

*Viren treten in einer sehr großen Vielzahl von Formen und Größen auf. Bei aller Verschiedenheit ihrer Erscheinungsformen besitzen sie jedoch bestimmte Gemeinsamkeiten: Alle Viren enthalten ein einziges Nucleinsäuremolekül – Desoxyribonucleinsäure (DNA) oder Ribonucleinsäure (RNA) – welches von einer schützenden Proteinhülle umgeben ist. Die Proteinhülle sorgt unter anderem dafür, daß die genetische Information, die in der Nucleinsäure gespeichert ist, in funktionsfähigem Zustand in eine Wirtszelle gelangen kann. Dort leitet sie die Reproduktion identischer Viruspartikeln ein. Das in die Zelle eingedrungene fremde genetische Material des Virusteilchens bewirkt zunächst die Synthese von Makromolekülen, die normalerweise nicht in der Zelle vorkommen: Die Virusnucleinsäure repliziert sich, es werden sehr viele Kopien hergestellt, Virushüllprotein wird synthetisiert, und diese Komponenten werden nun zu einer neuen Generation infektiöser Virusteilchen zusammengesetzt. Die meisten Viren lassen in ihrem Aufbau Gemeinsamkeiten erkennen: Ihre Proteinhülle ist aus Untereinheiten aufgebaut, welche die genetische Information helical oder ikosaedrisch umschließen.*

## 1. Die Überführung des Virusgenoms in einen funktionellen Zustand

Da die meisten Viren aus nichts anderem als Nucleinsäure und Hüllprotein bestehen, fehlen ihnen die Voraussetzungen zur Durchführung elementarer Lebensprozesse, d.h. zur ständigen Realisierung von genetischer Information. Solange sich ein Virusteilchen außerhalb einer Zelle befindet, ist es nichts weiter als eine freilich kompliziert zusammengesetzte, aber biologisch inerte Struktur. Zu ihrer Vermehrung bedürfen die Viren der Hilfsmittel, welche nur in lebenden Zellen zur Verfügung stehen. Es sind dies die verschiedensten Enzyme, Ribosomen und Transfer-RNA-Moleküle. Erst wenn die Virusnucleinsäure in die Zelle eingedrungen und von ihrer Proteinhülle befreit ist, kann sie in Funktion treten.

Der Infektionszyklus, die Zeitspanne zwischen dem Zusammentreffen des Virusteilchens mit einer Zelle und der Fertigstellung neuer infektiöser Virusnachkommenschaft, läßt sich in mehrere Phasen aufgliedern: Der Adsorption der Virusteilchen an die Zelle folgen die Penetration durch die Zellmembran und die Freisetzung der genetischen Information. Wenn die schützende Proteinhülle von der Virusnucleinsäure abgestreift ist, gibt das Virusteilchen innerhalb der Zelle seine morphologische Identität auf. Es befindet sich „in der Eklipse“. Während dieser Phase laufen die Transkriptions- und Translationsschritte ab, die zur Anhäufung von Virusbausteinen in der Zelle führen. Daraufhin folgen die Virusreifung und die Ausschleusung einer neuen Generation infektiöser Virusteilchen.

Wenn man Zellen mit einer bestimmten Virusmenge infiziert und den Verbleib der Infektiosität im Nähr-

medium, welches die Zellen bedeckt, verfolgt, so ergibt sich die in Abbildung 1 wiedergegebene charakteristische Virusvermehrungskurve. Kurz nach der Zugabe der Virussuspension zu den Zellen nimmt die Infektiosität im Medium mehr und mehr bis auf einen geringen Schwellenwert ab, steigt dann wieder an und

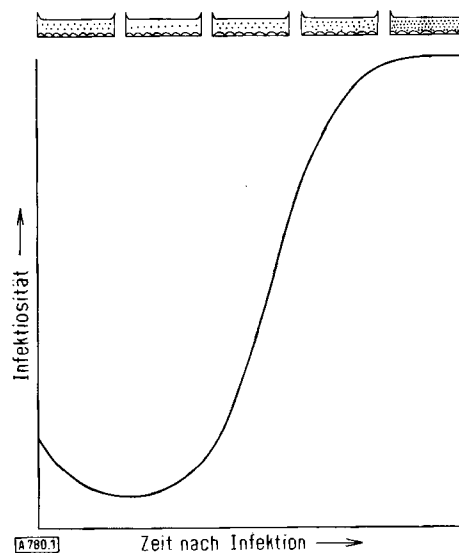


Abb. 1. Virusvermehrungskurve. Der obere schematisierte Teil der Abbildung zeigt die Querschnitte von Schalen mit Gewebekulturzellen, die mit virushaltigem Nährmedium überschiedet sind. Die Menge an infektiösem Virus ist durch Punkte symbolisiert. Die Kurve gibt die Menge von infektiösem Virus im Verlauf eines Virusvermehrungszyklus im Medium an.

erreicht schließlich ein Plateau, wenn die Syntheseleistung der Zellen erschöpft ist. Häufig ist dies mit dem Absterben der Wirtszellen verbunden. Die ursprüngliche Abnahme der Infektiosität im Überstand ist durch die Adsorption der Viren an die Zellen bedingt, während die anschließende Zunahme auf neu synthetisierte und freigesetzte Virusnachkommenschaft zurückzuführen ist. Betrachten wir zunächst den Anfangsteil der Kurve, nämlich die Phase der Adsorption

[\*] Priv.-Doz. Dr. G. Sauer  
Institut für Virusforschung,  
Deutsches Krebsforschungszentrum  
69 Heidelberg, Thibautstraße 3

der Viruspartikeln an die Zelle und ihrer Penetration in das Zellinnere.

Der erste Kontakt zwischen Virus und Zelle geschieht aufgrund der Brownschen Molekularbewegung. Die Zahl der irreversibel absorbierten Viruspartikeln pro Zelle ist erheblich geringer als man nach theoretischen Schätzungen erwarten sollte, denn nicht jeder Zusammenstoß zwischen Virus und Zelle führt zu einem stabilen Kontakt. Die Kräfte, welche die Virusteilchen an die Zellmembran binden, sind wahrscheinlich elektrostatischer Natur. Man fragt sich natürlich, ob es nicht spezifische Rezeptoren in der Zellmembran gibt, die für die Bindung der Viruspartikeln verantwortlich sind. Diese Vermutung liegt nahe, wenn man bedenkt, wie anspruchsvoll viele Virusarten bei der Wahl ihres Wirtsorganismus, ja sogar bei der Wahl der Gewebe sind, in denen sie sich vermehren.

Man könnte annehmen, daß diese Selektivität auf besonderen Vorgängen bei der Kontaktherstellung beruht. Hier ergeben sich freilich bereits die ersten Komplikationen: Die Angehörigen der großen Gruppe der Pockenviren absorbieren mit der gleichen Geschwindigkeit an die verschiedensten Zellen, auch an solche, in denen sie sich nicht vermehren können<sup>[1]</sup>. Hier liegt offenbar der Adsorption keinerlei Spezifität zu Grunde. Ganz anders verhalten sich zum Beispiel die Myxoviren, zu denen das Influenzavirus, der Grippeerreger, gehört. Am klassischen Beispiel der Myxoviren lassen sich spezifische Vorgänge bei der Adsorption beobachten. Nach Zugabe von Influenzavirus zu einer Suspension von roten Blutkörperchen, von Erythrocyten, adsorbiert das Virus an die Erythrocytenoberfläche. Die an die Peripherie der Erythrocyten gebundenen Myxoviren führen zu einer Brückenbildung zwischen den roten Blutkörperchen. Dadurch ballen sich die Erythrocyten zusammen, ein Vorgang, der makroskopisch sichtbar ist und den man als Hämagglutination bezeichnet. Durch Temperaturerhöhung kann das Virus wieder von den Erythrocyten eluiert werden. Solche einmal agglutinierten Erythrocyten lassen sich nicht wieder durch Zugabe von neuem Virus agglutinieren, das heißt, ihre Oberfläche ist offensichtlich durch den Kontakt mit dem Virus verändert worden. Aus der Virusoberfläche lassen sich Fragmente isolieren, welche die hämagglutinierende Aktivität besitzen<sup>[2]</sup>. Sie sind als Hämagglutinin bezeichnet worden. Außerdem enthalten die Myxoviren in ihrer Hülle ein Enzym, die Neuraminidase<sup>[3,4]</sup>. Das Substrat für dieses Enzym findet sich in der Oberfläche von Erythrocyten sowie in vielen biologischen Flüssigkeiten und auch an der Oberfläche der natürlichen Wirtszellen für Influenzaviren. Alle diese Beobachtungen weisen darauf hin, daß der Kontakt zwischen Myxoviren und Wirtszellen aufgrund einer besonderen Enzym-Substrat-Beziehung vorgenommen wird. Diese Betrachtungen zeigen, daß die Vorgänge, welche der Adsorption der Viren an die

Zelle zugrunde liegen, von Virusart zu Virusart variieren können<sup>[4]</sup>.

Der nächste Schritt in der Auseinandersetzung zwischen Virus und Zelle ist die Penetration. Gewisse Bakteriophagen – also Bakterienviren – infizieren ihre Wirtszellen, indem sie ihre Nucleinsäure mit einem „Injektionsapparat“ in das Bakterium überführen. Die Proteinhülle des Bakteriophagen dringt dabei nicht in das Bakterium ein, sondern sie wird außen an der Membran zurückgelassen<sup>[5]</sup>. Solche Bakteriophagen sind sehr genau studiert worden, und sie wurden zum klassischen Beispiel dafür, wie eine fremde Nucleinsäure in eine Zelle übertragen werden kann.

Elektronenmikroskopische Untersuchungen haben jedoch gezeigt, daß dieser Vorgang bei tierischen Viren anders verläuft. Ihnen fehlt ein solcher Injektionsapparat, und außerdem hat man niemals an der Zelloberfläche zurückgelassene leere Virushüllen beobachtet. Es spricht alles dafür, daß tierische Viren in morphologisch intaktem Zustand in die Zelle aufgenommen werden. Die Zellmembran umschließt das außen adsorbierte Virusteilchen, eine Vakuole bildet sich, die sich zum Zellinneren hin ablöst, während sich die äußere Membran der Zelle wieder schließt. Dieser Vorgang wird in der Biologie als Phagocytose bezeichnet. Ihm liegt keinerlei Spezifität zu Grunde, denn die Zellen nehmen in der gleichen Weise die verschiedensten partikulären Substanzen, beispielsweise Metallsalze oder Latexkugeln, auf. Wenn sich die Wände der Vakuole, in welche die Virusteilchen aufgenommen worden sind, auflösen, beginnt auch die Desintegration der eingeschlossenen Viruspartikeln.

Die morphologischen Veränderungen, denen ein Herpesvirusteilchen nach dem Eindringen in eine Zelle unterworfen ist, zeigt Abbildung 2. Die elektronenmikroskopische Aufnahme zeigt eine Herpesviruspartikel außerhalb und innerhalb einer Zelle. Das intakte Herpesvirusteilchen, welches an der Zelloberfläche adsorbiert ist, besteht aus einer äußeren membranartigen Hülle, die in der Aufnahme im Querschnitt gezeigt ist und die teilweise zellulären Ursprungs sein kann. Im Inneren befindet sich die eigentliche Virus-

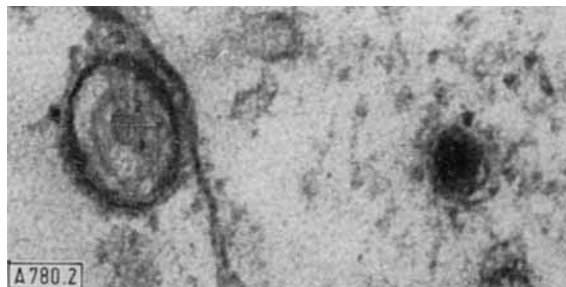


Abb. 2. Das Eindringen von Viren in die Zelle. Diese elektronenmikroskopische Aufnahme zeigt den Querschnitt durch eine Zelle, die mit Herpesviren infiziert ist. Außerhalb der Zellmembran befindet sich (links) eine infektiöse Herpesviruspartikel, gekennzeichnet durch äußere Membran, Virushülle und Core. Das in die Zelle eingedrungene Virusteilchen (rechts) verrät seine Identität nur noch durch die Anwesenheit des Cores. (Diese Aufnahme wurde freundlicherweise von Prof. K. Munk und Frau C. Waldeck zur Verfügung gestellt; Vergrößerung 200 000-fach.)

[1] A. C. Allison u. R. C. Valentine, *Biochim. biophysica Acta* 40, 393 (1960).

[2] W. Schäfer, *Bacteriol. Rev.* 27, 1 (1963).

[3] G. K. Hirst, *J. exp. Medicine* 76, 195 (1942).

[4] C. Scholtissek, R. Drzeniek u. R. Rott in H. B. Levy: *The Biochemistry of Virus*. M. Dekker, New York 1969.

[5] A. D. Hershey u. M. Chase, *J. gen. Physiol.* 36, 39 (1952).

hülle, welche die zentrale Struktur der Viruspartikel umschließt. Letztere besteht aus einem besonderen Protein und der eng damit verbundenen Virusnucleinsäure; bei den Herpesviren handelt es sich um DNA. Dieser innere Komplex wird als Core bezeichnet. Im Inneren der Zelle befindet sich ein solcher Core, der seine äußere Membran und seine Hülle bereits eingebüßt hat. Wir haben es hier mit dem ersten Schritt der Desintegration der Viruspartikel zu tun, der zur Freisetzung der Virusnucleinsäure führt. Dieser Vorgang wird in der Virusforschung als Uncoating bezeichnet. Es umfaßt zwei Phasen, die in ihren Einzelheiten mit Hilfe der DNA-haltigen Poxviren besonders sorgfältig untersucht worden sind [6].

Die Poxviren bestehen aus einer doppelsträngigen DNA, aus Virushüllprotein und aus Phospholipiden. Das Schicksal dieser drei Komponenten beim Uncoating läßt sich an radioaktiv markierten Viruspräparationen genau verfolgen. Der erste Teil des Uncoating-Vorgangs verläuft sehr rasch und ohne Verzug nach der Adsorption des Virus an die Zelle. Das Phospholipid der äußeren Virushüllen wird zu säurelöslichen Spaltprodukten abgebaut. Es entstehen Teilchen, die nur etwa halb so groß sind wie die eigentlichen Viruspartikeln, und die nur noch aus DNA und Protein bestehen. Es sind dies die Cores des Virusteilchens.

Der erste Schritt des Uncoating-Vorgangs wird von den Zellen durchgeführt. Wie sich durch Verwendung von Inhibitoren (Hemmsubstanzen der Proteinsynthese oder der RNA-Synthese) ergab, bedarf es dazu nicht der Neusynthese von besonderen Proteinen und auch nicht der Neusynthese von RNA. Offensichtlich sind die Zellen mit Enzymen ausgestattet, die in der Lage sind, die Virusteilchen bis zu dieser Phase des Core-Stadiums zu desintegrieren, das heißt, die äußere Virushülle zu entfernen. Erst im zweiten Schritt wird die Virus-DNA aus den Cores freigesetzt und kann nunmehr von Desoxyribonuclease (DNase) zu säurelöslichen Bruchstücken degradiert werden.

Diese Sensibilisierung der Virus-DNA gegenüber der DNase-Einwirkung läßt sich experimentell dazu verwenden, das Ausmaß und die Geschwindigkeit des Uncoating zu bestimmen [6]. Das Prinzip solcher Experimente ist relativ einfach. Man bedient sich dazu gereinigter Viruspräparationen, deren DNA radioaktiv markiert wird. Um Schnelligkeit und Umfang des Uncoating-Vorgangs zu analysieren, werden zu verschiedenen Zeiten nach der Infektion die Zellen durch Ultraschall aufgeschlossen; danach wird das Zell-Lysat mit DNase behandelt. Solange sich die Virus-Nucleinsäure innerhalb des Cores befindet, ist sie nicht durch Desoxyribonuclease angreifbar, denn noch immer ist sie durch eine Proteinhülle geschützt. Deshalb muß die radioaktive Komponente, welche durch DNase degradiert und zu säurelöslichen Bruchstücken abgebaut wird, aus freigesetzter, von ihrer inneren Proteinhülle befreiter Virus-DNA bestehen (Abb. 3). Studiert man den Verlauf des Uncoating mit radioaktiv markiertem Simian-Virus (SV40) [7], so stellt man

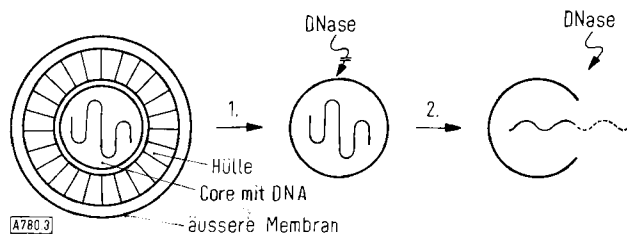


Abb. 3. Die intrazelluläre Freisetzung der Virus-DNA vom umgebenden Protein der Virushülle (Uncoating). Die Abbildung schematisiert diesen Vorgang. Zuerst wird die äußere Membran, die bei vielen Virusarten auch fehlen kann, sowie die eigentliche Virushülle abgestreift. Es resultieren aus diesem Schritt die Cores; die Anordnung der Virus-DNA im Core ist hier stark schematisiert. In diesem Stadium ist die Virus-DNA noch gegen die DNase geschützt. Erst im zweiten Schritt, dem eigentlichen Uncoating, wird die DNA aus den Cores befreit und gegenüber der Einwirkung von DNase sensibilisiert.

fest, daß im Verlauf eines Tages (der Virusvermehrungszyklus dauert nicht länger als zwei Tage), nur bei 20% der in die Zellen eingedrungenen Viren die Virus-DNA freigesetzt wird. Diese Beobachtung zeigt die Ineffizienz der Virusinfektion. Es ist durchaus nicht so, daß jedes Virusteilchen, welches in eine Zelle eindringt, einen infektiösen Zyklus einleiten kann. Nur ein Teil dieser Viren hat die Chance, infektiöse Virusnachkommenschaft zu bilden.

## 2. Die Phase der Informationsübertragung

Wann beginnt das Virusgenom zu funktionieren, und wie läßt sich dies feststellen? Wir müssen bei der Erörterung dieser Frage zwischen DNA- und RNA-Viren unterscheiden. Bei DNA-Viren ist der Funktionsbeginn gleichbedeutend mit der Synthese von Messenger-RNA am DNA-Molekül. In der Messenger-RNA wird die auf der DNA enthaltene genetische Information transkribiert. Erst danach können an den Ribosomen der Zelle die Virusgenprodukte, also die virus-spezifischen Proteine, nach Maßgabe der auf der Messenger-RNA enthaltenen Information synthetisiert werden. Der Informationsfluß findet also bei den DNA-Viren zunächst auf der Transkriptionsebene (Synthese von Messenger-RNA an der Virus-DNA) und dann auf der Translationsebene (Produktion virusspezifischer Proteine am Messenger-RNA-Ribosomenkomplex) statt. Ganz anders verhalten sich die RNA-haltigen Viren: Bei ihnen entfällt die Transkriptionsebene, denn ihre RNA dient bereits als Messenger-RNA. Bei den RNA-Viren ist der Funktionsbeginn des Virusgenoms mit der Produktion virusspezifischer Proteine gleichzusetzen.

Die Frage nach dem Funktionsbeginn der Virusgenome läßt sich experimentell am leichtesten an DNA-Viren beantworten, denn man braucht in diesem Falle lediglich das Neuauftreten virusspezifischer Messenger-RNA in der Zelle nachzuweisen. Bei RNA-Viren hingegen ist dieser Nachweis nur anhand neuauftretender virusspezifischer Proteine in der Zelle zu erbringen, was mit Schwierigkeiten verbunden ist. Mit der DNA-RNA-Hybridisierungstechnik kann die Anwesenheit

[6] W. K. Joklik, J. molecular Biol. 8, 263 (1964).

[7] G. Sauer u. E. C. Hahn, Z. Krebsforsch. 74, 40 (1970).

selbst kleinster Mengen virusspezifischer Messenger-RNA in einer infizierten Zelle festgestellt werden. Da die Basensequenz der Virus-Messenger-RNA genau spiegelbildlich (komplementär) zu der der Virus-DNA ist, läßt sie sich unter geeigneten Bedingungen selektiv aus der Fülle der anderen in der Zelle vorkommenden RNA-Arten an die Virus-DNA binden.

Die Synthese virusspezifischer Messenger-RNA bedarf der Gegenwart eines Enzyms, der DNA-abhängigen RNA-Polymerase. Dieses Enzym katalysiert die Synthese des Messenger-RNA-Moleküls. Man hat unlängst gefunden, daß manche DNA-Poxviren dieses Enzym mit sich führen<sup>[8]</sup>. Dadurch sind sie in der Lage, ihre eigene Transkription in Gang zu setzen. Ob jedoch dieses Enzym in anderen DNA-Virusarten vorkommt, ist noch nicht bekannt.

Wann beginnt nun die Transkription der Virus-DNA? Lange Zeit glaubte man, dies sei dann der Fall, wenn die Virus-DNA durch Uncoating gänzlich von ihrer Proteinhülle befreit ist. Aber auch hier hat man wiederum an der Gruppe der Poxviren einige überraschende Erkenntnisse gewonnen. Es stellte sich nämlich heraus, daß bereits im Core-Stadium, wenn lediglich die äußere Virushülle, jedoch nicht das innere Hüllprotein um die Virus-DNA entfernt worden ist, Virus-Messenger-RNA synthetisiert wird<sup>[9]</sup>.

Wird die auf der Virus-DNA enthaltene Information überall zugleich abgelesen, oder geschieht dies nach und nach in einer bestimmten Reihenfolge? Bei den daraufhin geprüften Viren traf die zuletzt genannte Alternative zu. So wird z. B. beim Simian-Virus 40 während der frühen Phase des Infektionszyklus nur ein Viertel des Virusgenoms in Form von Messenger-RNA kopiert. Diese Transkription der „frühen“ Messenger-RNA geschieht von der in die Zelle eingedrungenen Virus-DNA, noch bevor sich die DNA repliziert hat<sup>[10]</sup>. Erst nach dem Einsetzen der Virus-DNA-Vermehrung wird außer der frühen Messenger-RNA auch „späte“ Messenger-RNA transkribiert (Abb. 4).

Offensichtlich ist die Replikation der Virus-DNA Voraussetzung dafür, daß das gesamte Virusgenom und

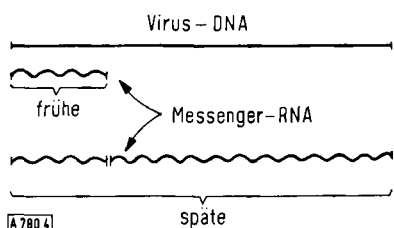


Abb. 4. Die Synthese virusspezifischer Messenger-RNA an der Virus-DNA. Die auf dem Virusgenom gespeicherte Information wird schrittweise abgelesen. Zunächst wird nur ein Teil der DNA in „frühe“ Messenger-RNA übersetzt. Erst wenn sich im fortgeschrittenen Stadium des Virusinfektionszyklus die Virus-DNA repliziert, können die restlichen Sequenzen der DNA abgelesen werden. Solche „späte“ Messenger-RNA umfaßt außer neuen Basensequenzen auch „frühe“ Messenger-RNA.

[8] J. R. Kates u. B. R. McAuslan, Proc. nat. Acad. Sci. USA 58, 134 (1967).

[9] J. R. Kates u. B. R. McAuslan, Proc. nat. Acad. Sci. USA 57, 314 (1966).

[10] G. Sauer u. J. R. Kidwai, Proc. nat. Acad. Sci. USA 61, 1256 (1968).

nicht nur seine frühen Sequenzen abgelesen werden können. Verhindert man nämlich durch Zugabe von Inhibitoren der DNA-Replikation die Vermehrung der Virus-DNA in der infizierten Zelle, so findet sich auch nur frühe Messenger-RNA. Späte Virus-Messenger-RNA-Sequenzen fehlen in diesem Falle vollständig. Zugleich kann man in solchen künstlich inhibierten Zellen auch nur die Gegenwart „früher“ Genfunktionen des Virus feststellen. Bei den meisten DNA-Viren drücken sich diese frühen Genfunktionen in der Stimulierung einer Reihe von Enzymen aus, die mit dem DNA-Metabolismus in Beziehung stehen. So wird die Aktivität des Enzyms Thymidin-Kinase nach der Infektion mit den meisten DNA-Viren in den betroffenen Zellen um ein Vielfaches gesteigert<sup>[11]</sup>. „Späte“ Virusfunktionen bedürfen der Anwesenheit von „später“ virusspezifischer Messenger-RNA in den Zellen, die, wie bereits erwähnt, von der Replikation der Virus-DNA abhängig ist. Späte Virusfunktionen sind die Synthese von Virushüllprotein und schließlich als letzter entscheidender Schritt im Virusinfektionszyklus die Zusammensetzung der Viruspartikeln aus ihren in der Zelle vorhandenen Bausteinen, die Virusreifung.

Aus diesen Bemerkungen ergibt sich, daß die im Virusgenom gespeicherte genetische Information sequentiell abgelesen wird, und daß diese Ablesung einer besonderen Steuerung unterworfen ist. Welche Faktoren die schrittweise Abrufung der genetischen Information kontrollieren und warum sich die Virus-DNA zunächst einmal vermehren muß, um die Ablesung später virusspezifischer Messenger-RNA zu gewährleisten, ist gegenwärtig nicht bekannt.

Wie verhält es sich nun mit der Abrufung der genetischen Information von RNA-Viren? Diese Frage ist experimentell etwas schwieriger zu entscheiden als bei DNA-Viren. Bei den daraufhin untersuchten Enteroviren scheinen andere Gesetzmäßigkeiten zu bestehen. In diesem Falle wird die Virus-RNA, welche hier als Messenger-RNA dient, nicht schrittweise, sondern zugleich in ihrer Gesamtheit in ein einziges sehr großes Protein übersetzt. Dieses Protein wird dann anschließend erst in mehrere kleine Proteine zerlegt, die verschiedene Funktionen haben<sup>[12,13]</sup>. Ob dies Prinzip freilich für alle RNA-Viren gilt, bedarf noch des Beweises.

Die Anhäufung von Virusgenprodukten in der infizierten Zelle ist eine Funktion der in der infizierten Zelle zur Verfügung stehenden Virusgenome, unabhängig davon, ob es sich nun um DNA- oder um RNA-Moleküle handelt. Erst nach dem Einsetzen der Virus-DNA- oder RNA-Replikation steigt die Menge der Virusgenprodukte sprunghaft an, wie sich aus Abbildung 5 ergibt. Wie bereits erwähnt, ändert sich damit nicht nur die Quantität, sondern auch die Qualität der in der Zelle zur Verfügung stehenden virusspezifischen Proteine. In den infizierten Zellen wird eine Vielzahl

[11] S. Kit u. D. R. Dubbs: Monographs in Virology. S. Karger, Basel 1969, Bd. 2.

[12] D. F. Summers u. J. V. Maizel, Proc. nat. Acad. Sci. USA 59, 966 (1968).

[13] E. D. Kiehn u. J. J. Holland, J. Virology 5, 358 (1970).

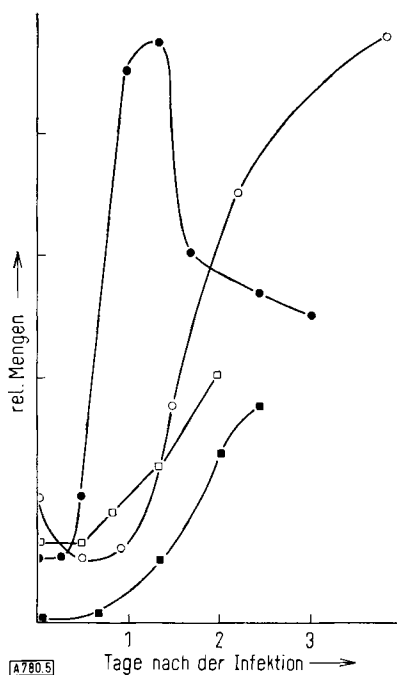


Abb. 5. Die Synthese viruspezifischer Produkte im Verlauf eines Virusvermehrungszyklus am Beispiel von Simian-Virus 40. Der Vermehrungszyklus beträgt in Kulturen von Affenierenzellen etwas weniger als zwei Tage. Er läßt sich durch das Einsetzen der Virus-DNA-Replikation in zwei Phasen aufgliedern. In der frühen Phase der Infektion, noch bevor die Replikation der Virus-DNA (□) begonnen hat, findet sich eine Aktivitätssteigerung des Enzyms Thymidin-Kinase (●). Die Aktivität dieses Enzyms unterliegt einer Regulation, wie sich aus dem Abfall der Kurve gegen Ende des Infektionszyklus ergibt. In der Spätphase der Infektion, mit dem Beginn der Virus-DNA-Synthese (○), steigt die Menge viruspezifischer Messenger-RNA (■) in der Zelle sprunghaft an. Wenige Stunden später bilden sich reife Viruspartikeln (○) [13a].

von Kopien der Virusnucleinsäure herstellt, und es wird eine große Menge struktureller Proteine der Virushülle synthetisiert. Dies sind die Vorläufer, die Bausteine der neu heranreifenden Generation von Viruspartikeln. Ihre Zusammensetzung zu infektiösen Virusteilchen bildet den Abschluß des Virusvermehrungszyklus.

### 3. Die Architektur der Viren

Gibt es allgemeine Ordnungsprinzipien, welche dem Bau und der Struktur der Viruspartikeln zugrunde liegen? Die Möglichkeiten der Gestaltbildung werden bei den meisten Virusarten dadurch limitiert, daß ihnen dafür nur in begrenztem Umfang genetische Information zur Verfügung steht. Die Viren müssen sich deshalb mit einem recht einfachen Bau begnügen, denn eine komplizierte morphologische Struktur würde vieler verschiedenartiger Strukturproteine bedürfen. Dazu reicht allerdings die geringe genetische Information, welche die Viren mit sich führen, nicht aus.

Wie eng umgrenzt die Möglichkeiten der Gestaltbildung für ein Virusteilchen sind, läßt sich durch eine Überlegung verdeutlichen, die Crick und Watson bereits vor mehr als zehn Jahren anläßlich eines Symposiums über den Bau der Viren anstellten [14]. Sie nahmen an, daß die Nucleinsäure eines kleinen Virusteilchens ein

Molekulargewicht von etwa 2 Millionen hat, was durchaus den Realitäten entspricht. Eine solche Nucleinsäure setzt sich aus etwa 6000 Nucleotiden zusammen. Da jeweils drei Nucleotide eine Aminosäure determinieren, können insgesamt nicht mehr als 2000 Aminosäuren gebildet und zu einem Protein verknüpft werden. Ein solches Protein ist aber viel zu klein, um als Hülle die Nucleinsäure des Virusteilchens zu umgeben. Wie sich berechnen ließ, muß ein Protein, um diese Aufgabe erfüllen zu können, mindestens 15-mal größer sein. Außerdem würde in diesem Falle die gesamte genetische Information der Viruspartikel nur für die Bildung von Hüllprotein verbraucht werden. Wir wissen jedoch, daß die Virusnucleinsäure noch andere Aufgaben zu erfüllen hat.

Crick und Watson schlossen deshalb, daß die Hülle eines Virusteilchens sicher nicht aus einem einzigen, großen Proteinmolekül bestehen kann. Sie muß vielmehr aus vielen identischen, aber kleinen Proteinmolekülen zusammengesetzt sein, denn für die Codierung kleiner Proteinmoleküle bedarf es auch nur eines kleinen Abschnittes der Nucleinsäure. Nur so wird die begrenzte genetische Information ökonomisch genutzt. Aus den gleichen Gründen folgerten Crick und Watson bereits zu jener Zeit, daß es unwahrscheinlich sei, daß zwar viele kleine, aber verschiedenartige Proteinmoleküle am Aufbau der Virushülle teilnehmen würden. Dadurch würden sich nämlich wieder dieselben Schwierigkeiten ergeben. Jede Proteinspezies würde nun wiederum einen eigenen Abschnitt der Nucleinsäure zu ihrer Spezifizierung beanspruchen. Diese Möglichkeiten sind in Abbildung 6 schematisch zusammengefaßt.

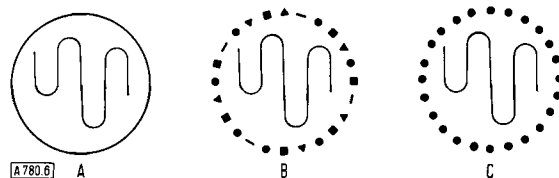


Abb. 6. Möglichkeiten der Zusammensetzung einer Virushülle. Das Schema zeigt, wie man sich die Umhüllung der Virusnucleinsäure, hier durch die Wellenlinie dargestellt, mit Proteinmolekülen vorstellen könnte. Der Fall A, ein einziges großes Proteinmolekül, das die Nucleinsäure umgibt, kommt nicht vor. Bei kleinen Viren ist am häufigsten Fall C realisiert. Hier umhüllen viele kleine identische Proteinmoleküle die Nucleinsäure. Nur bei größeren Viren, deren Nucleinsäure einen höheren Informationsgehalt trägt, wird die Hülle aus mehreren Proteinspezies aufgebaut (Fall B).

Nach unserem heutigen Wissen erwiesen sich die Überlegungen von Crick und Watson als durchaus richtig. Sie bedürfen jedoch einer gewissen Modifizierung. Es ist klar, daß die Komplexität einer Virushüllstruktur in direktem Zusammenhang mit dem in der Nucleinsäure vorhandenen Informationsgehalt steht. So gibt es kleine Viren, beispielsweise den F2-Phagen, dessen RNA nur ein Molekulargewicht von  $1 \times 10^6$  hat. Dieser Phage kann für nicht mehr als drei Proteine codieren, von denen eines das Hüllprotein des Virusteilchens ist [15]. Im Gegensatz dazu ist das Pockenvirus

[13a] Abbildung zum Teil nach S. Kit in J. S. Colter u. W. Paranchych: The Molecular Biology of Viruses. Academic Press, New York 1967.

[14] F. H. C. Crick u. J. D. Watson in G. E. W. Wolstenholme u. E. C. P. Millar: Ciba Foundation Symposium on the Nature of Viruses. Churchill, London 1957.

beispielsweise wesentlich komplizierter gebaut. Seine DNA hat ein Molekulargewicht von  $1.5 \times 10^7$ , und so ist es nicht erstaunlich, daß die Pockenviren recht komplizierte Gebilde sind, deren Untereinheiten nicht nur aus einer, sondern aus mehreren Proteinspezies aufgebaut sind [16].

Diese vom Virusgenom codierten Proteine schließen sich nicht einfach zu einer membranartigen Hülle zusammen, sondern sie bilden kleine Aggregate, sozusagen Bausteine der Virushülle. Diese Bausteine oder Untereinheiten der Hülle lassen sich im Elektronenmikroskop nach Anfärbung als kleine Zylinder oder Röhren mit fünfeckigem oder sechseckigem Querschnitt abbilden. Man bezeichnet sie als Kapsomere [17]. Ihre Gesamtheit bildet das Kapsid, welches als schützende Hülle die Nucleinsäurekomponente umgibt. Die Virushülle besteht also aus einer Vielzahl radial angeordneter Kapsomeren oder röhrenartiger Gebilde. Gelegentlich findet man auch Virusarten, welche darüber hinaus, wie bereits im vorigen Kapitel beschrieben, von einer membranartigen Struktur umgeben sind. Die Gesamtheit dieser morphologischen Strukturen bildet das reife, infektiöse Virusteilchen.

Es erhebt sich nun die Frage nach der Konfiguration, in welcher die morphologischen Untereinheiten, also die Kapsomeren, angeordnet sind, und wir können weiterhin fragen, ob es besondere Grundformen der Partikelsymmetrie gibt, welche von den verschiedensten Virusarten befolgt werden. Es hat sich durch röntgenkristallographische und elektronenmikroskopische Untersuchungen gezeigt, daß die meisten Virusarten in der Tat nach zwei Organisationsformen gebaut sind. Sie bilden helicale Röhren oder Stäbchen oder aber sphärische Kapseln mit kubischer Symmetrie (Abb. 7).

Betrachten wir einmal zunächst die zahlenmäßig kleinere Gruppe der stäbchenförmigen oder helicalen

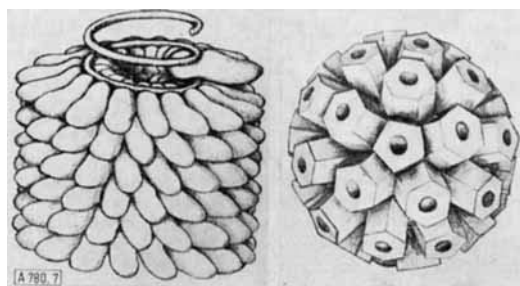


Abb. 7. Modelle von Viren mit helicaler und kubischer Symmetrie. Die linke Abbildung zeigt ein Tabakmosaikvirus, dessen monomere Proteine, welche zugleich die morphologischen Untereinheiten seiner Hülle sind, eine helicale Anordnung bilden. Sie sind im oberen Teil entfernt, um die spiralige Konfiguration der RNA zu zeigen. Die innere Achse des stäbchenförmigen Virusteilchens ist hohl [17a]. In der rechten Abbildung ist das Modell eines kubischen (ikosaedrischen) Virusteilchens wiedergegeben. Die Hülle besteht aus radial angeordneten morphologischen Untereinheiten, den Kapsomeren. Die Virusnucleinsäure befindet sich im Zentrum der Partikel [17b].

[15] H. F. Lodish, Nature (London) 220, 345 (1968).

[16] J. A. Holowczak u. W. K. Joklik, Virology 33, 717 (1967).

[17] D. L. D. Caspar, R. Dulbecco, A. Klug, A. Lwoff, M. G. P. Stoker, P. Tournier u. P. Wildy, Cold Spring Harbor Sympos. quantitat. Biol. 27, 49 (1962).

[17a] Abbildung nach A. Klug u. D. L. D. Caspar, Advances Virus Res. 7, 225 (1960).

[17b] Abbildung nach W. Bernhard, Umschau 67, 658 (1967).

Viren. Das am besten untersuchte und wohl prominenteste Mitglied dieser Gruppe ist das Tabakmosaikvirus. Dies ist ein langgestrecktes Stäbchen, dessen morphologisch sichtbare Untereinheiten in schneckenförmiger Konfiguration angeordnet sind. In langjähriger Arbeit ist die Struktur dieser Viruspartikel weitgehend analysiert worden [18]. Sie setzt sich aus 2650 morphologischen Untereinheiten zusammen, die chemisch äquivalent sind. Man kennt nicht nur die Gesamtzahl dieser Untereinheiten, auch ihr Molekulargewicht ist bekannt. Es liegt bei etwa 17500. Auch die Aminosäuresequenz der monomeren Proteine, also dieser Untereinheiten, ist genau analysiert worden: Sie setzen sich aus 158 Aminosäureresten zusammen. Die Ribonucleinsäure, deren Molekulargewicht  $2 \times 10^6$  beträgt, liegt in schneckenförmiger Konfiguration zwischen den durch die Untereinheiten gebildeten Windungen. Diese Anordnung bedingt, daß die innere Achse der Partikel hohl ist. Ein solches Virusstäbchen ist bemerkenswert stabil, und seine RNA ist hervorragend geschützt gegen die Wirkung abbauender Enzyme, beispielsweise der RNase. Die Stabilität des Virusteilchens beruht primär auf den spezifischen Bindungskräften zwischen den Proteinmolekülen. Zwar ist die Natur dieser Bindungskräfte noch nicht genau bekannt, aber man vermutet, daß es sich dabei im wesentlichen um Wasserstoffbrücken handelt. Außer dem Tabakmosaikvirus gibt es noch Pflanzenviren, die durch helicale Symmetrie ausgezeichnet sind. Unter den tierischen Viren haben insbesondere die Myxoviren, zu welchen auch die bereits erwähnten Influenzaviren gehören, eine helicale Struktur.

Die meisten Virusarten haben Hüllen mit kubischer Symmetrie. Man unterscheidet mehrere regelmäßig gebaute Körper mit kubischer Symmetrie, welche übrigens bereits von *Pythagoras* beschrieben wurden. Der einfachste Körper ist das Tetraeder mit vier Seiten, der nächstkomplizierte Körper ist das Hexaeder (Würfel). Mit zunehmender Komplikation folgen das Oktaeder, das Dodekaeder und schließlich das komplizierte Ikosaeder. Unter all diesen Körpern ist es das Ikosaeder, welches von den meisten Viren als Bauprinzip bevorzugt wird [19]. Es erhebt sich natürlich die Frage, warum die Virusteilchen nicht nach einem einfacheren Plan aufgebaut sind. Im allgemeinen wird in der Evolution der Organismen das ökonomischste Prinzip bevorzugt, und dies gilt in der Tat auch für das komplizierte Ikosaeder: Es ist dies ein regulärer Körper mit 20 Flächen und 12 Ecken. Durch seine Vielflächigkeit nähert sich das Ikosaeder der Gestalt einer Kugel, und es kann gerade aufgrund seiner Vielflächigkeit aus sehr vielen Bausteinen oder Untereinheiten zusammengesetzt werden. Konsequenterweise sind diese Untereinheiten, also die Proteine der Virushülle, deshalb auch sehr klein. Dies ist ein sehr wirtschaftliches Prinzip, das uns wieder auf die eingangs angestellte Überlegung zurückführt, denn solche Proteinmoleküle benötigen auch nur einen geringen Teil

[18] M. A. Lauffer u. C. L. Stevens, Advances Virus Res. 13, 1 (1968).

[19] D. L. D. Caspar u. A. Klug, Cold Spring Harbor Sympos. quantitat. Biol. 27, 1 (1962).

der genetischen Information des Virusteilchens zu ihrer Codierung. Die genetische Information ist, wie wir bereits gesehen haben, im allgemeinen bei den Viren knapp bemessen.

Es ist nicht ganz leicht, den Nachweis dafür zu erbringen, daß eine Viruspartikel nach den Regeln der ikosaedrischen Symmetrie aufgebaut ist. Ein Ikosaeder setzt sich aus einer definierten Anzahl von Bauelementen zusammen. So wird man bei der elektronenmikroskopischen Analyse von Viren versuchen zu ermitteln, ob die Gesamtzahl der Kapsomeren mit dieser Regel in Einklang steht [20]. Es ist nicht nur die Gesamtzahl der Kapsomeren, welche bestimmten kristallographischen Regeln gehorchen muß, auch ihre Anordnung muß mit solchen Prinzipien übereinstimmen. Durch ein Ikosaeder lassen sich mehrere Symmetrieachsen legen. Abbildung 8 zeigt schematisch die Wiedergabe eines Ikosaeders in der Aufsicht auf eine zweizählige, eine dreizählige und schließlich eine fünfzählige Symmetrieachse. Dreht man den Körper um diese Achsen, und zwar um  $180^\circ$ ,  $120^\circ$  bzw.  $72^\circ$ , so liegt er in der gleichen Stellung wie zu Beginn vor. Dasselbe muß für die Konfiguration der Kapsomeren in der Virushülle gelten, um eine Virusart der ikosaedrischen Symmetrie zuordnen zu können. In das schematische Bild eines Ikosaeders (Abb. 8) wurde zum Beispiel die Kapsomerenanordnung des Bakteriophagen  $\Phi X 174$  hineinprojiziert. Dieser Phage ist eine sehr kleine Viruspartikel; er besteht aus insgesamt 12 Kapsomeren [21].

Nicht alle Virusarten sind helical oder ikosaedrisch gestaltet. Es gibt auch Viren, die sich keiner bestimmten Symmetrieklasse zuordnen lassen. Denken wir dabei nur an den komplizierten T4-Phagen mit seinem hexagonalen Kopf, in dem seine Nucleinsäure gespeichert ist. An diesem Kopf befindet sich ein elaborierter Injektionsapparat, der dazu dient, die Nucleinsäure in

die Wirtszelle zu injizieren. Hier haben wir es bereits mit einem hochdifferenzierten morphologischen Gebilde zu tun.

Abschließend sollte noch ein Problem Erwähnung finden, welches eine besondere Relevanz zur allgemeinen Biologie besitzt. Es ist dies die Frage danach, ob die Zusammensetzung einer Viruspartikel aus ihren elementaren Untereinheiten ein selbst organisierender Prozeß ist, der gleichsam zwangsläufig vonstatten geht und auf nichts anderem beruht als auf den Bindungskräften, die zwischen den Proteinuntereinheiten geknüpft werden. Oder, und das wäre die Alternative zur soeben genannten Möglichkeit: Bedarf die Zusammensetzung einer Viruspartikel eines besonderen Proteins, welches die zeitliche und räumliche Ordnung der Gestaltungsvorgänge steuert – etwa ähnlich dem Organisatorprotein, das man aus den Differenzierungsprozessen höherer Organismen kennt?

Es ist bereits vor einigen Jahren möglich gewesen, das Tabakmosaikvirus in seine monomeren Proteinuntereinheiten und in die Ribonucleinsäure zu zerlegen und diese Bestandteile durch bloßes Mischen im Reagensglas, also *in vitro*, wieder zusammenzufügen [22, 23]. Die so entstandenen Virusteilchen unterscheiden sich durch nichts von einer normal in der Zelle herangereiften Viruspartikel. Sie erweisen sich nämlich als vollkommen infektiös. Selbst in Abwesenheit der Ribonucleinsäure fügen sich die monomeren Proteinuntereinheiten durch ihre Bindungskraft zu einer helicalen Struktur zusammen, die der reifen Viruspartikel sehr ähnlich ist. Es ist kein Einfluß von außen erforderlich, um die Zusammensetzung eines Tabakmosaikvirusteilchens zu bewirken. Man spricht deshalb von einem Prozeß des „Self-Assembly“.

Allerdings sind kürzlich Arbeiten veröffentlicht worden, welche darauf hinweisen, daß bestimmte RNA-Phagen außer ihrem Hüllprotein und ihrer RNA noch eine weitere Proteinspezies benötigen, um zur infektiösen Phagenpartikel zusammengesetzt werden zu können. Man hat dieses Protein auch als Reifungsprotein bezeichnet, denn es scheint einen ordnenden Einfluß auf die Zusammensetzung der Virushülle auszuüben. Bei der Rekonstruktion solcher Phagen aus ihren Komponenten *in vitro* erwies sich die Anwesenheit dieses Proteins als notwendig, um die Zusammensetzung von RNA und Hüllprotein zu infektiösen Phagen zu gewährleisten. Es konnte gezeigt werden, daß nur einige wenige Moleküle dieses Reifungsproteins pro Phagenteilchen notwendig sind [24]. Diese Beobachtung wirft ein interessantes Licht auf die Morphogenese solch einfach gestalteter Strukturen wie der Viren.

Gerade durch die so eng begrenzte genetische Information erwiesen sich die Viren als vorzügliche Modelle für die Analyse der verschiedensten Vorgänge, die man an höheren Organismen nur mit Schwierigkeiten studieren kann.

Eingegangen am 15. Juni 1970 [A 780]

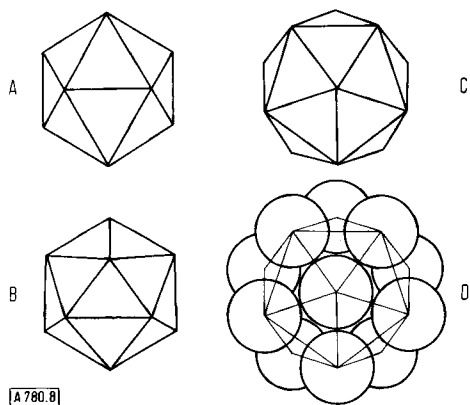


Abb. 8. Die Symmetrieverhältnisse eines Ikosaeders. Die meisten kubischen Viren sind nach dem Prinzip eines Ikosaeders, eines Körpers mit 12 Ecken und 20 Flächen, aufgebaut, das heißt, die Anordnung und die Anzahl ihrer Kapsomeren (vgl. Abb. 7) folgen den Regeln der ikosaedrischen Symmetrie.

In Abb. 8 A, B und C sind die Aufsichten auf eine zwei-, drei- bzw. fünfzählige Rotationssymmetrieachse dargestellt. In Abb. 8 D sind die Kapsomerenanordnung eines kleinen Virus mit 12 Kapsomeren, vereinfacht dargestellt durch die Kreise, und die Aufsicht auf die fünfzählige Rotationssymmetrieachse des Ikosaeders übereinandergezeichnet.

[20] A. Klug u. D. L. D. Caspar, *Advances in Virus Res.* 7, 225 (1960).

[21] C. E. Hall, E. C. MacLean u. J. Tessmann, *J. molecular Biol.* 1, 192 (1959)

[22] G. Schramm, *Z. Naturforsch.* 2b, 249 (1947).

[23] H. Fraenkel-Conrat u. R. C. Williams, *Proc. nat. Acad. Sci. USA* 41, 690 (1955).

[24] J. A. Steitz, *J. molecular Biol.* 33, 923 (1968).