

## Zusammenfassung

Wechselwirkungen zwischen Retroviren und ihren Wirtszellen werden intensiv erforscht, da die Infektion mit Retroviren Krankheiten des Immunsystems und Krebs in verschiedenen Spezies verursachen kann. Das Verständnis der Mechanismen zwischen den viralen Hüllproteinen (Env) mit bestimmten Zelloberflächenproteinen, den Rezeptoren, ist besonders interessant, da über den Rezeptor die Infektion von Zellen und die Verbreitung der Viren erfolgt. Nur Zellen auf deren Oberfläche der richtige Rezeptor vorhanden ist, können mit bestimmten Viren infiziert werden. Sie definieren somit den Zelltropismus und das Wirtsspektrum eines Virus.

Die Bindung von Env an den passenden Rezeptor stellt den ersten entscheidenden Schritt der Infektion dar. Durch diese Bindung wird eine Änderung der Konformation des Hüllproteins hervorgerufen, was anschließend zur Fusion der viralen und zellulären Membran führt. Mutationen innerhalb der viralen *env* Gene, die zu einer veränderten Rezeptorerkennung führen, sind wichtige Faktoren für die Evolution endogener Viren, spezies-übergreifender Infektionen und Pathogenese. Besonders wichtig sind in diesem Zusammenhang Studien für das Immundefizienzvirus der Menschen (HIV). Zudem konnten wichtige Ergebnisse anhand der Wechselwirkungen zwischen viralen Hüllproteinen und ihren Rezeptoren anderer Retroviren gewonnen werden.

Das Maus-Leukämievirus M813 wurde aus *Mus cervicolor* isoliert und gehört zu den Gammaretroviren. Das Wirtsspektrum von M813 ist stark eingeschränkt, da nur Mauszellen aus *Mus musculus* infiziert werden können, Rattenzellen sind nur schlecht und Humanzellen nicht mit M813 infizierbar. Weiterhin kann M813 die Bildung vielkerniger Riesenzellen (Synzytien) bewirken. Diese Eigenschaft von M813 wurde zuerst im Rahmen dieser Arbeit beobachtet und konnte zwischenzeitlich auch *in vivo* belegt werden.

In der vorliegenden Arbeit wurden unterschiedliche Versuche durchgeführt, um den molekularen Hintergrund des extrem eingeschränkten Wirtsspektrums und das hohe Fusionspotenzial von M813 näher zu untersuchen.

Zuerst wurden Interferenzversuche durchgeführt. Zellen, die bereits retroviral infiziert sind, können nicht mit Viren infiziert werden, die den gleichen Rezeptor benutzen (sog. Interferenz). Im Gegensatz dazu ist die Infektion mit Viren, die einen

anderen Rezeptor verwenden, möglich. Mausfibroblasten, die unterschiedliche Maus-Leukämieviren (MuLV) freisetzen, wurden mit M813 infiziert. Es zeigte sich, dass die Infektion mit M813 nicht von anderen MuLV blockiert wird, d.h. es bestand keine Interferenz mit anderen MuLV. Die Ergebnisse zeigten, dass M813 einen eigenen, bisher unbekanntem Rezeptor für die Infektion verwenden kann, der nicht von anderen MuLV benutzt wird.

Da wir während der Versuche beobachten konnten, dass M813 die Bildung von Synzytien induzieren kann, sollte zudem untersucht werden, inwiefern die Fähigkeit zur Fusionsbildung durch M813 hervorgerufen wird und ob weitere virale Komponenten anderer MuLV für die Fusion der Zellen benötigt werden. Hierfür wurden unterschiedliche Zellen zum einen mit verschiedenen MuLV, zum anderen mit M813 infiziert und anschließend auf die Bildung von Synzytien hin untersucht. Es zeigte sich, dass M813 zusammen mit anderen viralen MuLV-Komponenten für die Synzytienbildung verantwortlich ist.

Anschließend sollte der Rezeptor für M813 kloniert werden. Hierfür wurden zwei unterschiedliche Methoden eingesetzt. Mit der zuerst angewandten Expressionsklonierung war es nicht möglich, den Rezeptor zu charakterisieren. Daher wurde nachfolgend eine Hamster-Maus Hybridzell-Linie verwendet. Mit dieser Zell-Linie konnte das Rezeptorgen auf dem distalen Ende von Chromosom 16 lokalisiert werden. Anhand der Auswertung der in diesem Chromosomenabschnitt vorhandenen Gene mit einer Datenbank konnte ein interessantes Gen (*Slc5a3*) als geeigneter Kandidat für den M813-Rezeptor ermittelt werden. Expression der *Slc5a3* cDNA in Humanzellen bewirkte, dass diese Zellen für die Infektion mit M813 empfänglich wurden. Bei dem Rezeptor handelt es sich um einen natriumabhängigen Myo-Inositol Transporter (Sodium-Myo-Inositol Transporter 1:SMIT1). SMIT 1 weist große Gemeinsamkeiten mit anderen Rezeptoren auf, die von verschiedenen Gammaretroviren verwendet werden. Die Charakterisierung von weiteren SMIT1 Orthologen in verschiedenen Spezies zeigte, dass sich einige der vorhandenen Aminosäureunterschiede in wichtigen extrazellulären Bereichen befinden. Diese Veränderungen sind wahrscheinlich dafür verantwortlich, dass M813 den Rezeptor in anderen Spezies nicht verwenden kann.