

## Zusammenfassung

Es wird angenommen, daß das hLa-Protein an die Hepatitis-B-Virus RNA (HBV-RNA) bindet und sie stabilisiert. Weiterhin liegen Daten vor, die zeigen, daß das La-Protein nicht allein an die virale RNA bindet, sondern mit weiteren Faktoren ein Ribonukleoproteinkomplex (RNP) bildet. Im Zentrum der vorliegenden Arbeit stand daher die Suche nach einem Interaktionspartners des hLa- Proteins. Die Identifizierung eines Interaktionspartners sollte zu einem tieferen Verständnis der Interaktion zwischen zellulären Proteinen und der viralen RNA führen, Ansatzpunkte zur Entwicklung antiviraler Strategien liefern und das Verständnis der Funktionen des La-Proteins erweitern. Eine Charakterisierung der Funktionen des Interaktionspartners sollte weiterhin Einblicke in den Einfluß zellulärer Faktoren auf den viralen Lebenszyklus gewähren.

In der vorliegenden Arbeit konnte der PTB assoziierter Spleißfaktor PSF erfolgreich als ein neuer Interaktionspartner des hLa-Proteins identifiziert werden. Durch Affinitätschromatographie, Koimmunpräzipitation und im Säugetierzellen-2-Hybrid System konnte bestätigt werden, daß diese Interaktion tatsächlich in lebenden Zellen stattfindet. Die Studien zur Kolo-kalisierung führten zu dem Befund, daß lediglich das phosphorylierte hLa mit dem PSF-Protein assoziiert ist.

Unter Verwendung verschiedener GFP-hLa-Fusionsproteine, die sich durch eingefügte Deletionen in ihrer Lokalisierung vom GFP-hLa der vollen Länge unterschieden, konnten durch Koimmunpräzipitationsexperimente Hinweise dafür erbracht werden, daß die Interaktion der beiden Proteine im Nukleoplasma stattfindet. Diese Ergebnisse wurden im Säugetierzellen-2-Hybrid System unter Verwendung verschiedener mutierter Gal4-hLa-Fusionsproteine bestätigt.

Funktionelle Analysen bezüglich der Bindung an HBV-RNA zeigten, daß rekombinantes PSF spezifisch an eine Teilsequenz der viralen RNA bindet. Diese Region (HBV-RNA.B, nt 1243-1333) umfaßt die La-Bindungsstelle, endoribonukleolytische Spaltstellen und die  $\alpha$ -Domäne des posttranskriptionell regulatorischen Elementes (PRE), welche wichtig für die posttranskriptionelle Kontrolle der viralen Genexpression ist. In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, daß das rekombinante hLa-Protein und rekombinantes PSF um die Bindung an die virale RNA.B konkurrieren. Diese Experimente zeigen, daß mit PSF ein neuer zellulärer Faktor identifiziert wurde, der, außer den Proteinen La und PTB, ebenfalls an das PRE der HBV-RNA bindet.

Erste Studien mit der Fragestellung, ob PSF auch in lebenden Zellen in den viralen Lebenszyklus eingreift, führten zu der interessanten Beobachtung, daß die Überexpression von PSF zu einer Verstärkung des Spleißens der viralen prägenomischen RNA führt. Hierbei spielt das PRE, an

dessen  $\alpha$ -Domäne das PSF-Protein vermutlich bindet, eine entscheidende Rolle beim Spleißen. Des weiteren konnte gezeigt werden, daß die Überexpression von PSF zu einer erhöhten HBsAg-Expression führt. Somit konnte ein neuer Wirtsfaktor, das PSF-Protein, identifiziert werden, der im Lebenszyklus des Hepatitis B Virus eine entscheidende Rolle spielt. Interessanterweise interagiert PSF mit dem hLa-Protein, welches ebenfalls von großer Bedeutung für den Lebenszyklus des HBV ist.

Zusammenfassend tragen die vorliegenden Daten wesentlich zum erweiterten Verständnis der Wirts-Virus-Interaktionen bei und bilden eine potentielle Basis für die Entwicklung einer neuen antivirale Strategie, die durch Modulation von zellulären RNA-Bindungsproteinen zur Degradation der hepadnaviralen RNA und damit der Viruseliminierung führen könnte.

In Abb. 1 ist das mögliche Zusammenspiel von hLa und PSF als Modell dargestellt: PSF und hLa interagieren miteinander im Nukleoplasma. Trifft eine HBV-RNA auf diesen Komplex, wird die Interaktion aufgelöst, da beide Proteine um die Bindung an die RNA konkurrieren. Die RNA kann nun einerseits durch das hLa-Protein stabilisiert werden oder andererseits durch PSF gespleißt werden. Beide Proteine beeinflussen so den viralen Lebenszyklus.

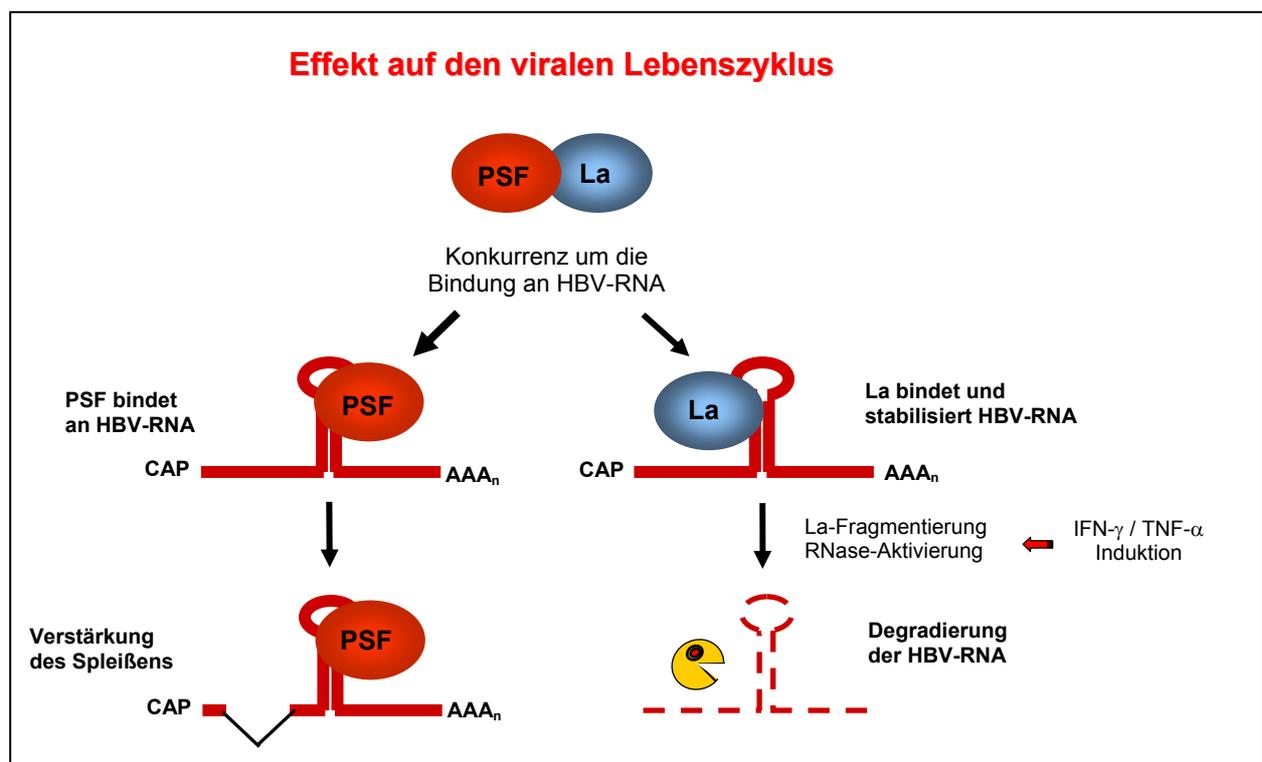


Abb. 1: Modell des Zusammenspiels der Proteine La und PSF im Kontext einer HBV Infektion