

### Abteilungsdirektor/in | Head of Department

**Prof. Dr. med. Gerhard Hunsmann**

### Hochschullehrer/innen | Professors and Lecturers

*Telefon*

<b>Bruß, Volker</b>	PD Dr. rer. nat.	vbruss@gwdg.de	39-5759
<b>Heermann, Klaus-Hinrich</b>	PD Dr. med.	kheerma@gwdg.de	39-5800
<b>Hufert, Frank T</b> (seit 10/2005, ltd. Oberarzt)	Prof. Dr. med.	fhufert@gwdg.de	39-5872
<b>Hunsmann, Gerhard</b>	Prof. Dr. med.	ghundma@gwdg.de	39-5872
<b>Köchel, Heinrich Georg</b>	PD Dr. rer. nat.	hkoechel@gwdg.de	39-5815
<b>Krone, Bernd</b>	PD Dr. rer. nat. Dr. med.	bkrone@gwdg.de	39-5758

### Weitere Arbeitsgruppenleiter/innen | Other Group Leaders

**Uy, Angela** Dr. rer. nat. auy@gwdg.de 39-5805

#### Forschungsschwerpunkte

- ▶ Epidemiologie
- ▶ Immunomodulatorische Pathomechanismen viraler Infektionen
- ▶ Pathogenese der Hepatitis-B-Virus Infektion
- ▶ Zelltransformation und Tumor Progression
- ▶ Diagnostik viraler Infektionen

#### Research Foci

- ▶ Epidemiology
- ▶ The Role of Immuno Modulation in Pathomechanisms of Viral Infections
- ▶ Pathogenesis of Hepatitis-B-Virus Infection
- ▶ Cell Transformation and Tumour Progression
- ▶ Diagnostics of Viral Infection

## Einleitung

Die Aufgaben der Abteilung Virologie umfassen Krankenversorgung, Lehre und Forschung.

Der Abteilungsdirektor leitet die Abteilung Virologie des Bereichs Humanmedizin der Universität Göttingen seit Dezember 2002 und die Abteilung Virologie und Immunologie des Deutschen Primatenzentrums (DPZ).

In 2005 übersiedelte die Arbeitsgruppe von Prof. Hufert von Freiburg an die Abteilung Virologie des Bereichs Humanmedizin. Dadurch wurden neue Forschungsschwerpunkte aufgenommen, wie Untersuchungen zur Immunpathogenese des humanen Cytomegalovirus, und bestehende Forschungsschwerpunkte verstärkt in dem Projekte zur Diagnostik und Pathogenese neuer viraler Infektionserkrankungen zoonotischen Ursprungs (z.B. SARS-CoV, Bunya- und Flaviviridae). Damit werden in der Abteilung Forschungsarbeiten zu den fünf o. g. Schwerpunkten durchgeführt, überwiegend im Rahmen lokaler (UKG, DPZ, MPI), nationaler und internationaler Kooperationen.

## Preface

The tasks of the Department of Virology encompass patient care, teaching and research. The Director is head of the Department of Virology of the Bereich Humanmedizin since December 2002. Furthermore he is in charge of the Department for Virology and Immunology at the German Primate Centre (DPZ).

In 2005, Prof. Hufert's group moved from the University of Freiburg to the Department of Virology of the Bereich Humanmedizin in Göttingen. Further research foci followed such as investigations on the immune pathogenesis of the human cytomegalovirus. Existing research was strengthened; projects on the diagnostic and pathogenesis of new viral infectious diseases of zoonotic origin (e.g. SARS-CoV, bunya viridae, and flavi viridae) were enhanced. Research within the department is focused on the five areas mentioned above. This work is conducted in the framework of local (UKG, DPZ, MPI), national, and international cooperations.

## 1. Epidemiologie

### **Diagnose, Klinik und Epidemiologie der Hantavirusinfektion**

Die Hantavirusinfektion ist eine weltweit verbreitete Anthroozoonose, deren medizinische Bedeutung stark von lokalen Gegebenheiten abhängig ist. Dies trifft vor allem für das regionale Vorkommen von Virusreservoiren zu als auch auf das fokale Vorkommen unterschiedlicher Hantavirusstämme. Unter Einsatz der rekombinanten DNA-Technologie wurde eine biologisch sichere Hantavirusdiagnostik aufgebaut. Mit Hilfe klassischer und neuerer Verfahren der Virologie, wie dem Plaque-Reduktions-Neutralisationstest, der Nukleinsäureamplifikation und der Sequenzierung wurde eine Grundlage für

zukünftige Untersuchungen zum Vorkommen humanpathogener Virusstämme im Tierreservoir geschaffen.

In Nordwestdeutschland erkrankten 80 Patienten ausnahmslos an Infektionen mit Viren vom Serotyp Puumala. Die Symptomatik und der klinische Verlauf waren sehr variabel. Sie entsprachen weitgehend den klassischen Verläufen der aus Skandinavien bekannten Nephropathia epidemica und wichen deutlich von der in den Balkanländern beobachteten Form ab. In Longitudinaluntersuchungen bis über 12 Jahre wurden zwei chronisch verlaufende Erkrankungen entdeckt. Umfangreiche serologische und seroepidemiologische Untersuchungen an Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz bzw. nach Nierentransplantation konnten zeigen, dass in Nordwestdeutschland der Hantavirusinfektion eine signifikante Bedeutung für chronische Nierenerkrankungen nicht zukommt. Die Durchseuchung der Bevölkerung in Nordwestdeutschland mit Hantaviren wurde auf 4,1 % hochgerechnet.

### **Infektionen und Impfungen im Kindesalter und Zusammenhänge mit anderen menschlichen Erkrankungen: Urtikaria, Balo's konzentrische Sklerose, Multiple Sklerose**

Infektionskrankheiten und Impfungen im Kindesalter zeigen in epidemiologischen Untersuchungen eine Assoziation mit anderen menschlichen Erkrankungen. Die Prävalenzen der wichtigsten Erkrankungen wurden im Rahmen epidemiologischer und sero-epidemiologischer Untersuchungen bestimmt. Zusammenhänge mit den Infektionen/Impfungen und anderen menschlichen Erkrankungen wurden bestimmt für die Urtikaria im Kindesalter und die Balo's konzentrische Sklerose, eine Sonderform der Multiplen Sklerose.

## 1. Epidemiology

### **Diagnosis, clinic and epidemiology of infections with hanta viruses**

The hanta virus infection is an anthroozoonosis distributed all over the world. However, the medical importance of this infection depends on local factors. This applies, for example, the presence of regional reservoirs for viruses and the focal distribution of different virus strains. Using recombinant DNA technology a biologically safe hanta virus diagnostic technique was established. Classic and modern virologic techniques, such as the plaque reduction neutralisation assay, nucleic acid amplification and sequencing, were employed to detect virus strains pathogenic for humans within animal reservoirs.

In North-Western Germany 80/80 patients were infected with the hanta virus serotyp Puumala. The symptomatic and clinical disease courses were highly variable. In general they presented Nephropathia epidemica known in Scandinavian countries. These courses differ from hanta virus infections on the Balkans. Longitudinal investigations over up to 12 years exhibited two cases of chronic infection. Further investigations of patients with chronic renal failure and patients after renal transplantation have shown that in North-Western Germany, the hanta virus infection does not significantly contribute to chronic renal diseases. It was calculated that 4,1 % of the

population in North-Western Germany has been exposed to hanta virus.

### **Infections and vaccinations in childhood and associations with other human diseases: urticaria, Balo's concentric sclerosis, multiple sclerosis**

Epidemiologic investigations exhibit associations between infections and vaccinations during childhood with other human diseases. Associations were investigated for childhood urticaria and for Balo's concentric sclerosis, a form of multiple sclerosis.

#### **Arbeitsgruppenleiter/innen | Group Leaders**

PD Dr. rer. nat. Dr. med. Bernd Krone

#### **Kooperationen | Cooperations**

Prof. Dr. Max Lakomek, Prof. Arnulf Pekrun, Abteilung Pädiatrie I mit Schwerpunkt Hämatologie und Onkologie, Bereich Humanmedizin, Universität Göttingen

PD Dr. N. Haas, Prof. B.M. Henz, Abteilung Dermatologie und Allergologie, Charité Berlin, Humboldt-Universität Berlin

Prof. Dr. Folker Hanefeld, Dr. Daniela Pohl, Abteilung Pädiatrie II mit Schwerpunkt Neuropädiatrie, Bereich Humanmedizin, Universität Göttingen

Dr. D. Reinhardt, Abteilung Pädiatrische Hämatologie und Onkologie, Universitätskinderklinik, Universität Münster

Dr. Kevin M. Rostasy, Abteilung Pädiatrie II mit Schwerpunkt Neuropädiatrie, Bereich Humanmedizin, Universität Göttingen

#### **Drittmittelförderung | Funding**

Deutsche Hertie-Stiftung, GHS 1910017, bis 30.06.2005

#### **Ausgewählte Publikationen | Selected Publications**

Pohl D, Rostasy K, Krone B, Hanefeld F. (2005) Balo's concentric sclerosis associated with primary human herpesvirus 6 infection. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 76: 1723-5.

Haas N, Birkle-Berlinger W, Krone B, Henz BM. (2004) [Seasonal variations in the incidence of acute urticaria in children – possible implications regarding pathogenesis.] *Allergologie*, 27: 35-9.

Reinhardt D, Houliara K, Pekrun A, Lakomek M, Krone B. (2003) Impact of conventional chemotherapy on levels of antibodies against vaccine-preventable diseases in children treated for cancer. *Scand J Infect Dis*, 35: 851-7.

## **2. Immunomodulatorische Pathomechanismen viraler Infektionen**

Ziel dieses Forschungsschwerpunktes ist es, die grundlegenden Wechselwirkungen zwischen Virus und Wirt zu verstehen. Persistierende Viren, wie das humane Cytomegalovirus (HCMV), haben im Laufe der Koevolution mit dem Wirt diverse Mechanismen entwickelt, der Immunantwort des Wirtes zu entkommen. Insbesondere Störungen der erworbenen Immunität stehen hier im Vordergrund. Wir studieren deshalb am HCMV-Modell die molekularen Mechanismen, die die ersten Schritte der Immunantwort inhibieren und so dem Virus helfen, sich im Menschen zu verbreiten und latent zu persistieren. Viruspersistenz und die Akkumulation von multiplen Virusstämmen im Wirt sind zentrale Faktoren der Pathogenese. Diese werden maßgeblich durch immunomodulatorische Mechanismen gewährleistet. Wir konnten in unseren Untersuchungen zeigen, dass die Infektion von dendritischen Zellen mit HCMV zu schweren funktionellen Störungen der Antigenpräsentationsfunktion führt. Ein viral-vermittelter löslicher

Faktor ist hierfür verantwortlich. Die Charakterisierung dieses Faktors ist zurzeit Gegenstand weiter Forschungstätigkeit.

Im Gegensatz zu persistierenden Viren sind die Strategien der Immunmodulation bei nicht-persistierenden Viren anders. Wie das Beispiel der Bunyaviren und der SARS-Coronaviren (SARS-CoV) zeigt, wird zwar auch hier teilweise die Antigenpräsentationsfunktion moderat gestört, dennoch sind es vor allem viral-bedingte Störungen auf der Ebene des angeborenen Immunität die dem Virus die ersten Replikationsschritte im Wirt möglich machen. Wir studieren deshalb unter anderem mit Hilfe der reversen Genetik die molekularen Mechanismen, die der Interaktion von Virusreplikation und angeborener Immunität zugrunde liegen. Wir konnten am Beispiel von Rift-Valley-Fever-Virus zeigen, dass Bunyaviren, die Aktivierung des Interferonsystems durch Hemmung der RNA-Polymerase II-vermittelten Transkription verhindern. Hierfür ist ein virales Nichtstrukturprotein (NSs) verantwortlich, dass mit einem basalen Transkriptionsfaktor (TFIIH) interagiert. Im Gegensatz hierzu erfolgt nach Infektion mit SARS-CoV spezifisch eine Hemmung der Aktivierung von IRF-3, dem für die Expression von Interferon-beta entscheidenden Transkriptionsfaktor. Weitere Arbeiten zur Identifizierung des hierfür verantwortlichen viralen Antagonisten sind aktueller Forschungsgegenstand.

## **2. The Role of Immuno Modulation in Pathomechanisms of Viral Infections.**

Understanding the basic interaction between viral replication and the host immune response is a key issue of our research. Viruses, which persist in the host, such as the human cytomegalovirus (HCMV), have developed multiple mechanisms to encounter the host response. The constant co-evolution between virus and man led to different – mainly inhibitory – mechanisms, which block the adaptive immunity. We therefore study the molecular mechanisms driving this impairment. The immune modulating mechanisms of HCMV, which encounter the adaptive immunity, help the virus to establish latency in man, and allow multiple strains to invade the host all through its existence. Our investigations showed that a severe HCMV-mediated impairment of dendritic cell function is the result of a soluble viral-mediated factor which remains to be elucidated. Characterization of these factors are currently object of further investigation.

A different strategy of immune modulation is used by viruses which do not establish a persistent infection in the host, such as bunyaviruses and SARS coronavirus (SARS-CoV). These viruses mainly interact with the innate immunity although a moderate impairment of the antigen presentation has been documented. Using different techniques such as reverse genetics, we studied the underlying molecular mechanisms. We have demonstrated that Rift Valley fever virus – a bunyavirus which infects both cattle and humans – suppresses the activation of the interferon system by targeting RNA polymerase II-mediated transcription. The key factor is a virus-encoded non-structural protein (NSs) which interacts with the basal transcription factor TFIIH. In contrast, infection with SARS-CoV

leads to the specific inhibition of IRF-3 activation which is the prerequisite for interferon-beta expression. We are currently trying to identify the viral antagonist that is responsible for this inhibition.

#### Arbeitsgruppenleiter/innen | Group Leaders

Prof. Dr. Frank T. Hufert

#### Kooperationen | Cooperations

William Britt, Department of Pediatrics, University of Alabama at Birmingham, USA

Jang Yanqing Ding, Department of Basic Medical Science, The first Military Medical University, Guangzhou, China

Gerhard Dobler, Martin Pfeffer, Institut für Mikrobiologie der Bundeswehr, München

Ursula Meyer-König, Institut für Virologie, Universitätsklinikum Freiburg

Goff Shellam, Discipline of Microbiology, School of Biomedical and Chemical Sciences, University of Western Australia, Perth, Australien

J. G. Patrick Sissons, Department of Medicine, School of Clinical Medicine, University of Cambridge, United Kingdom.

#### Drittmittelförderung | Funding

DFG, "The role of the hematopoietic and the lymphatic system in the pathogenesis of SARS coronavirus infection" FKZ GZ HU743/5-1, 2005-2008

BMBF, FKZ 01KI9951, Teilprojekt F1: „Interaktion von Cytomegalovirusreplikation mit T- und NE-Zellantwort unter Immunsuppression. Auswirkung für Diagnostik und Therapie“, 2003-2007

Chinesisch-Deutsches Zentrum für Wissenschaftsförderung, „Immunopathogenesis of SARS Coronavirus“ FKZ GZ Nr. 228 (202/1), 2005-2007

#### Ausgewählte Publikationen | Selected Publications

Spiegel M, Pichlmair A, Martínez-Sobrido L, Cros J, Garcia-Sastre A, Haller O, Weber F. (2005)

Inhibition of Beta interferon induction by severe acute respiratory syndrome coronavirus suggests a two-step model for activation of interferon regulatory factor 3. *J VIROL*, 79(4): 2079-86.

Billecocq A, Spiegel M, Vialat P, Kohl A, Weber F, Bouloy M, Haller O. (2004) NSs protein of Rift Valley fever virus blocks interferon production by inhibiting host gene transcription. Contributed equally. *J VIROL*, 78(18):9798-806.

Spiegel M, Pichlmair A, Muhlberger E, Haller O, Weber F. (2004) The antiviral effect of interferon-beta against SARS-coronavirus is not mediated by MxA protein. *J CLIN VIROL*, 30(3):211-3.

Weidmann M, Meyer-König U, Hufert FT. (2003) Rapid detection of herpes simplex virus and varicella-zoster virus infections by real-time PCR. *J CLIN MICROBIOL*, 41(4):1565-8.

### 3. Pathogenese der Hepatitis-B-Virus Infektion

#### Molekularbiologie des Hepatitis B Virus (Brüß)

Das Hepatitis B Virus (HBV) verursacht beim Menschen akute und chronische Infektionen der Leber und ist mit der Entstehung des hepatozellulären Karzinoms assoziiert. Das Viruspartikel hat eine sphärische Gestalt und besteht aus einem ikosaedrischen Nukleokapsid sowie einer Hülle, die drei Oberflächenproteine trägt. Im Inneren des Nukleokapsid befindet sich das virale DNA-Genom, das durch reverse Transkription aus einem RNA-Vorläufermolekül gebildet wird und eine virus-eigene DNA-Polymerase. Die beiden Hauptstrukturelemente des Virus (Kapsid und Hülle) entstehen zunächst getrennt voneinander, das Kapsid im Cytosol und die Hüllproteine in den Membranen des Endoplasmatischen Retikulums. Bei der Entstehung neuer Viren interagieren diese beiden Strukturen in Form einer Knospung.

Die Arbeitsgruppe hat in den letzten Jahren Bereiche im Hüll- und Kapsidprotein kartiert, die bei der Knospung interagieren. Im großen Hüllprotein ist dies eine kurze lineare Domäne, die mit einer relativ kleinen Region in einer Grube auf der Oberfläche der Kapside spezifisch interagiert. Des Weiteren wurde gefunden, dass Kapside direkt nach ihrer Bildung (zu diesem Zeitpunkt enthalten sie das RNA-Vorläufermolekül des DNA-Genoms) noch nicht umhüllt werden können. Vielmehr muss erst die virale DNA durch reverse Transkription im Inneren des Kapsids gebildet werden, um das Partikel für die Knospung kompetent zu machen. Offensichtlich ist die DNA-Synthese im Lumen des Kapsids mit einer Änderung der Partikeloberfläche verknüpft.

#### Epidemiologie und Charakterisierung von okkulten Hepatitis B Virus-Infektionen (Uy)

Die klassische Definition von chronischem HBV-Trägerstatus war bisher der Nachweis vom Hüllprotein (HBsAg) über einen längeren Zeitraum als 6 Monate. Seit der Einführung sensitiver PCR-Methoden zum Nachweis von HBV-DNA wird deutlich, dass im Gegensatz zur gängigen Meinung das Verschwinden von HBsAg, die Bildung von Anti-HBs und die Normalisierung der Leberfunktionen nicht gleichbedeutend mit einer Ausheilung der akuten Infektion ist. Bei Patientenkollektiven mit den serologischen Markern einer durchgemachten HBV-Infektion weisen wir bei 30% und bei seronegativen Patientenkollektiven bei 5% HBV-DNA nach. Die Sequenzanalysen zeigen, dass die Genregion für das Hüllprotein häufig mutiert ist. Das Hüllprotein ist auch Hauptbestandteil des gegenwärtig erhältlichen Impfstoffes. Wir finden Hinweise, dass dieser Impfstoff vor einer Infektion mit diesen Mutanten nicht schützt. Zur Zeit werden besonders ungewöhnliche HBV-Mutanten biologisch charakterisiert.

### 3. Pathogenesis of Hepatitis-Virus Infection

#### Molecular Biology of the Hepatitis B Virus (Brüß)

The hepatitis B virus (HBV) causes acute and chronic infections of the human liver which are associated with the development of hepatocellular carcinoma. The virus particle takes a spherical shape and consists of an icosahedral nucleocapsid and an envelope carrying three surface proteins. The nucleocapsid holds the viral DNA genome which is synthesized by reverse transcription of an RNA precursor and a viral DNA polymerase. The two main substructures of the virus (capsid and envelope) are generated separately from each other, the capsid in the cytosol and the surface proteins in the membranes of the endoplasmic reticulum. During the formation of progeny virus, both substructures interact with each other to facilitate budding.

In recent years, the research group identified domains in the envelope and capsid proteins which interact with each other during budding. This is a small linear sequence in the large envelope protein specifically interacting with a relatively small region in a groove of the capsid surface. Furthermore, it was shown that newly formed capsids containing only the RNA precursor of the viral DNA genome cannot be enveloped. To a

certain extent, viral DNA has to be synthesised first by reverse transcription in order to render the capsid competent for budding. DNA synthesis within the capsid apparently triggers an alteration of the particle surface.

#### **Epidemiology and characterization of occult hepatitis B virus infections (Uy)**

The classical definition of HBV carrier state is based on the presence of HBsAg at least for 6 months. Since sensitive PCR methods have been introduced for the detection of HBV DNA, it has been shown that contrary to current opinion, the disappearance of HBsAg from serum, the development of anti-HBs, and normalization of liver function does not reflect complete recovery from acute HBV infection. We found a prevalence of HBV-DNA of about 30% in patients with a passed HBV infection and about 5% in seronegative patients. The sequence data show many mutations in the a-determinant. The HBsAg is also the main component in currently used vaccines. These vaccines do not protect against HBV mutants. The biological characterization of special HBV mutants is under study.

#### **Arbeitsgruppenleiter/innen | Group Leaders**

PD Dr. rer. nat. Volker Bruß

Dr. rer. nat. Angela Uy

#### **Kooperationen | Cooperations**

Wolfram Gerlich, Abteilung Medizinische Virologie, Universität Gießen

Meijing Lu, Abteilung Medizinische Virologie, Universität Essen

John Taylor, Fox Chase Cancer Institute, Philadelphia, USA

#### **Drittmittelförderung | Funding**

DFG, SFB 402 „Zelluläre und molekulare Hepatogastroenerologie“, Teilprojekt C2, 2004-2006 (Bruß)

Fritz-Bender-Stiftung, Nachweis kryptischer Hepatitis B Virus-Infektionen bei Blutspendern 2003-2005 (Uy)

#### **Ausgewählte Publikationen | Selected Publications**

Kluge B, Schlager M, Pairan A, Bruss V (2005) Determination of the minimal distance between the matrix and transmembrane domains of the large hepatitis B virus envelope protein. *J VIROL*, 79(12): 7918-21.

Dresing K, Pouwels C, Bonsack S, Oellerich M, Schworer H, Uy A, Stürmer KM (2003) [HCV, HBV and HIV infections: risk for surgeon and staff. Results and consequences of routine screening in emergency patients]. *CHIRURG*, 74(11): 1026-33.

Ponsel D, Bruss V (2003) Mapping of amino acid side chains on the surface of hepatitis B virus capsids required for envelopment and virion formation. *J VIROL*, 77(1): 416-22.

## **4. Zelltransformation und Tumor Progression**

### **Integration von HPV-16-DNS in das Wirtszellgenom:**

#### **Möglicher Nachweis eines neuen zellulären**

#### **Tumorsuppressor-Gens (Köchel)**

Integration der DNS von Risikotypen humaner Papillomviren in sogenannte Tumorsuppressorgene könnte eine Ursache für die Entstehung des Zervixkarzinoms sein. In einem Zervixkarzinom und deren Metastasen von einer 25-jährigen Patientin konnte integrierte HPV-16-DNS festgestellt und kloniert werden. Das durch die Integration affizierte Gen liegt auf dem langen Arm von Chromosom 1 (p36,33). Es besteht aus insgesamt 17 Exons innerhalb eines Bereichs von 26 kBp. Die Funktion

des Genprodukts selbst ist nicht bekannt, es weist jedoch Homologien zu Tubulin-Tyrosin-Ligasen (TTL) auf, die eine wichtige Rolle bei der Zellteilung spielen. Es konnte bei einer Analyse mit dem UCSC Genome Browser festgestellt werden, dass es homologe Gene bei Maus und Ratte gibt, so dass in einem entsprechenden Zellkultursystem und Tiermodell die Funktion des mutmaßlichen Genprodukts untersucht werden kann. Die cDNA wurde kloniert um das Genprodukt zunächst für Funktionsprüfung gentechnisch herstellen zu können.

### **Schutz vor dem malignen Melanom durch Impfungen gegen die Pocken und die Tuberkulose (Krone)**

Das Immunsystem schützt gegen das Maligne Melanom, wenn es durch geeignete mikrobielle Stimuli induziert wurde. Paraspezifische Einflüsse von Impfungen hatten in verschiedenen Untersuchungen scheinbar widersprüchliche Befunde ergeben. Es konnte nun gezeigt werden, dass sich die Einflüsse der Vaccinia- und der BCG-Impfung nicht kumulativ verhalten, sondern dass bereits eine der beiden Impfungen den Schutz aktiviert. Die scheinbaren Widersprüche zwischen Ergebnissen früherer epidemiologischer Arbeiten zu einem möglichen protektiven Effekt der BCG-Impfung im Hinblick auf maligne Erkrankungen konnten als Folge des Nichtbeachtens der Pockenschutzimpfung erklärt werden. Weitere Analysen über das Zusammenspiel der bekannten Risikofaktoren für das Melanom mit dem Umstand, nicht mit Vaccinia und BCG geimpft zu sein, machten deutlich, dass beide Impfungen die bekannten Melanom-Risiken weitgehend neutralisieren können. In einer prospektiven Studie, die über acht Jahre lief, konnte ferner gezeigt werden, dass die Impfungen mit Vaccinia und mit BCG in früher Kindheit die Überlebensrate von Melanompatienten nach chirurgischer Entfernung des Tumors signifikant verbessern. Es wurde eine Hypothese entwickelt, wie der Schutz zustande kommt. Dabei spielen humane endogene Retroviren und die immunologische Kontrolle ihrer Genaktivität eine wichtige Rolle. Die mögliche Bedeutung humaner endogener Retroviren für andere menschliche Erkrankungen und Zusammenhänge mit Infektionen durch exogene Virusinfektionen werden dargestellt.

## **4. Cell Transformation and Tumour Progression**

### **Integration of HPV-16-DNA into the host cell genome: Detection of a possibly novel tumour suppressor gene (Köchel)**

Integration of high-risk human papilloma viruses in so-called tumour suppressor genes may play an important role in cervical cancer development. In a cervical carcinoma and its metastases of a 25 year old patient, integrated forms of HPV-16 DNA have been identified and cloned. The integration site was found on chromosome 1 at locus p16,33. The affected gene consists of 17 exons, within a stretch of 26 k base pairs. The function of the putative gene product is presently unknown. However it shows, homologies to tubulin tyrosine ligases (TTLs) enzymes which modify tubulin that is centrally involved in cell division. Inspection of the gene sequence via the UCSC Genome Browser showed homologous genes within the genomes of mice and rats. It is thus possible to study the gene

functions in vivo and their possible role in cancer development. The cDNA was cloned and used for the expression of the gene product in heterologous systems.

#### **Protection against malignant melanoma by vaccination against smallpox and tuberculosis (Krone)**

The immune system protects against malignant melanoma when activated by appropriate microbial stimuli. Numerous researchers have tried but failed to prove such an effect of the vaccination with Bacille Calmette-Guérin (BCG). The risk of melanoma is associated inversely to frequently administered vaccinations with vaccinia virus or BCG. The influence of both vaccinations is not cumulative. Conflicting results obtained in earlier investigations on the association of BCG vaccination and protection against diverse malignancies is explained by ignoring the influence of vaccinia vaccination. Further analyses of concomitant effects of known risk factors of melanoma with the new risk factor "not being vaccinated" indicate that the vaccinations can neutralize the other risk factors. A prospective study demonstrated that vaccination with vaccinia and/or BCG in early childhood reduced the hazard to die after surgical therapy of melanoma during an eight year period to 50%. A hypothesis was developed on how the protective effects can be achieved. Human endogenous retroviruses and the immunologic control of their genetic activity seem to play important roles. The potential significance of endogenous human retroviruses and their immunologic control for other human diseases is outlined.

#### **Arbeitsgruppenleiter/innen | Group Leaders**

PD Dr. rer. nat. Heinrich G. Köchel

PD Dr. med. Dr. rer. nat. Bernd Krone

#### **Drittmittelförderung | Funding**

Krone

Deutsche Krebshilfe (Grant no. 70-1180-Kö 4, 70-2112-Kö 5, 70-2662-Kö 8), bis 2004

DFG (Grant no. Ge 637/3-2), bis 2004

#### **Kooperationen | Cooperations**

Prof. I.N. Botev, Department of Dermatology and Venerology, Alexander's University Hospital, Sofia, Bulgarien

Prof. O. Gefeller, PD Dr. A. Pfahlberg, Institut für Medizinische Informatik, Biometrie and Epidemiologie, Friedrich-Alexander Universität, Erlangen-Nürnberg

Dr. J.M. Grange, Centre for Infectious Diseases and International Health, University College London, London, UK

Prof. B.M. Henz, Abteilung Dermatologie und Allergologie, Charité Berlin, Universität Berlin

Prof. U.R. Kleeberg, Internal Oncology and Laboratory Medicine, Hamburg

Prof. K.F. Kölmel, Abteilung Dermatologie und Venerologie, Bereich Humanmedizin, Universität Göttingen

Prof. E.-M. Kokoschka, Abteilung Dermatologie, Universitätskrankenhaus, Wien, Österreich

Prof. D. Lambert, Department of Dermatology, University Hospital, Dijon, Frankreich

Prof. G. Mastrangelo, Department of Occupational Health, University of Padova, Padova, Italien

Prof. M. Niin, Department of Surgical Oncology, Estonian Cancer Centre, Tallinn, Estland

Prof. C.R. Rossi, Department of Oncologic and Surgical Sciences, University of Padova, Padova, Italien

Prof. C. Seebacher, Abteilung Dermatologie, Krankenhaus Friedrichstadt, Dresden

Prof. R. Shafir, Department of Plastic Surgery, Sackler Faculty of Medicine, Tel-Aviv, Israel

#### **Ausgewählte Publikationen | Selected Publications**

Grange JM, Krone B, Kölmel K (2005) Human endogenous retroviruses in health and disease. *J ROY SOC MED*, 98(3): 134.

Kölmel KF, Grange JM, Krone B, Mastrangelo G, Rossi CR, Henz BM, Seebacher C, Botev IN, Niin M, Lambert D, Shafir R, Kokoschka EM, Kleeberg UR, Gefeller O, Pfahlberg A (2005) Prior immunisation of patients with malignant melanoma with vaccinia or BCG is associated with better survival. An European Organization for Research and Treatment of Cancer cohort study on 542 patients. *EUR J CANCER*, 41(1): 118-25.

Krone B, Kölmel KF, Henz BM, Grange JM (2005) Protection against melanoma by vaccination with Bacille Calmette-Guerin (BCG) and/or vaccinia: an epidemiology-based hypothesis on the nature of a melanoma risk factor and its immunological control. *EUR J CANCER*, 41(1): 104-17.

Krone B, Kölmel KF, Grange JM, Mastrangelo G, Henz BM, Botev IN, Niin M, Seebacher C, Lambert D, Shafir R, Kokoschka EM, Kleeberg UR, Gefeller O, Pfahlberg A (2003) Impact of vaccinations and infectious diseases on the risk of melanoma-evaluation of an EORTC case-control study. *EUR J CANCER*, 39(16): 2372-8.

## **5. Diagnostik viraler Infektionen**

#### **Auswahl von Mimotopen als synthetische Antigene für die Virusdiagnostik (Hunsmann)**

Nach einer Infektion erlauben erregerspezifische Antikörper eine präzise Serodiagnostik. Auf der Oberfläche von z. B. viralen Proteinen erkennen Antikörper bis zu  $10^{14}$  unterschiedliche Ladungsstrukturen (Epitope). Chemische Strukturbibliotheken repräsentieren etwa die gleiche Zahl unterschiedlicher Moleküle wie das Antikörper Repertoire. Spezifische Antikörper von Patienten/Immunisten können aus den Strukturbibliotheken die Komponenten auswählen, die den Epitopen eines Erregers entsprechen. Ein definierter Satz solcher Mimotope entspricht dem Antigen Make-up eines Erregers und kann für die Serodiagnose verwendet werden. In Kooperation mit VariGnost Molecular Diagnostics GmbH werden erregerspezifische Mimotope charakterisiert.

#### **Entwicklung von Diagnostischen Verfahren zum Nachweis neuer viraler Infektionen (Hufert)**

In den letzten 30 Jahren hat die Anzahl neuer Virusinfektionen beim Menschen stark zugenommen. Ursächlich hierfür sind die hohe gesellschaftliche Mobilität und die zunehmende Globalisierung. Dies erhöht auch unser Risiko heute an seltenen und neuen Virusinfektionen zu erkranken. Wir haben deswegen begonnen mobil einsetzbare Mikrosystembasierte Diagnostiksysteme zu entwickeln.

Auf der Basis der Real-Time-PCR wurden so Schnellnachweissysteme für Bunyaviridae, Filoviridae und SARS-Coronavirus entwickelt.

Parallel hierzu entwickeln wir ein rekombinates Line-Assay-Verfahren für die Serologie. Kürzlich haben wir auch begonnen genetische Nachweissysteme für Flaviviridae zu entwickeln. Unsere feldfähigen Verfahren werden zurzeit in einer multizentrischen Feldstudie in Afrika evaluiert. Für die Durchführung unserer Arbeiten erhalten wir Förderungen von der Eu und dem BMVg.

#### **Automatische Nukleinsäuren-Isolation mit breiter Einsatzmöglichkeit (Heermann)**

Die Nukleinsäure-Isolation, bestehend aus einer unanfälligen „Hybrid Capture“-Chemie und der Zielmolekülisolation („target handling“) mit einem Hochenergie-Magnetstift (Neomi-

dym/Eisen/Bohr), wurde für breite Anwendungsgebiete auf einem Pipettierroboter etabliert. Erste Prototypen der für das patentierte Verfahren notwendigen Transferschutzhüllen aus Plastik wurden entwickelt und von der DIA-NIELSEN GmbH (52355 Düren) in einer Experimental-Spritzgussform produziert. Eine spezielle Abgabestation zur Kooperation mit dem Roboter wurde in der Wissenschaftlichen Werkstatt gefertigt. Zur Programmierung der Arbeitsschritte konnte die Pipettier-Software adaptiert werden.

In Kooperation mit Prof. T.J. Legler, Abteilung für Transfusionsmedizin, wurde die Magnetstift-Extraktion in einer Vergleichsstudie im Rahmen eines Europäischen Netzwerkes zur nichtinvasiven Pränataldiagnostik (Non-Invasive Prenatal Diagnosis (NIPD)) zum Nachweis von kindlichen Rhesusfaktoren (RhD) im Mütterlichen Blut eingesetzt. Zur Demonstration der Überlegenheit und breiten Einsetzbarkeit der Methode sollen in Zukunft weitere Nachweissysteme mit unterschiedlichen Anforderungen einheitlich bearbeitet werden.

## 5. Diagnostics of Viral Infections

### *Selection of mimotopes as synthetic antigens for viral diagnostics (Hunsmann)*

Specific antibodies recognise specific sites (epitopes) on e.g. viral polypeptides. The immune system can manufacture about  $10^{14}$  antibody variants. Structural libraries comprise an equivalent number of different chemical compounds. Antibodies can select from such library structures (mimotopes) binding to their variable region receptors. A mimotope combination representative for a given virus could be used for diagnostics. In cooperation with VariGnost Molecular Diagnostics GmbH such mimotopes will be identified.

### *Development of rapid diagnostic tools for the detection of emerging viruses (Hufert)*

In the last 30 years, an increase of new viral infections in humans occurred worldwide. Globalization and high population mobility are the driving forces and will therefore increase the risk to get exposed to rare viruses. In case of a suspected outbreak of an unknown viral disease, rapid diagnostic is therefore crucial. Consequently, microsystem-based mobile diagnostic device for rapid detection of emerging viruses is being developed. We have put real-time PCR assays into use to analyze clinical samples for the presence of Bunyaviridae, Filoviridae and SARS coronavirus. In addition, a recombinant line assay for antibody detection is currently developed. Recently, we have extended our work and started to develop RT-PCR assays for the detection of Flaviviridae. Our real-time PCR-based assays are currently evaluated in a multicentre field study at different centres in Africa and may help to improve the management of emerging infectious diseases in this region.

### *Automated Tip-extraction for all-round isolation of nucleic acids (Heermann)*

Our recently introduced tip-extraction technique to collect beads-tagged targets has been automated. The magnetic pin, preferentially permanent high-energy magnets (neodymium-

iron-boron, NdFeB), were built in series into the robotic arm of a XYZ-portal robot. The software designed for liquid handling was adapted for movement of the magnetic pins and for removal of the covering sheaths into a special rack (manufactured by scientific shop of BHG). The special plastic sheaths were produced in an experimental mould by DIA-NIELSEN GmbH (52355 Düren). For the parallel isolation of different templates from several sample materials, the tip extraction has to be employed to various applications.

### **Arbeitsgruppenleiter/innen | Group Leaders**

PD Dr. med. Klaus-Hinrich Heermann

Prof. Dr. med. Frank T. Hufert

Prof. Dr. med. Gerhard Hunsmann

### **Kooperationen | Cooperations**

Prof. Dr. Hans Joachim Fritz, Abteilung Molekulare Genetik, Universität Göttingen

Dipl. Ing. Birgit Bingemer, VariGnost Molecular Diagnostics GmbH, Kassel

Amadou A. Sall, Institut Pasteur de Dakar, Dakar, Senegal

Jean Claude Manuquerra, Institut Pasteur Paris, Paris, Frankreich

Lamine Koivogui, University of Conakry, Conakry, Guinea

Ali Mirazimi, Swedish Institute for Infectious Disease Control, Stockholm, Schweden

Prof. Dr. med. Tobias J. Legler, Abteilung für Transfusionsmedizin, Bereich Humanmedizin, Universität Göttingen

### **Drittmittelförderung | Funding**

SIXTH FRAMEWORK PROGRAMME, European Union (EU), Network of Excellence (NoE): Special Non-Invasive Advances in Foetal and Neonatal Evaluation Network, SAFE (Proposal/Contract no.: 503243), 2004-2009 (Heermann)

Fraunhofergesellschaft München, „Molekulare Charakterisierung hochpathogener Arbovirusstämme. Aufbau molekularer Virusnachweisverfahren und rekombinanter serologischer Nachweissysteme“ FKZ: FV M SAB1 4A008, 2005-2008 (Hufert)

Fraunhofergesellschaft München, „Quantitative Real time PCR Diagnostik von humanpathogenen Viren der Familie Bunyviridae“, 2001-2004 (Hufert)

### **Ausgewählte Publikationen | Selected Publications**

Weidmann M, Zanotto PM, Weber F, Spiegel M, Brodt HR, Hufert FT. (2004) High-efficiency detection of severe acute respiratory syndrome virus genetic material. J CLIN MICROBIOL; 42(6):2771-3.

Weidmann M, Muhlberger E, Hufert FT. (2004) Rapid detection protocol for filoviruses. J CLIN VIROL; 30(1):94-9.

Zeiser R, Grulich C, Bertz H, Pantazis G, Hufert FT, Bley TA, Finke J. (2004) Late cytomegalovirus polyradiculopathy following haploidentical CD34+ selected hematopoietic stem cell transplantation. BONE MARROW TRANSPLANT; 33(2):243-5.

Beck K, Meyer-König U, Weidmann M, Nern C, Hufert FT. (2003) Human cytomegalovirus impairs dendritic cell function: a novel mechanism of human cytomegalovirus immune escape. EUR J IMMUNOL; 33(6):1528-38.

Koehler M, Riggert J, Legler T, Mayr WR, Schwartz DW, Heermann KH (2003) Risk of transfusion-transmitted infections by NAT-negative blood. TRANSFUSION, 43(6): 830-1; author reply 830.

Liu Z, Gutensohn K, Hempel M, Heermann KH, Legler TJ. (2005) Development and evaluation of two new DNA extraction methods for the separation of foetal DNA from maternal plasma for prenatal diagnosis using RHD as a model. Transfus Med Hemother 2005;32(suppl 1):60, (Abstract (poster), 38 th Annual Congress of the German Society for Transfusion Medicine and Immunohaematology (DGTI), Sept 2005 Erfurt).

Liu Z, Gutensohn K, Hempel M, Heermann KH, Legler TJ. (2005) High-throughput Fetal DNA separation from Maternal Plasma by Hybridisation Capture and Magnetic particles. Clinical Chemistry 2005;51:028. (Abstract (oral), 4th International Conference on Circulating Nucleic Acids in Plasma and Serum (CNAPS IV), 09/05 in London. American Association for Clinical Chemistry (AACC)).

Maas JH, Binder E, Smart E, Heermann KH, Legler TJ. (2004) The prenatal determination of the fetal RHD  $\Psi$  status for decision making on the provision of Rh prophylaxis in South African Blacks, Whites and Asians is currently not cost-effective. Medizinische Genetik 2004;16:110. (Vortrag in Jena, XIV. Workshop on fetal cells and fetal DNA; European Union's (EU) 2001–2003 „Copernicus 2“ project and EU's Network of Excellence „SAFE“).

Koehler M, Riggert J, Legler T, Mayr W-R, Schwartz D-W, Heermann K-H (2003) Risk of transfusion-transmitted infections by NAT-negative blood. *Transfusion*. 2003 Jun; 43(6): 830-1; author reply 830 [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list\\_uids=12757539&dopt=Abstract](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=12757539&dopt=Abstract)

## Anhang | Appendix

### Habilitationen

Krone B, Die Hantavirusinfektion in Nordwestdeutschland 1986 - 2002. Habilitation Universität Göttingen 2004

### Medizinische Dissertationen (Dr. med.; Dr. med. dent.)

#### Doctorate Theses (Dr. med.; Dr. med. dent.)

Curd S, Dr. med., Untersuchung zur transmembranen Topologie des kleinen Hepatitis-B-Virus-Hüllproteins. Dissertation Universität Göttingen 2005.

Focke N, Dr. med., Expression der L1-Nukleokapsidproteine von HPV-16 und -31 als GST-Fusionsproteine in E.coli: Chromatografische Reinigung und vergleichende Serologie mit L1-VLPs aus Insektenzellen. Dissertation Universität Göttingen 2005.

Hartmann T, Dr. med., Untersuchungen zur Topologie des kleinen Hüllproteins des Hepatitis-B-Virus. Dissertation Universität Göttingen 2005.

Küllmer M, Dr. med., Expression fremder Rezeptorliganden auf der Oberfläche von Hepatitis-B-Viruspartikeln. Dissertation Universität Göttingen 2005.

Luttmann B, Dr. med., Nachweis und Charakterisierung von HBV-DNA in drei seronegativen Blutspendekollektiven. Dissertation Universität Göttingen 2005.

Trinh T, Dr. med., Einfluß des Reverse-Transkriptase-Hemmers Lamivudin auf die Hepatitis-B-Virionmorphogenese. Dissertation Universität Göttingen 2004.

Kneser J, Dr. med., Konstruktion humaner Hepatitis-B-Viren mit dem putativen Virusrezeptorliganden (PräS1-Domäne) des Woodchuck-Hepatitis-Virus. Dissertation Universität Göttingen 2003.

### Diplom- und Masterarbeiten | Diploma and Master Theses

Kluge B, Dipl.-Biol., Bestimmung des minimalen Abstands zwischen Matrix- und Transmembrandomäne des großen Hepatitis B Virus Hüllproteins. Diplomarbeit Universität Göttingen 2004

### Mitgliedschaften und Mitarbeit in wissenschaftlichen Gremien und Kommissionen | Memberships and Activities in Scientific Boards and Committees

#### Prof. Dr. med. Gerhard Hunsmann

Mitbegründer und Gesellschafter der Firma VariGnost Molecular Diagnostics GmbH

Adjunct Professur der Division of Molecular and Life Science an der Pohang University of Science and Technology (POSTECH), Pohang, Korea

Mitbegründer und Vorsitzender des Vorstands der Gesellschaft für AIDS-Forschung

Mitglied des Wissenschaftlichen Beirats des Nationalen Zentrums für Retroviren (NZR), Zürich, Schweiz

Koordinator der EU Konzertierte Aktion „European Network for Vaccine Evaluation in Primates: Combined Vector Immunisation for AIDS Vaccine Development (EN-VEP)“ (02/2000-07/2003)

Koordinator der EU Konzertierte Aktion „BSE Transmission Through Food and Blood Products: A Study in Primates to Assess the Risk for Humans“ (seit 11/2002)

Koordinator des INTAS-Projektes „Genome-wide search for human-specific retrotransposon integrations and their insertion polymorphisms in human populations“. INTAS Ref.: 011-0759 (07/2002-06/2005)

### Universitäre Gremien | University Boards

Dr. rer. nat. Angela Uy

Mitglied im Senat der Universität Göttingen

Mitglied im Fakultätsrat der medizinischen Fakultät Göttingen

Mitglied in der Ombudsgruppe der Medizinischen Fakultät Göttingen

### Fachgutachtertätigkeit | Function as Expert Consultant

Prof. Dr. med. Gerhard Hunsmann

Tierpark Aachen (Stellungnahme zum Gefährdungspotential durch Herpes B infizierte Berberaffen; gemeinsam mit Prof. Kaup)

Pohang University for Science and Technology (Antrag auf die Stelle eines Assistant Professors)

Alexander-von-Humboldt-Stiftung (Antrag Forschungsstipendium)

Medical Research Council, London, UK (2 Forschungsanträge)

Kuwait University (Forschungsantrag)

FU Berlin (Habilitationsschrift)

LMU München (Habilitationsschrift)

EU: FP6-2005-FOOD-4-B

National Institutes of Health: Peer reviewer of proposals received in response to the Simian Vaccine Evaluation Units

Abstracts zum Deutsch-Österreichischen AIDS-Kongress, sowie für folgende Zeitschriften: *Genetica*, *FEBS Letters*, *Bundesgesundheitsblatt des Robert-Koch-Instituts*, *Microbes and Infection*, *Archives of Virology*, *Medical Microbiology and Immunology*, *Vaccine*

### Internationale wissenschaftliche Kooperationen

#### International Scientific Cooperations

Prof. I.N. Botev, Department of Dermatology and Venerology, Alexander's University Hospital, Sofia, Bulgarien

William Britt, University of Alabama at Birmingham, USA

Jang Yanqing Ding, Department of Basic Medical Science, The first Military Medical University, Guangzhou, China

Dr. J.M. Grange, Centre for Infectious Diseases and International Health, University College London, London, UK

Lamine Koivogui, University of Conakry, Conakry, Guinea

Prof. D. Lambert, Department of Dermatology, University Hospital, Dijon, France

Jean Claude Manuguerra, Institut Pasteur Paris, Paris, Frankreich

Prof. G. Mastrangelo, Department of Occupational Health, University of Padova, Padova, Italien

Ali Mirazimi, Swedish Institute for Infectious Disease Control, Stockholm, Schweden

Prof. M. Niin, Department of Surgical Oncology, Estonian Cancer Centre, Tallinn, Estland

Prof. C.R. Rossi, Department of Oncologic and Surgical Sciences, University of Padova, Padova, Italien

Amadou A. Sall, Institut Pasteur de Dakar, Dakar, Senegal

Prof. R. Shafir, Department of Plastic Surgery, Sackler Faculty of Medicine, Tel-Aviv, Israel

Goff Shellam, University of Western Australia, Perth, Australien

J. G. Patrick Sissons, University of Cambridge, Cambridge, UK

ohn Taylor, Fox Chase Cancer Institute, Philadelphia, USA

### Firmenkooperationen | Industrial Cooperations

VariGnost Molecular Diagnostics GmbH, Kassel