

Bern – Antivirale Wirkstoffe

# Kuscheln mit Proteinen

Das Hundestaube-Virus braucht nicht viel, um Hunde krank zu machen – eine winzige Bewegung seines Bindeproteins reicht aus, wie Philippe Plattet zeigte. Doch eigentlich interessiert er sich für Masern.

Eine französische Bulldogge schnaubt hinter der Ecke und wackelt erfreut auf uns zu. Ihr Kopf mit den großen Fledermaus-Ohren ist zur Seite geneigt. Am liebsten würde man dem armen Tier eine Nackenmassage verpassen. Bringen würde es nichts. Der Vierbeiner wird in Kürze wegen seines Bandscheibenvorfalles operiert.

Wir befinden uns im Kleintierspital der Universität Bern, am Rand der Stadt. Aus kleinen Boxen heraus schauen einen die kranken Tiere stumm durch die Gitterstäbe an. Gleich neben dem modernen Spital, im ersten Stock eines typischen, langweiligen Forschungsgebäudes, befindet sich das Labor von Philippe Plattet. Er ist Oberassistent an der von den Universitäten Bern und Zürich abwechselnd geführten Tiermedizinischen Fakultät Vetsuisse.

## Virenarsenal im Schrank

Plattet hält in seinem Labor ein ganzes Arsenal von Viren, die den Vierbeinern von nebenan ziemlich zusetzen können. Es sind Hundestaube-Viren, die nächsten Verwandten der menschlichen Masern-Viren aus der Familie der schleimtreibenden Paramyxoviren, Gattung der krankmachenden Morbilliviren. Plattets Gruppe produziert immer neue Mutanten. Zudem erhält

**Philippe Plattet (li.) und seine Mitarbeiter am Berner Tierspital suchen nach den Infektionsmechanismen von Hundestaube- ebenso wie von Masernviren. Eine Impfung gegen beide ist ihr Fernziel.**



Philippe Plattet entdeckte, dass erst das Zusammenspiel zweier Proteine Morbilliviren infektiös macht.

er von den Veterinärmedizinern seiner Fakultät laufend neue Varianten. Trotz der Nähe zum Spital wird nur in Sicherheitsstufe zwei experimentiert. „Praktisch alle Hunde sind geimpft und die Impfung ist sehr effektiv“, beruhigt der Oberassistent.

Beunruhigend findet Plattet dagegen, dass das Hundestaube-Virus eines Tages auf den Menschen überspringen könnte. Viele Wildtiere dienen dem Virus als Wirt. „Es gibt eine Theorie, wonach dies der Weg ist, auf dem das Masern-Virus zu uns gelangt ist“, mutmaßt er. Die hohe Durchimpfungsrate der Hunde gegen das Staube-Virus bleibt bei den Menschen gegen das Masern-Virus unerreicht. In der Schweiz liegt sie bei 82 Prozent. Man geht davon aus, dass 95 Prozent für eine Eliminierung der Krankheit notwendig sind – das Ziel der Weltgesundheitsorganisation (WHO) für Europa bis 2015.



Fotos (2): Florian Fisch

Das Problem des Widerstandes gegen das Impfen kennt Plattet aus seiner eigenen Virologie-Vorlesung: „Es gibt immer wieder Studenten, die sich nicht vom Sinn der Impfung überzeugen lassen wollen, dabei ist gerade die MMR-Impfung eine der sichersten überhaupt.“

Plattet ist jedoch kein Epidemiologe, sondern Molekularbiologe. Mit fünf DoktorandInnen und einer technischen Assistentin erforscht er den Infektionsmechanismus der Morbilliviren. Die Hülle der Morbilliviren enthält ein Bindungsprotein (Hämagglutinin) und ein Fusionsprotein. Das Bindungsprotein, welches an verschiedene Rezeptorproteine der Wirtszellen docken kann, bildet Tetramere mit würfelförmigen Köpfen an einfachen, langen und in der Membran verankerten Stielen. Das Trimer aus dem Fusionsprotein ist kürzer und ändert seine Konformation nach der Aktivierung, um die Membran der Wirtszellen und der Virenhülle zueinander zu ziehen, worauf diese verschmelzen.

## Wie ein Kind an seine Mutter

Wie ein Kind legt das kleine Fusionsprotein-Trimer seinen Kopf gegen den Körper seiner „Mutter“, das Bindungsprotein-Tetramer. Sobald das Bindungsprotein an den Rezeptor an der Wirtszelle dockt, wird das Fusionsprotein durch eine Veränderung der Struktur des Bindungsprotein aktiviert.

Diesem Mechanismus der Aktivierung ist Plattets Arbeitsgruppe auf der Spur. Ihr Fernziel ist die Entwicklung antiviraler Wirkstoffe gegen Morbilliviren wie das Masernvirus. Die Chancen stehen gut, davon ist Plattet überzeugt: „Die beiden Proteine können ihre Struktur nur schlecht verändern. Deshalb sind wir ein Leben lang immunisiert. Sobald wir einen guten Antikörper haben, sind wir gerettet.“

Die strukturellen Veränderungen des Bindungsproteins vermuten die Wissenschaftler im Stiel – irgendwo am der Stelle, wo sich der Kopf des Fusionsproteins anlehnt. Weil die Strukturbestimmung von Membranproteinen immer noch ein

Albtraum ist, sind nur einzelne Teile der Struktur des Bindungsproteins bekannt: Die würfelförmigen Köpfe, die ihre Ausrichtung beim Andocken ändern und die vier Stiele, die oben parallel verlaufen und unten eine ineinander verdrehte Vierer-Helix bilden. Irgendwo am Übergang vom parallelen Abschnitt zum verdrehten bindet das Fusionsprotein.

### Notwendige Flexibilität

Um herauszufinden wo, mutierte Plattets Doktorandin Nadine Ader alle Aminosäuren in dieser Region, eine nach der anderen, in Cystein. Zwanzig Mutanten in zwei Wochen. „Sie kann das“, meint Plattet. „Kein Problem“, zuckt die Doktorandin mit der Schulter, als sie mal kurz beim Chef reinschaut. Mit den Mutanten erhoffte sie sich, die Bewegungen der vier Stränge im Stiel mittels Disulfidbrücken unterbinden zu können. Ader exprimierte die mutierten Bindungsproteine und das Fusionsprotein in modifizierten Nierenepithel-Zellen von Grünen Meerkatzen (Vero-Zellen), die gleichzeitig auch das Rezeptorprotein exprimieren. Dass die Fusion erfolgreich war, zeigt sich, wenn die vielen kleinen Zellen zu einer mehrkernigen Riesenzelle (Synzytium) verschmolzen sind.

Und tatsächlich, wenn die Proteinstränge beim Übergang vom parallelen zum verdrehten Teil verbunden wurden, verschmolzen die Zellen nicht – das Fusionsprotein konnte also nicht aktiviert werden. Gab Ader aber das Reduktionsmittel Dithiothreitol (DTT) dazu, wodurch die Disulfidbrücken abgebaut werden, konnte sie die Aktivität wiederherstellen (*JBC* 2012, 287:16324).

Irgendwie wird die Bewegung, die in den Würfel-Köpfen der Bindungsproteine ausgelöst wird, in die Stiele weitergegeben. „Die Sequenz in dieser Region ist sehr konserviert in den Paramyxoviren und wir denken deshalb, dass auch die Aktivierung durch diese Bewegung konserviert ist“, fasst Plattet die Bedeutung der Entdeckung zusammen. Wie die Bewegung im Detail aussieht und wie dadurch die Aktivierung des Fusionsproteins erreicht wird, weiß Plattet jedoch noch nicht.

„Vielleicht wird das Fusionsprotein durch die Bewegung weggestoßen und dadurch eine Strukturänderung hervorgerufen“, spekuliert Plattet. Vielleicht wird auch einfach die Bindungsstelle so verändert, dass die metastabile Struktur des Fusionsproteins vor dem Andocken destabilisiert wird und in die für die Verschmelzung bereite Struktur kippt. Mit ein paar Strichen auf dem Papier und viel Enthusiasmus

versucht Plattet, die Energieniveaus der verschiedenen Strukturen zu veranschaulichen. Hört man ihm zu, hat man das Gefühl, an etwas Wichtigem teilzuhaben.

Das Thema wird von mehreren Gruppen in aller Welt beforscht. Ist die Konkurrenz nicht zu groß? „Nein, sie gut für uns! Zugegeben, die Konkurrenz ist hart, aber sie treibt uns an“, gibt sich Plattet entspannt. Ich nehme ihm die Gelassenheit ab, obwohl seine eigene Stelle an der Uni Bern auf sieben Jahre befristet ist. Sein Doktorat und den ersten Postdoc hat der französischsprachige Schweizer an der Uni Lausanne bei dem Virologen Ricardo Witteck gemacht, der 2008 verstorben ist und bekannt dafür war, von seinen Mitarbeitern viel zu verlangen. „Dies war eine harte, aber großartige Zeit. Ich musste viel lernen“, erinnert sich Plattet.

### Multinationales Team

Die Mitglieder seiner Gruppe scheinen jedenfalls bei guter Laune zu sein. Im Kaffeeraum wird viel gewitzelt und gelacht – auch mit dem Chef. Die drei Schweizer, eine Deutsche, eine Portugiesin, eine Kubanerin und ein Iraner verstehen sich offensichtlich bestens. Die Doktorandin aus Portugal, Lisa Alves, die ausgebildete Veterinärmedizinerin ist und nebenbei noch einen Tag pro Woche am Kleintierspital arbeitet, zögert nicht, in die Gummistiefel zu steigen und einen Hund für das Gruppenfoto aufzutreiben.

Plattet, der selbst noch nie außerhalb der Schweiz geforscht hat, geht Kollaborationen mit Gruppen aus aller Welt ein: Würzburg, Leiden, Stockholm... Speziell mit Richard Plemper aus Atlanta, den er auf einem Kongress kennengelernt hatte, hat er eine fruchtbare Zusammenarbeit begonnen. Plemper ist Experte für Proteinstrukturen und Koautor von Aders *JBC*-Artikel. „Die Diskussion mit den Kooperationspartnern ist sehr wichtig“, ist sich Plattet denn auch bewusst. „Wir teilen *fast* alle Daten.“ Welche Kollaborationen in Zukunft geplant sind, möchte Plattet nicht verraten, weil die Partner möglicherweise nicht glücklich darüber wären, wenn er die Forschungsthemen ausplaudern würde. Die Konkurrenz liest mit!

Genau diese Konkurrenz – Robert Lamb von der Northwestern University in Evanston, Illinois – habe die neuesten Erkenntnisse seiner Arbeitsgruppe vollumfänglich akzeptiert, freut sich Plattet. Lamb erforscht die Bindungsstelle zwischen Bindungsprotein und Fusionsprotein.

Neben der Änderung der Struktur des Bindungsproteins untersucht eine andere

Doktorandin Plattets ebenfalls diese Bindungsstelle. Daneben kümmert sich eine weitere Doktorandin um den Kontakt zwischen den Matrixproteinen, welche die Hüllmembran auskleiden, und den Nukleoproteinen, welche die RNA verpacken. Weiter weg von den Proteinstrukturen und näher bei der Krankheit ist das Projekt eines Doktoranden, der die Artbarriere des Hundestaupevirus zwischen Hund und Mensch genauer untersucht.

Die Veterinärmedizinerin Alvez erforscht, weshalb das Hundestaupe-Virus die Nerven demyelinisiert. „Der Effekt ist ein wenig wie bei Multipler Sklerose. Wir wissen bis heute nicht, wodurch diese ausgelöst wird. Es gibt eine Hypothese, dass eine persistente Infektion durch das Masern-Virus der Grund sein könnte“, bemerkt Plattet.

Klar ist, dass Morbilliviren das Immunsystem stark hemmen. Gegenwärtig wird noch der Rezeptor der Gliazellen gesucht, der den Viren den Eintritt ermöglicht.

Plattet steht selbst noch manchmal im Labor. Allerdings immer seltener, bedauert er. „Es sind etwa zehn Prozent meiner Arbeit, vielleicht auch zwanzig.“ In dieser Zeit startet Plattet zusammen mit der TA neue Projekte für neue Doktoranden. „Das hilft den Doktoranden, sich zu Beginn ihres Projekts nicht zu verlieren“, so Plattet.

FLORIAN FISCH

