

5. Zusammenfassung

Die in dieser Arbeit durchgeführten Experimente sollten die für den Membrantransport eines retroviralen Gag-Proteins minimal benötigte N-terminale Region in HIV-MA kartieren helfen. Es sollte weiterhin HIV-MA funktionell durch FKBP-Domänen ersetzt werden. Die gleichzeitige Expression eines FKBP-Fusionsprotein mit Membrantransportsignal und FKBP-HIV-Fusionsproteinen sollte nach Zugabe eines Dimerizers im Transport der viralen Proteine an die Plasmamembran resultieren. Dadurch sollten Erkenntnisse über den Ablauf der viralen Morphogenese gesammelt werden.

Zur Identifizierung der für einen Membrantransport minimal benötigten Sequenz in HIV-MA wurde das Membrantransportsignal des endogenen Retrovirus mIAP durch verschieden lange Anteile des N-terminalen HIV-MA ersetzt. Western Blot Analysen zeigten, daß es bei allen Konstrukten zu einer Freisetzung und Reifung viraler Partikel gekommen war. Die indirekte Immunfluoreszenz machte allerdings deutlich, daß die chimären Proteine vorrangig an zelluläre Membranen transportiert worden waren. Diese Experimente zeigen, daß im Rahmen chimärer HIV-IAP-Gag-Proteine N-terminale Bereiche von HIV-MA zur Freisetzung und Reifung des endogenen Retrovirus führen können. Zur Analyse der retroviralen Morphogenese durch Dimerisierung wurden zunächst die Bedingungen für den Ablauf der Dimerisierung mit Hilfe des GFP-Proteins festgelegt. Im Rahmen des Transports von HIV-Gag an die Plasmamembran konnte nach „Dimerizer“-Inkubation im Western Blot eine Zunahme der Freisetzung und Prozessierung viraler Gag-Polyproteine registriert werden. In der indirekten Immunfluoreszenz war eine deutliche Umverteilung von überwiegend zytoplasmatisch zu perinukleär zu beobachten. Elektronenmikroskopische Analysen zeigten, daß es zur Bildung unreifer Partikel viralen Ursprungs gekommen war. Es fanden sich aber auch große heterogene vesikuläre Membranveränderungen mit hohen Konzentrationen an Src-FKBP(2), wodurch es nicht möglich war den genauen Zeitpunkt der Aktivierung der viralen Protease zu bestimmen. Die multiplen Membranveränderungen und die hohe Konzentration der Src-FKBP(2)-Proteine an der Plasmamembran, bildeten die Grundlage für weitere Experimente und neue Erkenntnisse: Die durch Zugabe des Dimerizers hervorgerufenen Interaktionen zwischen den membranständigen Src-FKBP-Proteinen sind offensichtlich in der Lage „Budding“-Strukturen aus vollständig nichtviralen Bestandteilen zu induzieren, was eine mögliche Grundlage für die Bildung von „Designerviren“ aus vollständig nichtviralen Bestandteilen sein könnte.