): Dissection of human papillomavirus type 33 minor capsid protein L2 domains involved in ND10 homing and reorganization. **Virology** **314**:161-167.
6. Florin, L., Sapp, C., Streeck, R. E., and Sapp, M. (2002): Assembly and translocation of the papillomavirus capsid proteins. **J. Virol.** **76**:10009-10014.
7. Selinka, H.-C., Giroglou, T., Christensen, N. D., and Sapp, M. (2002): Analysis of the infectious entry pathway of human papillomavirus type 33 pseudovirions. **Virology** **299**:279-287.
8. Florin, L., Schäfer, F., Sotlar, K., Streeck, R. E., and Sapp, M. (2002): Reorganization of nuclear domain 10 induced by papillomavirus capsid protein L2. **Virology** **295**:97-107 (includes cover photograph).
9. Fligge, C., Schäfer, F., Selinka, H.-C., Sapp, C., and Sapp, M. (2001): DNA-induced structural changes in the papillomavirus capsid. **J. Virol.** **75**:7727-7731.
10. Giroglou, T., Florin, L., Schäfer, F., Streeck, R.E., and Sapp, M. (2001): Human papillomavirus infection requires cell surface heparan sulfate. **J. Virol.** **75**:1565-1570.

Univ. Prof. Dr. rer. nat. Dr. med. habil. Rolf-Eberhard Streeck

6. 8. 1940 Geboren in Frankfurt am Main als Sohn des Chemikers Dr. Hans Streeck und seiner Ehefrau Theda, geb. Leuß
- 1960-1967 Studium der Chemie, Physik und Philosophie an der Universität München
- 1968 Diplom in Chemie
- 1971 Promotion (Dr. rer. nat.) in Chemie, Nebenfächer Physik und Genetik. Dissertation (H. G. Zachau): "Untersuchungen verschiedener Konformationen von tRNAs mit enzymatischen Methoden"
- 1972-1978 Unabhängige Forschungsarbeiten am Institut für Physiologische Chemie, Physikalische Biochemie und Zellbiologie der Universität München
- 1979 Habilitation (Dr. med. habil.) in Physiologischer Chemie: "Molekulare Analyse der Genomorganisation in Eukaryonten mit Hilfe von Restriktionsnukleasen und In-vitro-Neukombination von DNA". Ernennung zum Privat-Dozenten
- 1980 Verleihung eines Heisenberg-Stipendiums
- 1981 Forschungsaufenthalt am Department of Biochemistry, Stanford University Medical Center, Stanford, USA
- 1981 Berufung auf Lebenszeit an das Institut Pasteur, Paris. Abteilungsleiter (Chef d'Unité) und Direktor des Groupement de Génie Génétique (G3)
- 1987 Berufung an die Universität Mainz als Professor (C3) für Molekulargenetik am Institut für Medizinische Mikrobiologie Mitglied im Sonderforschungsbereich 311 "Immunpathogenese"
- 1992 Gründer und Sprecher des Graduiertenkollegs "Molekulare und zelluläre Mechanismen der Pathogenese"**
Mitglied des Editorial Board des Journal of General Virology
Mitglied des Koordinationsausschusses des Naturwissenschaftlich-Medizinischen Forschungszentrums der Universität Mainz

Ausgewählte Publikationen der letzten fünf Jahre

1. Rommel, O., Dillner, J., Fligge, C., Bergsdorf, C., Selinka, H.-C., and Sapp, M.: Heparan sulfate proteoglycans interact exclusively with conformationally intact HPV L1 assemblies: basis for a virus-like particle ELISA. *J. Med. Virol.*: **in press**.
2. Wang, X., Sapp, M., Christensen, N.D., and Dillner J.: Heparin-based ELISA reduces background reactivity in VLP-based papillomavirus serology. *J. Gen. Virol.*: **in press**.
3. Florin, L., Becker, K.A., Sapp, C., Lambert, C., Sirma, H., Müller, M., Streeck, R.E., and Sapp, M. (2004): Nuclear translocation of papillomavirus minor capsid protein L2 requires Hsc70. *J. Virol.* **78**:5546-5553.
4. Becker, K.A., Sapp, C., Florin, L., Selinka, H.-C., Maul, G.G., and Sapp, M. (2004): Nuclear localization but not PML is required for incorporation of papillomavirus minor capsid protein L2 into virus-like particles. *J. Virol.* **78**:1121-1128.
5. Selinka, H.-C., Giroglou, T., Nowak, T., and Sapp, M. (2003): Further evidence that papillomavirus capsids exist in two distinct conformations. *J. Virol.* **77**:12961-12967.

6. Becker, K.A., Florin, L., Sapp, C., and Sapp, M. (2003): Dissection of human papillomavirus type 33 minor capsid protein L2 domains involved in ND10 homing and reorganization. *Virology* **314**:161-167.
7. Florin, L., Sapp, C., Streeck, R. E., and Sapp, M. (2002): Assembly and translocation of the papillomavirus capsid proteins. *J. Virol.* **76**:10009-10014.
8. Selinka, H.-C., Giroglou, T., Christensen, N. D., and Sapp, M. (2002): Analysis of the infectious entry pathway of human papillomavirus type 33 pseudovirions. *Virology* **299**:279-287.
9. Fligge, C., Schäfer, F., Selinka, H.-C., Sapp, C., and Sapp, M. (2001): DNA-induced structural changes in the papillomavirus capsid. *J. Virol.* **75**:7727-7731.
10. Giroglou, T., Florin, L., Schäfer, F., Streeck, R.E., and Sapp, M. (2001): Human papillomavirus infection requires cell surface heparan sulfate. *J. Virol.* **75**:1565-1570.

