

27. Allgemeine Eigenschaften von Viren

Viren sind die kleinsten infektiösen Einheiten (20—300 nm im Durchmesser), sie enthalten ein Nucleinsäure-Molekül (RNS oder DNS) als Genom. Die Nucleinsäure ist von einer Proteinhülle umgeben, die gesamte infektiöse Einheit wird als Virion bezeichnet. Viren können sich nur in lebenden Zellen vermehren. Die Virus-Nucleinsäure enthält die nötigen Informationen, um in der infizierten Wirtszelle die Synthese zahlreicher Makromoleküle zu veranlassen; gegen Ende des Vermehrungszyclus werden steigende Mengen von Virus-Nucleinsäure und -Hüllprotein gebildet. Bei der Zusammenlagerung der Hüllproteine bildet sich das Capsid, das die Nucleinsäure umgibt und sie gegen extracelluläre Einflüsse stabilisiert. Mit Hilfe des Hüllproteins erfolgt die Anheftung und vielleicht auch die Penetration des Virus nach dem Kontakt mit einer empfänglichen Zelle.

Die aus dem Virion isolierte Nucleinsäure kann durch die entsprechende Desoxy- oder Ribonuclease hydrolysiert werden, während die Nucleinsäure im intakten Virus durch eine derartige Nuclease-Behandlung nicht zerstört wird. Im Gegensatz hierzu neutralisiert das korrespondierende Antiserum das Virion, da es mit den Antigenen des Hüllproteins reagiert; das gleiche Antiserum ist ohne jeden Einfluß auf die infektiöse Nucleinsäure, die aus dem infektiösen Virus isoliert wurde.

Viren verursachen eine andere Gewebsreaktion nicht nur in den parenchymatösen Organen als die pathogenen Bakterien, sondern auch in der Art der cellulären Infiltration. Während die celluläre Reaktion bei einer akuten Entzündung mit pyogenen Bakterien durch das Vorherrschen polymorphkerniger Leukocyten gekennzeichnet ist, beobachtet man bei unkomplizierten Virus-bedingten Läsionen vor allem mononucleäre Zellen und Lymphocyten.

Wesentliche Kenntnisse über die Virus-Wirtszellbeziehungen konnten durch Untersuchungen von Bakteriophagen gewonnen werden; diese Viren infizieren Bakterien. Einzelheiten hierüber werden in Kapitel 9 dargestellt, Besonderheiten einiger Viren finden sich in den Kapiteln 30—39.

Folgende Begriffe sind in der Virologie gebräuchlich:

Capsid: Die symmetrische Proteinhülle, die das Virusgenom (Nucleinsäure) umschließt. Leere Capside sind ein häufiges Nebenprodukt des Vermehrungszyclus.

Nucleocapsid: Das Capsid zusammen mit der umschlossenen Nucleinsäure.

Struktureinheit: Der grundlegende Baustein des Capsids; Struktureinheiten können einzelne Polypeptide sein.

Capsomer: Elektronenmikroskopisch nachweisbare morphologische Einheit auf der Oberfläche isometrischer Viruspartikel (z. B. bei Viren mit kubischer Symmetrie); sie sind Ansammlungen von Struktureinheiten und bilden zusammen das Capsid.

Virion: Das komplette infektiöse Viruspartikel, das in einigen Fällen (Adenoviren, Papovaviren, Picornaviren) mit dem Nucleocapsid identisch sein kann. Bei komplexer gebauten Virionen (Herpesviren, Myxoviren) wird das Virion aus dem Nucleocapsid und einer umgebenden Hülle gebildet.

Pseudovirion: Während des Vermehrungszyclus umschließt das Capsid gelegentlich Nucleinsäure der Wirtszelle und keine Virus-Nucleinsäure. Derartige Viruspartikel gleichen bei elektronenmikroskopischer Untersuchung den üblichen Viruspartikeln; sie können sich jedoch nicht vermehren. Ein Pseudovirion enthält — mit anderen Worten — die „falsche“ Nucleinsäure.

Primärstruktur der Nucleinsäure: Hiermit wird die Basensequenz der Nucleinsäurekette bezeichnet.

Sekundärstruktur: Dieser Ausdruck bezeichnet die räumliche Anordnung der kompletten Nucleinsäurekette, d.h. Anordnung als Einzel- oder Doppelstrang, zirkulär oder linear in der Konformation, verzweigte oder nicht verzweigte Anordnung.

Tertiärstruktur: Hiermit werden andere Formen der detaillierten räumlichen Anordnung in der Helix bezeichnet, z.B. das Auftreten gedrehter Formen („supercoiling“), das Auftreten von Unterbrechungen, Deletionen, Lücken, Kettenbildungen und von Abschnitten separierter Stränge.

Transkription: Der Mechanismus, durch den die im Nucleinsäurestrang kodierte Information auf die messenger-RNS übertragen wird.

Translation: Der Mechanismus, durch den eine bestimmte Basensequenz in der Nucleinsäure zu einer spezifischen Aminosäuresequenz in einem Protein führt.

Einteilung

Grundlagen einer Einteilung der Viren

Als Grundlage für eine Klassifizierung von Viren sind folgende Eigenschaften, die in der Reihenfolge ihrer Verwendbarkeit oder ihrer Bedeutung aufgeführt sind, verwendet worden. Die Kenntnisse über die jeweiligen Eigenschaften der einzelnen Virusarten sind jedoch sehr uneinheitlich, bei einigen Erregern kennt man nur wenige der aufgeführten Eigenschaften.

1. Nucleinsäure: RNS oder DNS, Einzel- oder Doppelstrang.
2. Größe und Morphologie, einschließlich Symmetrieform, Anzahl der Capsomeren und Nachweis einer Membran.
3. Empfänglichkeit gegenüber physikalischen und chemischen Einflüssen, vor allem gegen Äther.
4. Immunologische Eigenschaften.
5. Natürliche Übertragungsart.
6. Wirts-, Gewebs- und Zelltropismus.

7. Pathologie einschließlich der Bildung von Einschlußkörpern.

8. Symptomatik der Erkrankung.

Einteilung nach der klinischen Symptomatik

Die älteste Klassifizierung der Viren basiert auf der menschlichen Erkrankung, die durch die jeweiligen Viren hervorgerufen wird. Für den Kliniker bietet diese Taxonomie sicher einige Vorzüge, dagegen ist sie für den Biologen nicht ausreichend, da das gleiche Virus — je nach dem vorwiegend befallenen Organ — mehr als ein Krankheitsbild hervorgerufen kann und deshalb in verschiedenen Gruppen erscheint.

A. Allgemeinerkrankungen: Bei diesen Erkrankungen breitet sich das Virus auf dem Blutwege im ganzen Organismus aus und befällt nicht nur ein einzelnes Organ; außerdem können Exantheme auftreten. Zu dieser Gruppe gehören Pocken, Vaccinia, Masern, Röteln, Windpocken, Gelbfieber, Dengue, Colorado-Zeckenfieber, West Nile-Fieber, Pappataciefieber, Pleurodynie und Exanthema subitum; ferner Exantheme als Folge von Enterovirusinfektionen, vor allem durch die Echoviren 4, 9, 16 und 18 und die Coxsackieviren A9, A19, B1 und B3.

B. Erkrankungen, die bevorzugt bestimmte Organe befallen: Das Virus kann das betreffende Organ entweder auf dem Weg über die Blutbahn, über die peripheren Nerven oder auf anderen Wegen erreichen.

1. Erkrankungen des Nervensystems: Poliomyelitis, Meningitis hervorgerufen durch Enteroviren (Polio-, Coxsackie-, Echoviren), Rabies, Encephalitis lethargica, durch Arthropoden übertragene Encephalitiden, lymphocytäre Choriomeningitis, Herpes B; ferner Meningoencephalitiden nach Mumps, Masern, Vaccinia und anderen Erkrankungen; subakute sklerosierende Panencephalitis (SSPE), Kuru.

2. Erkrankungen des Respirationstraktes: Influenza, Bronchopneumonie von Kindern (RS-Virus, Parainfluenzaviren), Bronchiolitis (RS-Virus, Parainfluenzaviren), Laryngotracheobronchitis (Parainfluenzaviren), fie-

berhafte Pharyngo-Conjunctivitis (Adenoviren), Schnupfen (hervorgerufen durch eine Vielzahl verschiedener Viren, z.B. Parainfluenzaviren, Rhinoviren), vielleicht auch primär atypische Pneumonie.

3. Lokalisierte Erkrankungen der Haut oder der Schleimhäute: Herpes simplex, Herpes progenitalis, Molluscum contagiosum, Warzen, Herpangina und Herpes zoster.

4. Erkrankungen des Auges: Adenovirus-Conjunctivitis und Newcastle-Virus-Conjunctivitis, Herpes simplex-Keratoconjunctivitis.

5. Erkrankungen der Leber: Hepatitis Typ A (infektiöse Hepatitis), Hepatitis Typ B (Serumhepatitis).

6. Erkrankung der Speicheldrüsen: Mumps und Speicheldrüsenviruserkrankung (Cytomegalie).

Einteilung nach biologischen, chemischen und physikalischen Eigenschaften (siehe Tabelle 27-1)

Viren können nach Art und Struktur des Virusnucleinsäure-Genoms sowie nach Größe, Gestalt und Substruktur und dem Vermehrungsmechanismus des Virus in Gruppen unterteilt werden. Innerhalb jeder Gruppe werden Untergruppen im allgemeinen aufgrund der Antigenstruktur gebildet. Die Eigenschaften der wesentlichen Gruppen tierpathogener Viren sind in Tabelle 27-1 zusammengestellt.

Bei den Bemühungen um eine Klassifizierung und eine Nomenklatur der Viren stellt der erste Bericht des International Committee on Nomenclature of Viruses (ICNV) im Jahr 1971 einen wesentlichen Fortschritt dar. In diesem Bericht werden sowohl die Viren des Menschen behandelt als auch Viren der Tiere, Insekten, Pflanzen und Bakterien; er enthält eine Zusammenstellung der Eigenschaften von insgesamt 43 Gruppen von Viren, über die genügend Daten vorliegen, um eine — zumindest vorläufige Einteilung — zu erlauben. Ferner sind in diesem Bericht die von der Kommission getroffenen Entscheidungen über die Klassifizierung der Viren und die Nomenklatur enthalten. Soweit durch die

Entscheidungen Viren der Wirbeltiere betroffen sind, können die Charakteristika aus Tabelle 27-2 entnommen werden; hierzu gehören der offizielle Name der Gruppe, die Untergruppen (bezeichnet als Prototyp-Genera oder Prototyp-Species) und das Kryptogramm* jeder Gruppe. Zwei Virusgruppen, die in der Tabelle aufgeführt sind — Papovaviridae und Picornaviridae — werden offiziell als Virusfamilien bezeichnet. Die Untergruppen dieser Familien wurden als Genera angesehen, ein Prototyp-Genus wurde für jede Familie und eine Prototyp-Species für jedes Genus ausgesucht. Bei den anderen in der Tabelle aufgeführten Gruppen wurde der jeweiligen Gruppe der Status eines Genus zuerkannt, wofür jeweils eine Prototyp-Species benannt wurde. Für die Prototyp-Species wurden sowohl Bezeichnungen aus der Umgangssprache als auch latinisierte Bezeichnungen aufgeführt. In den meisten Fällen erfolgt die Bezeichnung der Species durch den ersten Buchstaben der lateinischen Bezeichnung des Wirts (a = avis, b = bos, h = homo, m = mus, o = ovis, r = rattus, s = suis, s = sylvilagus usw.). In den letzten drei Spalten der Tabelle 27-2 sind die zur Zeit gültigen Kryptogramme aufgeführt, wie sie von der ICNV aufgestellt wurden; sie sind ein aus Symbolen gebildeter Code, der eine kurze und einheitliche Zusammenfassung aller wesentlichen Eigenschaften eines Virus enthält. Ein kurzgefaßter Schlüssel für diese Symbole ist in der Fußnote der Tabelle aufgeführt. Es werden vier Paare von Symbolen verwendet, jedes Paar kennzeichnet zwei Eigenschaften: Nucleinsäuretyp und -strangform; Molekulargewicht der Nucleinsäure und Nucleinsäuregehalt im Partikel in Prozent; Gestalt des Partikels und des Nucleocapsids; Wirt und Vektor. So lautet das vollständige Kryptogramm des Genus Parvovirus wie folgt:

D/1 : 1.2 — 1.8/35 : S/S : V/O

Aus diesem Kryptogramm geht hervor, daß als Nucleinsäure DNS vorhanden ist, die als Einzelstrang vorliegt; diese Nucleinsäure hat

* Kryptogramm siehe S. 424.

Tabelle 27-1 Einteilung der Viren nach ihren physikalischen und chemischen Eigenschaften

Nucleinsäure-Innenkörper	Capsid-Symmetrie	Virion: Hüllmembran	Ätherempfindlichkeit	Anzahl Capsomere	Größe des Viruspartikels (nm) ^a	Mol.-Gewicht der Nucleinsäure im Virion (x 10 ⁶)	Anzahl Gene (etwa)	Virusgruppe
DNS	Icosaeder	fehlt	resistent	32 72 252	18-22 45-53 70-90	1,4 3-5 23	7 10 50	Parvovirus Papovavirus Adenovirus
		vorhanden	empfindlich	162	100 ^b	54-92	180	Herpesvirus
RNS	komplex	komplexe Umhüllung	resistent		230 x 300	160	400	Poxvirus
		fehlt	resistent	32 32 92	20-30 60-80 75-80	2-2,8 15 15	12 40 40	Picornavirus Orbivirus ^e Reovirus ^e
	vorhanden	empfindlich	32 ^c	35-40	3	15	Togavirus ^c	
	vorhanden	empfindlich		50-150 ^d 70-120 ~100	? ?		Arenavirus ^d Coronavirus ^f Oncornavirus ^g	
	Helix	empfindlich		90-120 150-300 70 x 175	2-4 4-8 3-4	15 30 20	Orthomyxovirus Paramyxovirus Rhabdovirus	

- a Durchmesser oder Durchmesser x Länge
- b Das Virus ohne Hüllmembran, d. h. das Nucleocapsid, hat einen Durchmesser von 100 nm; das mit einer Hüllmembran versehene Virion variiert in seiner Größe zwischen 100 und 150 nm.
- c In der Togavirusgruppe sind Arboviren der serologischen Gruppen A und B, Rötelnvirus und das Lactatdehydrogenase-Virus (LDH-Virus) der Maus zusammengenommen. Man hat vorgeschlagen, die Togaviren als große Familie (Togaviridae) anzusehen, die zumindest aus 2 Untergruppen besteht, die vom ICNV als Genus Alphavirus (Gruppe A der Arboviren) und als Genus Flavivirus (Gruppe B der Arboviren) bezeichnet werden. Obwohl die Capsidarchitektur der meisten Viren dieser Gruppe unbekannt ist, deuten Untersuchungen bei verschiedenen Viren dieser Gruppe auf das Vorliegen einer kubischen Symmetrie hin (32 Capsomere, Durchmesser des Nucleocapsids 35-40 nm).
- d Die Bezeichnung Arenaviren wurde für eine Gruppe von Viren geschaffen, in der die Arboviren des Tacaribe-Komplexes, das Lassa-Virus und das Virus der lymphocytären Choriomeningitis (LCM-Virus) zusammengefaßt sind.
- e Die Gruppen Reovirus und Orbivirus unterscheiden sich zwar deutlich voneinander, sie besitzen jedoch wesentliche Gemeinsamkeiten (Doppelstrang-RNS in mehreren Segmenten, kubische Symmetrie, Fehlen einer Hülle, relative Resistenz gegen Lipidlösungsmittel, Reifung im Cytoplasma der Wirtszelle), die zu der Überlegung führten, daß es sich um Untergruppen einer höheren taxonomischen Einheit, wahrscheinlich einer Virusfamilie (Diplornaviridae), handelt.
- f Zu den Viren der Coronavirusgruppe gehören neu entdeckte Viren des menschlichen Respirationstraktes („IBV-ähnliche Viren“), das Virus der infektiösen Bronchitis des Huhnes (IBV), das Mäusehepatitisvirus, das pneumotrope Virus der Ratte und – wahrscheinlich – das Virus der übertragbaren Gastroenteritis des Schweines.
- g Zu den Oncornaviren (Leukoviren) gehören die Leukämie- und Sarkomviren von Maus, Katze und Huhn. Diese Viren erinnern bei oberflächlicher Betrachtung in ihrer Morphologie an die Orthomyxoviren, wahrscheinlich liegt ein helicales Nucleocapsid vor; die innere Struktur der Oncornaviren ist jedoch komplexer als die der Orthomyxoviren, die Symmetriefform muß noch geklärt werden (siehe Abb. 40-4).

Tabelle 27-2. Namen und Kryptogramme der Gruppen tierpathogener Viren (Vorschlag des ICNV)

Familie oder Genus ¹	Prototyp-Species ¹		Kryptogramm der Familie oder des Genus ²		
	Trivialname	lateinische Bezeichnung	Erstes Paar NS/NS-Stränge	Zweites Paar MGNS/ % NS	Drittes Paar Partikelform /Nucleocapsidform
DNS-haltig Parvovirus (Picodnavirus)	latentes Rattenvirus	Parvovirus r-1	D/1	1,2-1,8/35	S/S
Papovaviridae (Papovavirusgruppe)			D/2	3-5/7-15	S/S
Papillomavirus (Papovavirus, Untergruppe A)	Kaninchenspapillomvirus	Papillomavirus s-1	D/2	5/7-15	S/S
Polyomavirus (Papovavirus, Untergruppe B)	Polyomavirus	Polyomavirus m-1	D/2	3/7-13	S/S
Adenovirus	Adenovirus Typ 1	Adenovirus h-1	D/2	20-25/12-14	S/S
Herpesvirus	Herpes simplex-Virus Typ 1	Herpesvirus h-1	D/2	54-92/7	S/S
Poxvirus	Vacciniavirus	Poxvirus b-1	D/2	160/5-7,5	X/*
RNS-haltig Picornaviridae (Picornavirusgruppe)			R/1	2,5-2,8/20-30	S/S
Enterovirus	Poliovirus Typ 1	Enterovirus h-polio-1	R/1	2,5/30	S/S
Rhinovirus	Rhinovirus 1 A	Rhinovirus h-1a	R/1	2,6-2,8/30	S/S
Calicivirus	Virus des vesiculären Exanthems, Typ A	Calicivirus s-1	R/1	2,8/20-30	S/S
Reovirus	Reovirus Typ 1	Reovirus h-1	R/2	Σ15/15	S/S
Orbivirus ³	„bluetongue“-Virus	Orbivirus o-1	R/2	Σ15/*	S/S
Orthomyxovirus	Influenzavirus	Orthomyxovirus h-1	R/1	2-4/1	S/E
Paramyxovirus	Virus der atypischen Geflügelpest	Paramyxovirus a-1	R/1	4-8/1	S/E
Rhabdovirus	Virus der vesiculären Stomatitis	Rhabdovirus b-1	R/1	3,5/2	U/E

Tabelle 27-2. Fortsetzung

Familie oder Genus ¹	Prototyp-Species ¹		Kryptogramm der Familie oder des Genus ²		
	Trivialname	lateinische Bezeichnung	Erstes Paar NS/NS- Stränge	Zweites Paar MG NS/ % NS	Drittes Paar Partikelform /Nucleocapsid- form
Oncornavirus (Leukovirus)	Rous-Sarkom- virus	Leukovirus a-1	R/1	10-13/1-2	S/*
Arenavirus	Virus der lym- phocytären Choriomenin- gitis	Arenavirus m-1	(R)/*	*/*	S/*
Alphavirus (Arbovirus Gruppe A)	Sindbisvirus	Alphavirus Sindbis	R/1	3/4-6	S/S
Flavivirus (Arbovirus Gruppe B)	Gelbfiebertvirus	Flavivirus febricis	R/1	3/7-8	S/*
Coronavirus	Virus der infek- tiösen Bronchi- tis des Huhnes	Cornavirus a-1	(R)/*	*/*	S/E?

1 Zwei der hier aufgeführten Gruppen wurden vom ICNV als Familien bezeichnet, während die anderen z. Z. als Genera betrachtet werden. Bei den Papovaviridae wurde Papillomvirus als Prototyp-Genus, bei den Picornaviridae Enterovirus als Prototyp-Genus bezeichnet. Für die übrigen Virusgruppen, die als Genus angesehen werden, wurden Prototyp-Species angegeben, die sowohl mit Trivialnamen als auch mit lateinischen Bezeichnungen aufgeführt sind.

2 Im Kryptogramm (siehe Text) werden 4 Symbolpaare verwendet, hierfür gilt folgender abgekürzter Schlüssel:

Erstes Paar: Art der Nucleinsäure (D = DNS; R = RNS) / Strangbildung der Nucleinsäure (1 oder 2).
Zweites Paar: Molekulargewicht der Nucleinsäure (in Millionen) / Prozentgehalt des infektiösen Partikels an Nucleinsäure (falls verschiedene Stücke des Genoms an einem Partikel auftreten, wird das gesamte Molekulargewicht der Stücke mit Σ angegeben).

Drittes Paar: Form des Partikels / Form des Nucleocapsids (Nucleinsäure plus Protein, das in einem engen Kontakt mit der Nucleinsäure steht):

S = überwiegend sphärisch; E = längliche Partikel mit parallelen Seiten, Enden nicht gerundet;
U = längliche Partikel mit parallelen Seiten, Enden gerundet; X = komplex oder keine der angegebenen Formen.

Viertes Paar: Art(en) der infizierten Wirtsorganismen / Art(en) der Vektoren. Dieses Symbolpaar wurde in dieser Tabelle fortgelassen, da die meisten hier aufgeführten Gruppen durch das gleiche Symbol dargestellt würden: V/O d. h. Wirbeltier als Wirt, Ausbreitung ohne Vektor (mit Ausnahme der durch Arthropoden übertragenen Viren in verschiedenen Gruppen).

* Diese Eigenschaft des Virus ist unbekannt. () Die in Klammern aufgeführten Eigenschaften sind zweifelhaft oder unbestätigt.

3 Der Name Orbivirus wurde von einigen Untersuchern vorgeschlagen, jedoch vom ICNV noch nicht gebilligt.

ein Molekulargewicht von $1,2 - 1,8 \times 10^6$ und macht 35 % des infektiösen Partikels aus; sowohl das Partikel als auch das Nucleocapsid sind sphärisch; Wirbeltiere dienen als Wirt des Genus und die Übertragung erfolgt ohne einen Vektor. Da im folgenden nur Viren von Vertebraten besprochen werden, die meist ohne einen Vektor übertragen werden

(mit Ausnahme der Viren einiger Genera, die durch Arthropoden übertragen werden) wird das vierte Symbolpaar im Kryptogramm in der Tabelle 27-2 fortgelassen.

Die Eigenschaften der bedeutendsten Virusgruppen werden im folgenden kurz besprochen, detailliertere Angaben finden sich in den späteren Kapiteln.

DNS-haltige Viren

A. Poxvirus-Gruppe: Diese Viren sind recht groß (230×300 nm), quaderförmig oder oval gestaltet und enthalten doppelsträngige DNS als Genom; zusammen mit einigen Proteinen ist dieses Virusgenom von Doppelmembranen umhüllt. Alle Poxviren besitzen ein gemeinsames Nucleoprotein-Antigen. Bei einigen Viren konnten im Virion verschiedene Enzyme nachgewiesen werden, u.a. eine DNS-abhängige RNS-Polymerase. Poxviren sind die einzigen DNS-haltigen Viren, die sich ausschließlich im Cytoplasma vermehren.

Die Viren dieser Gruppe sind vor allem für die Haut nicht nur des Menschen (Pocken [Variola], Vaccinia, Molluscum contagiosum), sondern auch für die Haut verschiedener Tiere pathogen (z.B. Kuhpocken, Affenpocken, Ektromelie oder Mäusepocken, Geflügelpocken, Fibrom und Myxom des Kaninchens). Einige Poxviren der Tiere können auf den Menschen übertragen werden (z.B. Kuhpocken, Affenpocken). Auf der Grundlage gemeinsamer Antigenespezifitäten können die Viren dieser Gruppe in 5 Subgenera unterteilt werden (z.B. Vaccinia-Variola; Myxom-Fibrom); diese Antigene sind außer dem gruppenspezifischen Nucleoprotein-Antigen nachweisbar.

B. Herpesvirus-Gruppe: Diese mittelgroßen Viren enthalten eine doppelsträngige DNS als Genom. Das Nucleocapsid mit einem Durchmesser von 100 nm zeigt eine kubische Symmetrie aus 162 Capsomeren und ist von einer Lipid-haltigen Hülle umgeben; dieses mit einer Hülle versehene Virion weist einen Durchmesser von 100—150 nm auf. Herpesviren können zu einer latenten Infektion führen, die lebenslanglich — auch in Gegenwart zirkulierender Antikörper — bestehen bleiben kann.

Herpes simplex-Viren (Typ 1 und 2), Variellen-Zoster-Virus, EB-Virus und Cytomegalievirus infizieren den Menschen. Weitere Viren dieser Gruppe treten bei Affen, Kaninchen, Kälbern, Pferden, Schweinen, Hunden, Fröschen, Spitzmäusen, Hühnern

und bei Schlangen auf. Die durch Herpesviren hervorgerufenen persistierenden oder latenten Infektionen, die ätiologische Beziehungen verschiedener Herpesviren der Tiere mit Tumoren und die vermuteten Beziehungen von Herpesvirus Typ 2 und dem EB-Virus mit malignen Tumoren des Menschen, haben in jüngster Zeit ein großes Interesse an diesen Viren geweckt, das sich sowohl auf die Grundlagen der Infektionen mit „slow“-Viren als auch auf die persistierenden Infektionen und auch auf eine mögliche Virusätiologie menschlicher Malignome erstreckt.

C. Adenovirus-Gruppe: Diese mittelgroßen Viren (70—90 nm) enthalten eine doppelsträngige DNS als Genom; die 251 Capsomeren sind in einer kubischen Symmetrie angeordnet, eine Hülle fehlt, die Viren sind Äther-resistent. 31 verschiedene Typen können den Menschen infizieren. Die Viren zeigen eine Prädisposition für die Schleimhäute und können jahrelang in lymphoiden Geweben persistieren. Einige Adenoviren des Menschen verursachen akute Erkrankungen des Respirationstraktes, fieberhafte Katarrhe oder auch eine Pharyngitis oder Conjunctivitis. Die Adenoviren des Menschen führen bei Laboratoriumstieren nur selten zu Erkrankungen, einige Typen induzieren jedoch bei neugeborenen Hamstern eine Tumorbildung und sind als Modelle onkogener Viren Gegenstand intensiver Untersuchungen. Bestimmte Serotypen der Adenoviren treten bei Affen, Rindern, Hunden, Hühnern und bei Nagetieren auf (siehe Kapitel 37 und 40).

D. Papovavirus-Gruppe: Diese kleinen, Äther-resistenten Viren (43—53 nm) enthalten eine doppelsträngige, zirkuläre DNS als Genom; die 72 Capsomeren sind in einer kubischen Symmetrie angeordnet. Die beim Menschen vorkommenden Viren dieser Gruppe sind das Papillom- oder Warzenvirus und ein Polyoma-ähnliches Virus, das von Patienten mit progressiver multifokaler Leukoencephalopathie (PML) isoliert werden konnte (siehe Kapitel 30).

Das ICNV hat diese Gruppe als Virusfamilie — Papovaviridae — bezeichnet und sie in 2 Genera unterteilt: Papillomavirus (Viren,

die bei Menschen und zahlreichen Tieren Papillome hervorrufen) und Polyomavirus (übrige Viren der Familie einschließlich SV-40 [vacuolating agent]).

Wenn SV-40 und Adenoviren sich gemeinsam vermehren, so können sie miteinander „Hybrid“-Viren bilden, in denen ein defektes Genom von SV-40 kovalent mit Adenovirus-DNS verknüpft ist, das sich in einem Adenovirus-Capsid befindet.

E. Parvovirus-Gruppe (Picodnaviren): Die Viren dieser Gruppe besitzen nur einen Partikeldurchmesser von 20 nm, als Genom ist einsträngige DNS vorhanden; die 32 Capsomeren (Durchmesser jeweils 2—4 nm) sind in kubischer Symmetrie angeordnet. Die Viren besitzen keine Hülle, sie sind Ätherresistent. Einige Viren dieser Gruppe sind gegen hohe Temperaturen (60° C, 30 min) auffallend resistent. Die Vermehrung der Viren und der Zusammenbau des Capsids findet im Kern der infizierten Zelle statt. Zu dem Subgenus A der Parvoviren gehören die autonom vermehrungsfähigen Parvoviren: osteolytische H-Viren der Hamster, latente Rattenviren (Kilham-Rattenvirus, X14-Virus), „minute“-Mausvirus und das Parvovirus der Schweine. Die DNS dieser nicht defekten, autonom vermehrungsfähigen Viren besteht offenbar aus einem Einzelstrang, der vor und nach dem Extraktionsverfahren nachgewiesen werden kann; man kann also annehmen, daß Stränge gleicher Polarität in allen Virionen vorhanden sind. Wahrscheinlich gehören auch das Virus der Panleukopenie der Katze und zahlreiche andere Viren zu diesem Subgenus A; zur Zeit liegen jedoch noch zu wenig Daten über ihre Eigenschaften vor, um eine Eingruppierung vorzunehmen.

Die Adeno-assoziierten Satellitenviren bilden das Subgenus B; diese Viren sind defekt und können sich ohne ein als „Helfervirus“ dienendes Adenovirus, das sich ebenfalls repliziert, nicht vermehren. Herpesviren können als partieller Helfer dienen; so wird in Zellen, die gleichzeitig mit Herpesvirus infiziert sind, infektiöse Satelliten-DNS und auch Capsid-Protein gebildet; sie werden jedoch nicht zu Satelliten-Virionen zusammen-

gefügt. Einige Serotypen des Satellitenvirus sind offenbar auf Menschen beschränkt; es ist jedoch nicht bekannt, ob sie eine Erkrankung hervorrufen. Innerhalb des Satelliten-Virion konnte eine Einzelstrang-DNS nachgewiesen werden, die jeweils als Plus- oder Minusstrang in verschiedenen Partikeln vorhanden ist. Nach Extraktion der DNS vereinigen sich die Plus- und Minusstränge und bilden eine doppelsträngige Helix (siehe Kapitel 37).

RNS-haltige Viren

A. Arbovirus-Gruppe: Die mehr als 250 Viren dieser Gruppe wurden nach ökologischen Gesichtspunkten zusammengefaßt, sie überleben durch einen komplexen ökologischen Cyclus, an dem Wirbeltiere als Wirte und Arthropoden beteiligt sind, die als Vektor dienen und das Virus durch Bisse übertragen. Die Viren dieser Gruppe infizieren Menschen, Pferde, Haus- und Wildvögel, Fledermäuse, Schlangen und Insekten (Stechmücken, Zecken). Zu den menschenpathogenen Arboviren gehören Dengueviren, die Viren der östlichen, westlichen und Venezuela-Encephalitis, die Viren der japanischen B-Encephalitis, der St. Louis-Encephalitis sowie das Gelbfiebervirus.

In den Tabellen 27-1 und 27-2 sind Arboviren nicht aufgeführt, da ihre Zusammenfassung vorwiegend nach ökologischen Gegebenheiten erfolgte und die Viren sehr verschiedenartige physikalische und chemische Eigenschaften aufweisen können. Andererseits hat die Zusammenfassung der Viren, die durch Arthropoden übertragen werden, auch einige Vorteile und ein Kapitel (Kapitel 30) befaßt sich auch mit diesen Arboviren. Viele Arboviren finden sich jetzt in verschiedenen Gruppen tierpathogener Viren. Die meisten Arboviren der Serogruppen A und B wurden in die Gruppe der Togaviren (Genera Alphavirus bzw. Flavivirus) eingeordnet; andere gehören zu den Gruppen der Rhabdoviren, Diplornaviren und Arenaviren; ein Arbovirus rechnet man jetzt (Nodamura-Virus) zu der Gruppe der Picornaviren.

B. Orthomyxovirus-Gruppe: Diese mittelgroßen, mit einer Hülle versehenen Viren enthalten eine einsträngige RNS, besitzen essentielle Lipide und weisen eine Helixsymmetrie auf. Die mit einer Hülle versehenen Viren besitzen einen Durchmesser von etwa 100 nm (90—120 nm). Die Partikel sind pleomorph, doch lassen sich annähernd sphärische Partikel am häufigsten nachweisen; auch filamentöse Formen sind nicht selten. Die meisten Orthomyxoviruspartikel besitzen auf ihrer Oberfläche eine mit Vorstülpungen oder Stacheln besetzte Schicht als Teil ihrer äußeren Umhüllung. Der Durchmesser der inneren Ribonucleoprotein-Helix beträgt 6—9 nm, die RNS besteht aus 6 Komponenten. Mit gereinigten Virionen ist eine RNS-abhängige RNS-Polymerase-Aktivität verknüpft. Während der Vermehrung läßt sich das helicale Nucleocapsid zuerst im Zellkern nachweisen, während das Hämagglutinin und die Neuraminidase im Cytoplasma gebildet werden. Das Virus reift durch Sprossungsvorgänge an der Zellwand. Orthomyxoviren sind gegen die Einwirkung von Dactinomycin während ihrer Entwicklung empfindlich.

Alle bis jetzt bekannten Orthomyxoviren sind als Influenzaviren anzusehen; hierzu gehören die Viren der Influenza von Mensch, Pferd und Schwein sowie das Virus der klassischen Geflügelpest (KP-Virus). Diese Viren werden nach ihrem Ribonucleoprotein-(RNP-)Antigen als Typ A, B oder C klassifiziert; zwischen den Typen besteht keine Kreuzreaktion. Seit langem weiß man, daß die Identifizierung und eindeutige Beschreibung der Influenzavirus-Subtypen wesentlich ist, wenn man sich mit den Antigenvariationen und dem periodischen Auftreten neuer Stämme befassen will, gegen welche die Bevölkerung nur eine geringe oder keine Immunität besitzt (siehe Kapitel 34). Die frühere Bezeichnung der Subtypen erfolgte nach dem Hämagglutinin-Antigen, z. B. A₁, A₂. Heute weiß man jedoch, daß auch das Neuraminidase-Antigen unter natürlichen Bedingungen unabhängige Variationen durchmacht und auch eine Bedeutung für die Infektiosität und

Immunität hat. Deshalb werden heute sowohl Hämagglutinin als auch Neuraminidase zur Kennzeichnung der Beziehung zwischen verschiedenen Stämmen innerhalb des Influenza-Typ A herangezogen; nach dieser neuen Nomenklatur lauten die Kennzeichnungen für zwei typische Isolierungen wie folgt:

A/Hongkong/1/68 (H3N2)

A/Schwein/Taiwan/1/70 (H3N2)

Diese Bezeichnungen zeigen, daß das 1970 von Schweinen auf Taiwan isolierte Virus ein Hämagglutinin (H3) und auch eine Neuraminidase (N2) enthält, die serologisch mit der Isolierung vom Menschen Hongkong/68 verwandt sind. Nach der früher verwendeten Nomenklatur hätten die Stämme die Bezeichnung A2/Hongkong/1/68 und A/Schwein/Taiwan/70 getragen, aus denen sich kein Hinweis auf ihre enge Verwandtschaft der Antigenität ergeben hätte.

C. Paramyxovirus-Gruppe: Die Viren dieser Gruppe ähneln in ihrer Morphologie den Orthomyxoviren, sind jedoch im allgemeinen etwas größer (150—300 nm). Der Durchmesser des helicalen Nucleocapsids beträgt 18 nm, das Molekulargewicht der einsträngigen Paramyxovirus-RNS ist etwa viermal größer als der Orthomyxovirus-RNS. Im Gegensatz zu den Orthomyxoviren werden sowohl das Hämagglutinin- als auch das Nucleoprotein-Antigen im Cytoplasma der Wirtszelle synthetisiert. Die Paramyxoviren sind gegen Dactinomycin resistent. Das Virion einiger Viren dieser Gruppe kann Enzyme, wie z. B. RNS-abhängige RNS-Polymerase und Neuraminidase, enthalten.

Zu den Paramyxoviren des Menschen gehören Parainfluenza-, Respiratory syncytial-(RS-), Masern- und Mumpsviren; zu den Paramyxoviren der Tiere das Virus der atypischen Geflügelpest (Newcastle disease virus [NDV]), ferner Staupe- und Rinderpestvirus.

Das Pneumonievirus der Maus (PVM) nimmt eine Zwischenstellung zwischen den Ortho- und Paramyxoviren ein, da der Durchmesser der Helix 12—15 nm beträgt. Auch das

RS-Virus besitzt nach kürzlich erhobenen Untersuchungsbefunden einen Helix-Durchmesser von 12—15 nm. Zellen enthalten nach ihrer Infektion mit RS- oder PVM-Viren dichte intracytoplasmatische Einschlußkörper (wahrscheinlich handelt es sich um innere Viruskomponenten); im Gegensatz hierzu führt die Infektion mit den übrigen Paramyxoviren zur Ausbildung cytoplasmatischer Einschlüsse, die aus locker angeordneten Nucleocapsiden bestehen. Im Hinblick auf diese — und noch andere — Besonderheiten von RS- und PVM-Viren ist es möglich, daß diese Viren eine dritte Myxovirus-Gruppe repräsentieren; man hat für diese Gruppe die Bezeichnung Metamyxovirus (siehe Kapitel 35) vorgeschlagen.

D. Rhabdovirus-Gruppe: Die in dieser Gruppe zusammengefaßten Mikroben besitzen Viren, die eine Hüllmembran aufweisen; ihr stäbchenförmiges Aussehen erinnert an die Form eines Geschosses, da sie an einem Ende flach, am anderen dagegen abgerundet sind (siehe Abb. 27—32). Der Durchmesser des Cylinders beträgt 70 nm, die Länge etwa 175 nm; auf der Hüllmembran sind etwa 10 nm lange Stacheln angeordnet. Bei verschiedenen Viren dieser Gruppe hat man eine interne Helix nachgewiesen, die in ihrer Gestalt an die Nucleoprotein-Helix der Paramyxoviren erinnert. Das Genom dieser Viren besteht aus einer Einstrang-RNS. Die Viruspartikel werden durch Sprossungsvorgänge an der Zellmembran gebildet. Folgende Viren werden zur Rhabdovirus-Gruppe gezählt: Rabiesvirus, 6 Arboviren (Virus der vesiculären Stomatitis des Rindes [VSV], Cocal-Virus der Insekten, Flanders- [Hart Park-] Virus der Stechmücken und Vögel, Kern Canyon-Virus der Fledermaus, Lagos-Fledermausvirus, Mount Elgon-Fledermausvirus), Virus der hämorrhagischen Septicämie der Regenbogenforelle (Egtved-Virus), Sigma-Virus bei Drosophila und eine Anzahl von Pflanzenviren. Das für den Menschen hoch-pathogene Marburg-Virus gleicht in seinen meisten Eigenschaften den Rhabdoviren, auffallend sind jedoch hierbei sehr lange Formen (siehe Kapitel 33).

E. Oncornavirus-Gruppe: Diese Viren ähneln bei oberflächlicher Betrachtung sowohl in ihrer Größe als auch in ihrer Struktur den Orthomyxoviren, sie besitzen jedoch eine sehr viel komplexere innere Struktur als diese (siehe Abb. 40-4). Die Viren enthalten eine RNS mit hohem Molekulargewicht und auch kleine Mengen DNS. Mit gereinigten Virionen sind verschiedene Enzymaktivitäten (z. B. inverse Transkriptase [RNS → DNS], Polymerasen, Nucleasen) verknüpft. In dieser Gruppe werden die Leukämie- und Sarkomviren von Maus, Katze und Huhn zusammengefaßt (siehe Kapitel 40).

F. Coronavirus-Gruppe: Die Viren dieser Gruppe besitzen eine Hülle, sind 70—120 nm groß und enthalten Einstrang-RNS als Genom; das Nucleocapsid ist wahrscheinlich helical aufgebaut und hat einen Durchmesser von 7—9 nm. Diese Viren ähneln somit den Orthomyxoviren, die Vorstülpungen auf der Virusoberfläche sind jedoch nicht stachel-, sondern blattförmig; der Rand dieser Vorstülpungen erinnert an den Strahlenkranz der Sonne, hiervon wurde der Name abgeleitet. Im Gegensatz zu den Orthomyxoviren entwickeln sich die Nucleocapside der Coronaviren im Cytoplasma der Wirtszelle und reifen durch Sprossungsprozesse in cytoplasmatische Vesikel. Coronaviren wurden bei Patienten mit Erkrankungen des oberen Respirationstraktes („IBV-ähnliche Viren“) vor allem in Organkulturen aus embryonalem Nasen- und Trachealgewebe isoliert. Coronaviren kommen jedoch auch bei Tieren vor: Virus der infektiösen Bronchitis des Huhnes (IBV), Virus der Mäusehepatitis, Virus der übertragbaren Gastroenteritis des Schweins, wahrscheinlich auch das pneumotrope Virus der Ratte (siehe Kapitel 39).

G. Arenavirus-Gruppe: Diese Gruppierung von Viren erfolgte nach der morphologischen und biologischen Ähnlichkeit und nach den gemeinsamen Antigenen bei Arboviren des Tacaribe-Komplexes (Junin- und Machupo-Viren des südamerikanischen hämorrhagischen Fiebers, Pichinde-Virus), dem Lassa-Virus und dem Virus der lymphocytären Choriomeningitis (LCM). Diese RNS-halti-

gen, mit einer Hülle versehenen Viren haben einen mittleren Durchmesser von 110 nm (50—150 nm). Die Virionen enthalten mehrere elektronenoptisch dichte Granula mit einem Durchmesser von 20—30 nm, die in ihrer Größe, Form und ihrer Dichte von Ribosomen nicht zu unterscheiden sind. Diese Granula (aranaceus = sandig) gaben der Gruppe den Namen; einige Viren dieser Gruppe führen zu „slow-“Virusinfektionen (siehe Kapitel 30 und 33).

H. Togavirus-Gruppe: Zu den Viren dieser Gruppe gehören die meisten Arboviren der serologischen Gruppen A und B, das Rötelnvirus und das LDH-(Lactatdehydrogenase)-Virus der Maus. Die Viren besitzen eine Lipid-haltige, Äther-empfindliche Hülle und als Genom eine einsträngige RNS; das mit einer Hülle versehene Virus weist einen Durchmesser von durchschnittlich 50 bis 60 nm auf (20—70 nm). Die Viruspartikel reifen durch Sprossungsvorgänge an der Cytoplasma- und Zellmembran. Der Capsidaufbau der meisten Togaviren ist zwar unbekannt, doch konnte bei zwei Viren dieser Gruppe — Sindbis- und Semliki Forest-Virus — ein nichthämagglutinierendes Nucleocapsid (Durchmesser 35 nm) festgestellt werden. Bei der in diesem Nucleocapsid feststellbaren sphärischen Struktur mit einem Durchmesser von 12—16 nm könnte es sich um die zentrale Innenkomponente handeln. Das Sindbis-Virus besitzt 32 Capsomeren, die in Form eines Ikosaeders zusammengefügt sind. Nach kürzlich erhobenen Untersuchungsbefunden scheinen auch die anderen Togaviren einschließlich der nicht durch Arthropoden übertragenen Viren dieser Gruppe (Rötelnvirus, zahlreiche Viren bei Haustieren) sehr ähnliche Substrukturen aufzuweisen wie das Sindbis-Virus. Man hat vorgeschlagen, die Togaviren als eine große Virusfamilie (Togaviridae) anzusehen, die aus zumindest zwei Untergruppen besteht. Diese beiden Untergruppen wurden vom ICNV als Genus Alphavirus (Gruppe A der Arboviren) mit Sindbis-Virus als Prototyp und als Genus Flavivirus (Gruppe B der Arboviren) mit Gelbfiebertvirus als Prototyp bezeichnet. Au-

ßer den serologischen Unterschieden zwischen den beiden Untergruppen sind die Partikel des Alphavirus im allgemeinen größer als die des Flavivirus; sie unterscheiden sich auch in einigen Besonderheiten der Vermehrung und Reifung innerhalb der Zelle sowie in ihrer Empfindlichkeit gegenüber Trypsin und Phospholipiden (siehe Kapitel 30).

I. Diplorna-(Reo-)virus-Gruppe: Reoviren waren die ersten Viren, bei denen doppelsträngige RNS nachgewiesen werden konnte. Die Viren sind mittelgroß (75—80 nm), Äther-resistent und weisen eine kubische Symmetrie auf. Die von Tieren isolierten Reovirus-Stämme sind den beim Menschen nachweisbaren ähnlich; die Beziehung der Reoviren des Menschen zu bestimmten Krankheitsbildern ist gegenwärtig nicht klar.

Nach kürzlich erhobenen Untersuchungen scheinen zahlreiche weitere Viren wesentliche Gemeinsamkeiten mit den Reoviren (Doppelstrang-RNS in zahlreichen Segmenten, kubische Symmetrie, Fehlen einer Hülle, relative Resistenz gegen Lipidlösungsmittel, Reifung im Cytoplasma) aufzuweisen, sie unterscheiden sich jedoch von den Reoviren durch ihre Antigenität, ihre Säurelabilität und durch die Capsidanordnung. Man hat aus diesem Grunde den Namen Diplornavirus als höheres Taxon vorgeschlagen — wahrscheinlich als Virusfamilie (Diplornaviridae) — und die Unterteilung in zwei Untergruppen angeregt. Die Viren der Reovirus-Untergruppe (Genus) wären in diesem Fall durch ein Capsid gekennzeichnet, das aus einer Doppelschicht aus Capsomeren besteht, wobei 92 Untereinheiten in der äußeren Schicht vorhanden wären. Für das zweite Genus wurde die Bezeichnung Orbivirus vorgeschlagen; in diesem Genus werden Arboviren zusammengefaßt, die — abweichend von den meisten Arboviren — relativ resistent gegen Lipidlösungsmittel sind, serologisch miteinander verwandt sind, mit den Reoviren oder anderen Virusgruppen jedoch keine Verwandtschaft aufweisen. Diese Viren sind empfindlich gegen niedrige pH-Werte. Die Capsidoberfläche besteht aus 32 ungewöhnlich großen (10—15 nm), mehr ringförmig

konfigurierten Capsomeren. Der vorgeschlagene Name (orbis = Ring) soll diese Besonderheit kennzeichnen. Zu der Orbivirus-Gruppe gehören das „bluetongue“-Virus, das Virus der afrikanischen Pferdekrankheit, das Colorado-Zeckenfiebertvirus sowie weitere Viren bei Tieren, Insekten und Pflanzen (siehe Kapitel 39).

J. Picornavirus-Gruppe: Diese Gruppe wurde vom ICNV als Virusfamilie (Picornaviridae) anerkannt. Die Viren der Untergruppen (Genera), die den Menschen infizieren, sind Enterovirus und Rhinovirus; die Viren eines dritten Genus, Calicivirus, infizieren Schweine und Katzen. Man kennt zumindest 63 verschiedene Enteroviren des Menschen, die als Polio-, Coxsackie- und Echoviren bezeichnet werden. Weitere Typen kommen im gesamten Tierreich vor. Mehr als 90 Rhinoviren konnten bisher isoliert werden, die meisten verursachen typische Erkältungskrankheiten (Schnupfen) beim Menschen. Rhinoviren kommen auch bei Tieren vor, am eingehendsten wurde das Virus der Maul- und Klauen-seuche des Rindes untersucht.

Picornaviren sind kleine (20—30 nm), Äther-resistente Viren, die eine einsträngige RNS als Genom enthalten und die eine kubische Symmetrie aufweisen. Die Enteroviren und einige Rhinoviren werden durch $MgCl_2$ gegen eine thermische Inaktivierung geschützt. Rhinoviren sind säurelabil und besitzen eine höhere Dichte in $CsCl$ ($1,4 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$) als Enteroviren ($1,34 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$), die säureresistent sind (siehe Kapitel 31).

Über einige Viren ist zu wenig bekannt, um sie in eine der genannten Gruppen einordnen zu können. Hierzu gehören die Viren, die eine infektiöse oder Serumhepatitis hervorrufen (Hepatitisvirus A bzw. B) sowie Viren, die bestimmte Immunerkrankungen oder auch neurologische Erkrankungen mit langer Latenzzeit („slow“-Virusinfektionen) bedingen.

Evolution der Viren

Um die Herkunft der Viren zu erklären, wurden drei Hypothesen aufgestellt.

A. Viren wurden Parasiten der ersten cellu-lären Organismen und die gegenwärtig be-kannten Viren sind direkte Nachkommen die-ser ersten subcellulären Strukturen. In dem gleichen Maße, wie sich neue Organismen oder neue Tiere entwickelten, traten mit ih-nen auch neue Viren auf. In diesem Zusam-menhang ist die Beobachtung bedeutungs-voll, daß Menschen mit einem latenten Her-pes simplex-Virus lebenslänglich infiziert sein können; das gleiche gilt für Affen, die in glei-cher Weise mit einem Virus (B-Virus) infi-ziert sein können, das viele Gemeinsamkei-ten mit dem Herpesvirus aufweist. Offensicht-lich haben diese zwei Virusarten einen ge-meinsamen Ursprung. Wird der Mensch je-doch zufällig mit dem Herpesvirus B des Af-fen infiziert, mit dem er in seiner Evolution keinen Kontakt hatte, so verläuft diese Infek-tion im allgemeinen tödlich.

B. Viren sind keine individuellen Organis-men, sondern Bestandteile normaler Zellen, die irgendwann selbständig geworden sind. Innerhalb der Zelle kann ein Virus autokata-lytischen Einfluß ausüben, so daß aus zell-eigenem Material Nachbildungen von diesem Virus geformt werden. Man kann auch sagen, daß Viren an unkontrollierbar gewordene Gene erinnern, die sich so lange vermehren können wie Baumaterial hierfür zur Verfü-gung steht. So enthalten z. B. Zellen von be-stimmten Pflanzen Strukturen, die als voll-kommen normale Bestandteile dieser Art an-gesprochen werden können. Werden nun aber Extrakte aus diesen Zellen in andere Pflan-zen inoculiert, so verhält sich diese Pflanze — sofern sie empfänglich ist — als ob sie mit einem echten Virus inoculiert worden wäre. Würde man den zweiten (empfängli-chen) Wirt nicht kennen, so hätte man nie-mals feststellen können, daß der erste Wirt eine Substanz enthielt, die die Charakteristika eines Virus besitzt. Ein ähnlicher Befund konnte kürzlich durch Kulturen von Rubella-virus bestätigt werden, die von in utero infi-zierten Neugeborenen stammten.

Als Fortführung dieser Hypothese wurde an-genommen, daß Viren Abkömmlinge norma-ler cellulärer Gene (Nucleinsäuren) sind, die

vor sehr langer Zeit die Fähigkeit zur autonomen Vermehrung erwarben und die genetische Informationen zur Codierung des Capsidproteins erhielten. Das Capsid ist zur Stabilisierung dieser subcellulären Organelle erforderlich, wenn sie von Zelle zu Zelle übergeht. Krebsviren können in normalen Zellen als reprimierte Gene existieren.

C. Viren haben sich aus pathogenen Bakterien durch einen retrograden Evolutionsprozeß entwickelt. Einzelne Bakterien sind hochgradig spezialisierte Parasiten und vermehren sich nur mit Schwierigkeiten außerhalb der Wirtszelle. Sie haben einige Funktionen (die durch Enzyme vermittelt werden), die für ihre unabhängige Existenz erforderlich sind, verloren, da diese Funktionen durch die parasitär befallene Zelle zur Verfügung gestellt werden. Rickettsien und die Erreger der Psittakose und des Lymphogranuloma inguinale sind offenbar gute Beispiele für intracelluläre Organismen, die eine parasitäre Degeneration durchgemacht haben. Hierbei handelt es sich jedoch nicht um echte Viren. Zur Zeit hat man keine Stütze für die Annahme, daß echte Viren sich aus Bakterien entwickelt haben.

Das kürzlich aufgefundene Adeno-Satellitenvirus ist ein defektes Virus und kann sich nur dann vermehren, wenn Adenoviren in der Zelle die Bildung jener Enzyme, die zur Vermehrung beider Viren erforderlich sind, induzieren. Vielleicht haben diese kleinen Satelliten-Viren den absoluten Gipfel des Parasitismus erreicht. Man hat kürzlich jedoch noch kleinere Erreger, die als „Viroid“ bezeichnet werden, beschrieben. Das „Viroid“ des „spindle tuber virus“ (Spindelknollen-Krankheit) der Kartoffel besteht lediglich aus infektiöser RNS mit einem Molekulargewicht von etwa 50 000, Protein fehlt dagegen.

Eine Untersuchung der Basensequenz der Nucleinsäure von Säugerviren legt die Vermutung nahe, daß die kleinen Viren (Parvo-, Picorna- und Papovaviren), die nur eine geringe Information enthalten, der entsprechenden Matrize der Wirtszellen-DNS sehr ähnlich sind. Dagegen zeigen die großen Viren

(Pox- und Herpesviren) in dieser Hinsicht nur eine sehr begrenzte Übereinstimmung mit der Wirtszellen-DNS. Nach diesen Befunden können die kleinen Viren, die alle eine Nucleinsäure mit einem Molekulargewicht $< 5 \times 10^6$ und einen G + C-Gehalt von 41 bis 48 % besitzen, sich aus den Zellen ihrer Wirtsorganismen entwickelt haben. Im Gegensatz hierzu haben die Herpes- und Poxviren wahrscheinlich einen anderen Ursprung, ihre DNS hat ein Molekulargewicht von $70\text{—}160 \times 10^6$ und ihr G + C-Gehalt liegt zwischen 35 und 74 %.

Biophysikalische Eigenschaften der Viren

Viruspartikel und Elektronenmikroskopie

Verfeinerungen in der Technik der Röntgenkleinwinkelstreuungen und der Elektronenmikroskopie haben eine Unterscheidung in der Elementarstruktur verschiedener Viren ermöglicht.

Mit der Bezeichnung „Virion“ kennzeichnet man das komplette infektiöse Viruspartikel, „Capsid“ bezeichnet den Proteinmantel und „Capsomer“ jede morphologisch faßbare Proteinuntereinheit (Abb. 27-1). Die einzelnen Proteinmoleküle, die ein Capsomer bilden, werden als „Struktureinheit“ bezeichnet. Komplizierter gebaute Virionen können zusätzliche Membranen und Hüllen besitzen, die nicht symmetrisch gebaut sind.

Die Virussymmetrieformen konnten im Elek-

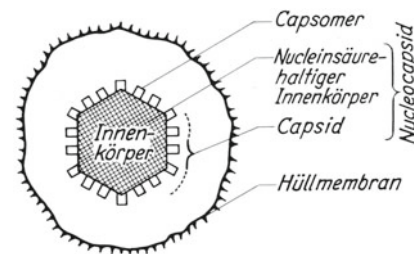


Abb. 27-1. Schematische Darstellung der Bestandteile eines kompletten Viruspartikels oder Virions

Tabelle 27-3

Virus	n	T	Capsomere
Phage (ϕ X-174)	2	1	12
Picornavirusgruppe*	2	3	32
Papovavirusgruppe**	3	4	42
		7	72
Reovirusgruppe	4	9	92
Herpesvirusgruppe	5	16	162
Adenovirusgruppe	6	25	252
Iridescensgruppe	10	81	812

* Picornaviren sind ein Sonderfall: für $n = 2$ gilt die Formel $N = 30(n-1)^2 + 2$ (siehe unten).

** Capsomeren in seitlicher Anordnung.

tronenmikroskop nach Anwendung von Schwermetallimprägnationen untersucht werden. Kaliumphosphorwolframat durchdringt das Viruspartikel wie eine Wolke und bildet die Oberflächenstrukturen des Virus durch seine Fähigkeit zur Negativkontrastierung ab. Diese Substanz dringt auch in jene Viruspartikel ein, die keinen Innenkörper und somit keine Nucleinsäure besitzen, die Partikel sind nicht infektiös. Hierdurch kann — außer der Ermittlung der Symmetriefform des Virus — auch das Verhältnis kompletter Viruspartikel mit Nucleinsäure zu leeren Capsiden (Proteinhüllen) festgestellt werden.

Die Capside tierischer Viren sind in zwei Symmetriefformen angeordnet: 1. Helixsymmetrie (z.B. Myxoviren), 2. kubische Symmetrie (z.B. Adenoviren). Jede kubische Symmetrie, die bisher bei tierischen Viren gefunden wurde, ist vom Typ des Ikosaeders (5 : 3 : 2). Der Ikosaeder ist einer der fünf regelmäßigen Polyeder der klassischen Geometrie. Er besitzt 20 Flächen, von denen jede ein gleichseitiges Dreieck darstellt, 12 Ecken und Achsen einer fünffachen, dreifachen und zweifachen Symmetrie. Die Möglichkeiten, nach denen die Capsomeren an-

geordnet sein können, um mit dieser Ikosaeder-Symmetrie übereinzustimmen, ist beschränkt. Diese Beschränkung kann in einfachster Form durch die Formel $N = 10(n-1)^2 + 2$ ausgedrückt werden, wobei N die Gesamtzahl der Capsomeren und n die Anzahl Capsomeren auf einer Seite jedes gleichseitigen Dreiecks angibt. Tabelle 27-3 gibt die Anzahl Capsomeren bei verschiedenen Virusgruppen an, wobei n von 2 bis 6 variiert.

Viren mit einer Ikosaedersymmetrie können auch nach der Zahl der Triangulationen (T) gruppiert werden; hiermit wird die Anzahl kleiner Dreiecke angegeben, die auf einer einzelnen Fläche des Ikosaeders entstehen, wenn die jeweils benachbarten morphologischen Untereinheiten durch eine Linie miteinander verbunden werden. Eine Klasse von Viren hat T-Werte von 1, 4, 9 und 16, eine zweite Klasse T-Werte von 3 und 12, während eine dritte Klasse Werte von 7, 13, 19 und 21 aufweist. Die Anzahl morphologischer Einheiten (Capsomere) kann durch die Formel $M = 10T + 2$ ausgedrückt werden. Die Tabelle 27-3 gibt die Anzahl der Triangulationen für verschiedene Virusarten an.

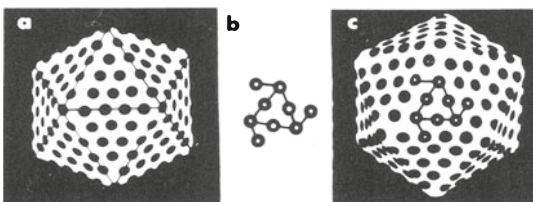


Abb. 27-2. a) Darstellung der Anordnung der Capsomeren in einem Adenoviruspartikel, betrachtet entlang der Achse der zweifachen Symmetrie. b) Anordnung einer Gruppe aus neun Capsomeren, die durch Behandlung eines Adenovirus mit Natriumdodecylsulfat erhalten wurde. c) Einfügung der Gruppe aus neun Capsomeren in ein Adenoviruspartikel

Ein Beispiel für eine Ikosaedersymmetrie ist in Abb. 27-2 dargestellt. Das dargestellte Modell eines Adenovirus ($n = 6$) zeigt sechs Capsomeren entlang einer Kante (Abb. 27-2a). Der Abbau dieses Virus mit Detergentien (Natriumdodecylsulfat) setzt die Capsomeren jeweils in Gruppen von neun (Abb. 27-2b und c) und vielleicht auch in Gruppen von sechs frei. Die Gruppen von neun Capsomeren liegen auf den Flächen, dazu kommt jeweils ein Capsomer von jeder der drei Kanten der Fläche. Die Gruppen von sechs Capsomeren würden hiernach von den Kanten stammen. Die von den Flächen der 20 gleichseitigen Dreiecke, die den Ikosaeder eines Adenovirus ausmachen, stammenden Gruppen von neun Capsomeren ergeben 180 Untereinheiten, während die Gruppen aus sechs Capsomeren, die die 12 Kanten bilden, 72 Capsomeren ergeben. Hieraus ergibt sich eine Gesamtzahl von 252 Capsomeren.

Virusprotein

Die Strukturproteine des Virus haben mehrere wesentliche Funktionen. Sie schützen das Virusgenom vor einer Inaktivierung durch Nucleasen, beteiligen sich an der Anheftung des Viruspartikels an die empfängliche Zelle und sind für die strukturelle Symmetrie des Viruspartikels verantwortlich. Die Proteine bestimmen ferner die Antigenität des Virus, die bei der Impfstoffherstellung und bei der diagnostischen Virologie bedeutsam ist, vor allem zur Unterscheidung eng verwandter Virusarten. Bis jetzt wurden nur die Strukturproteine weniger Viren eingehend untersucht, ein gutes Beispiel hierfür sind die mit Picornaviren durchgeführten Untersuchungen. Durch elektronenmikroskopische Untersuchungen hat man feststellen können, daß die Capside aus 32 morphologischen Untereinheiten bestehen, die in einer mit der Ikosaedersymmetrie übereinstimmenden Anordnung zusammengefügt sind. Sie liegen jedoch offenbar nicht in Form eines regulären Ikosaeders vor, sondern als rhombisches Triacotaeder (30 jeweils als Rhombus ausgebildete Flächen). Kristallographische Untersu-

chungen mit Hilfe von Röntgenstrahlen zeigten außerdem, daß auch die kristallinen Viren eine Ikosaeder-Symmetrie besitzen und daß ihre Proteinhülle aus 60 Struktureinheiten besteht, oder aus einem Vielfachen von 60 Einheiten (ein Erfordernis der Ikosaeder-Symmetrie). Nachdem die chemischen Untereinheiten (z. B. die einzelnen Polypeptidketten in der Proteinhülle des Virus) untersucht wurden, ist die wahrscheinlichste Interpretation, die in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Röntgenkleinwinkelstreuung und der elektronenmikroskopischen Untersuchungen steht, daß die Struktureinheiten in zwölf Gruppen von fünf identischen Polypeptidketten (um die Achsen der fünffachen Symmetrie) angeordnet sind. Weitere 20 Gruppen von sechs Polypeptidketten sind um die Achsen der dreifachen Symmetrie angeordnet. Hieraus ergeben sich insgesamt 180 Polypeptidketten in jedem Viruspartikel. Das Molekulargewicht dieser Peptide beträgt beim Poliovirus etwa 25 000. Die Proteinhülle bildet eine feste und äußerst stabile Struktur, die die infektiöse RNS schützt. Die RNS übt also keinen Einfluß auf die Oberflächeneigenschaften des Virus, wie z. B. die elektrophoretische Beweglichkeit, die serologische Spezifität usw., aus. Man hat die Virus-RNS isolieren können und nachgewiesen, daß sie auch bei Fehlen von Protein infektiös ist. Jedes infektiöse Poliovirion enthält ein einziges RNS-Molekül mit einem Molekulargewicht von 2,5 Millionen. Über die Bindung der RNS an das Protein weiß man nur wenig. Durch Anwendung der Polyacrylamidgel-Elektrophorese wurden die morphologischen und kristallographischen Untersuchungen des Poliovirus erweitert. Hierbei werden gereinigte Viruspartikel durch Anwendung von Detergentien gespalten; die Spaltprodukte können dann durch Elektrophorese in Polyacrylamidgel untersucht werden (siehe S. 446). Außer den Strukturproteinen und den Virion-assoziierten Enzymen konnten aus einigen großen Viren (Vaccinia-, Reo-, Orthomyxo-, Paramyxo-, Oncornaviren) andere virusspezifische Proteine (Enzyme) wie z. B. Polymerasen und Nucleasen isoliert werden.

Außerdem wurden in infizierten Zellen Proteine isoliert, die eine Replikation der Virusnucleinsäure ermöglichen oder die Funktionen und Strukturen der Wirtszelle verändern können. Ein Beispiel für die erste Gruppe von Proteinen ist ein neues virusspezifisches Enzym, Thymidinkinase, in Herpes- und Vacciniavirus-infizierten Zellen. Als Beispiele für die zweite Gruppe können virusspezifische Genprodukte angeführt werden, welche die Struktur der Wirtszellmembran (z. B. Myxoviren, Arboviren) verändern.

Virusnucleinsäure

Viren besitzen entweder RNS oder DNS (jedoch nicht beide Arten von Nucleinsäuren), die die zur Vermehrung des Virus erforderlichen genetischen Informationen enthalten. Eine Ausnahme machen die Oncornaviren, die außer RNS geringe Mengen DNS enthalten können. Die in einem Virion vorhandene Nucleinsäure kann entweder als Einzelstrang (z. B. Picornaviren, Parvoviren) oder als Doppelstrang (Herpesviren, Reoviren) vorliegen. Das Molekulargewicht und die Art der vorhandenen Nucleinsäure ist für jede Virusgruppe spezifisch (Tabelle 27-1). Die Molekulargewichte der als Virusgenom dienenden RNS liegen zwischen 1×10^6 (Bromgras-Mosaikvirus) und $10 - 15 \times 10^6$ (Reoviren, Oncornaviren), die der entsprechenden DNS zwischen $1,2 - 1,8 \times 10^6$ (Parvoviren) bis 160×10^6 (Poxviren).

Die Art der Nucleinsäure kann durch verschiedene Methoden festgestellt werden, wobei entweder das intakte Viruspartikel oder die freie Nucleinsäure untersucht wird. Sowohl die Art der Nucleinsäure als auch die Sekundärstruktur kann durch eine einfache Färbung mit fluoreszierenden Farbstoffen ermittelt werden. Nach Fixierung mit einem alkoholischen Fixierungsmittel werden die Ausstriche der gereinigten Viruspräparate mit Acridinorange (pH 4,0; Farbstoffkonzentration 0,01 %) gefärbt; die vorhandene Nucleinsäure wird aufgrund ihres färberischen Verhaltens und durch enzymatische Abbaueversuche bestimmt (siehe Tabelle 27-4).

Tabelle 27-4. Identifizierung von Virusnucleinsäuren mit Acridinorange (AO)

Virusausstrich (nach Carnoy fix.)	Farbreaktion (0,01 % AO; pH 4,0)	Enzym- empfindlichkeit	
		DNase	RNase
Doppelstrang- DNS-Virus	gelb	+	-
Einzelstrang- DNS-Virus	rot	+	-
Einzelstrang- RNS-Virus	rot	-	+
Doppelstrang- RNS-Virus	gelb	-	+

Uranylacetat hat sich als spezifisches Kontrastierungsmittel zum Nachweis von DNS erwiesen, RNS besitzt keine Affinität zu dieser Substanz; die eingetretene Bindung des Uranylacetats kann elektronenmikroskopisch festgestellt werden. Um die physikochemischen Eigenschaften eines Virus zu bestimmen, muß jedoch die Nucleinsäure aus dem Virion isoliert werden. Das hierbei übliche Vorgehen besteht in 1. einer Lyse des Virus-hüllproteins durch ein geeignetes Detergens (z. B. Natriumdodecylsulfat) und 2. einer Beseitigung des Proteins durch Pronase und Phenol.

Nach der Reinigung kann die Nucleinsäure aufgrund des vorliegenden Zuckers (Ribose oder Desoxyribose), der Strangform, der Größe und der Zusammensetzung mit Hilfe verschiedener Techniken (Nucleasebehandlung, Zentrifugation in neutralen oder alkalischen Lösungen von Cäsiumsalzen, Säulenchromatographie, Elektronenmikroskopie usw.) charakterisiert werden. Die Sequenz und das Verhältnis der Nucleotide ist für jede Virusnucleinsäure charakteristisch und unterscheidet sie von einer anderen Virusnucleinsäure. Eine Methode zur echten Identifizierung einer Virusnucleinsäure ist die Feststellung des Guanin + Cytosin-(G + C)-Gehalts. Im allgemeinen wird der G + C-Gehalt aus der Analyse der Basenzusammensetzung und aus dem Verhältnis dieser G + C-Bestimmung zu der Dichte der DNS in CsCl und zum Schmelzpunkt der DNS errechnet.

Obwohl die meisten Virusgenome nach ihrer Entfernung aus der schützenden Proteinhülle recht fragil sind, können viele Nucleinsäuremoleküle elektronenmikroskopisch untersucht werden, ohne daß ihre Struktur zerstört wird. Die Moleküle werden hierzu in einem besonderen Film aus einem inerten Protein aufgefangen und ausgebreitet, so daß ihre komplette Länge gemessen werden kann. Während die meisten Virus-Nucleinsäuren linear angeordnet sind, liegt das Molekül in einigen Fällen (Bakteriophagen ϕ -X-174 und PM-2, Papovaviren) in Ringform vor — bei den Papovaviren und PM-2 als Doppelstrang-Ring, wobei dieser Ring häufig noch gedreht ist (siehe Abb. 27-3). Wenn man lineare Dichten von etwa 2×10^6 pro Mikrometer für die doppelsträngige Nucleinsäure und von 1×10^6 für Einzelstrang-RNS annimmt, so können die Mol.-Gewichte der Virusgenome aus direkten Messungen berechnet werden (siehe Tabelle 27-1). Eine *in vitro*-Synthese kleiner Virusgenome aus RNS und aus DNS wurde in einigen Fällen erzielt (siehe S. 449).

Man kennt verschiedene Formen der Virus-RNS. So bestehen die RNS-Genome der Myxoviren und der Reoviren z. B. aus einzelnen Abschnitten, während die RNS der Picorna- und Togaviren ein einziges lineares

Molekül ist. Die Oncornaviren andererseits enthalten ein langes RNS-Molekül, das durch verschiedene Eingriffe, die Wasserstoffbrückenbindungen zerstören können (Hitze, Dimethylsulfoxid), leicht in kleinere Untereinheiten zerlegt werden kann. Die isolierte RNS der Picornaviren ist infektiös und das gesamte Molekül übt innerhalb der infizierten Zelle die Funktion einer messenger-RNS aus. Eine Infektiosität der aus Myxo- oder Paramyxoviren isolierten RNS konnte dagegen bisher nicht bewiesen werden. Diese Beobachtung kann mit der Feststellung zusammenhängen, daß bei diesen Viren im Virion eine RNS-Polymerase getragen wird. In der infizierten Zelle werden die segmentierten RNS-Moleküle in verschiedene komplementäre RNS-Moleküle transkribiert, von denen jede als mRNA dient. Eine genauere Vorstellung über die molekularen Ereignisse nach Infektion mit verschiedenen Viren ergab sich aus der kürzlich gewonnenen Möglichkeit der molekularen Hybridisierungstechnik (DNS mit DNS, DNS mit RNS, RNS mit RNS). Hierdurch kann man sowohl das Ausmaß der Transkription des Virusgenoms in der infizierten Zelle als auch die Verwandtschaft zwischen verschiedenen Viren ermitteln.

Die Anzahl in einem Virus vorhandener Gene kann geschätzt werden (Tabelle 27-1), wenn man folgendes annimmt: 1. der genetische Code ist ein Triplet und zeigt keine Überlappungen; 2. eine Nucleinsäure mit einem Molekulargewicht von 10^6 , die als Einzelstrang (d.h. in der replikativen Form) vorliegt, besteht aus 6000 Nucleotiden; 3. die Virusgene codieren Proteine, die jeweils aus etwa 200 Aminosäuren bestehen.

Viruslipide

Man weiß seit längerer Zeit, daß eine Reihe verschiedener Viren Lipide als Teil ihrer Struktur enthalten. Durch elektronenmikroskopische Untersuchungen des mit einer Hülle versehenen Sindbis-Virus ergibt sich ein Strukturmodell, das in Abb. 27-4 angegeben ist. Diese Lipid-haltigen Viren sind gegen die Einwirkung von Äther und anderen

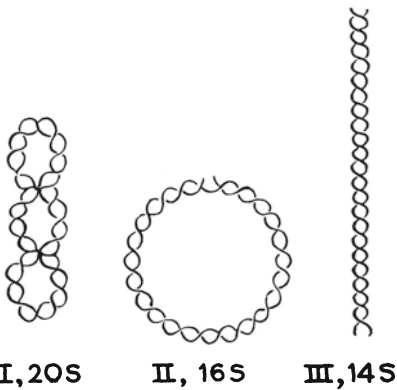


Abb. 27-3. Schematische Darstellung der gedrehten („supercoiled“) (I), zirkulären (II) und linearen (III) Form der Polyomavirus-DNS (Vinnograd). Jede morphologische Form besitzt einen charakteristischen Sedimentationskoeffizienten (S). Innerhalb des Virion liegt das Molekül wahrscheinlich in der Form I vor

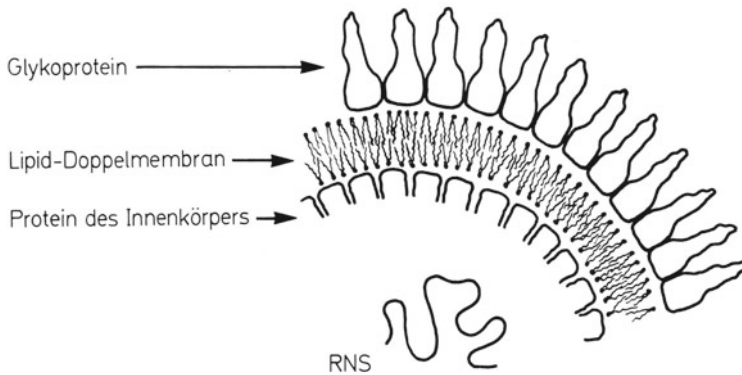


Abb. 27-4. Strukturmodell des Sindbisvirus (Vorschlag von Harrison et al.)

organischen Lösungsmitteln empfindlich (Tabelle 27-1), da die Spaltung des Virions oder der Verlust des Lipids offenbar mit einem Verlust der Infektiosität verknüpft ist. Einige Hinweise lassen vermuten, daß der Lipidanteil der Virushülle bei der Festlegung des Ortes, an dem das Virus durch Sprossung durch die Zellmembran tritt, beteiligt ist. Viren, die keine Lipide enthalten, sind gegen die Einwirkung von Äther resistent. Nach kürzlich erhobenen Untersuchungsbefunden gleicht die Lipidzusammensetzung der Virushülle den Lipiden der Wirtszellmembran, durch die das Virus hindurchtritt (Abb. 27-5 und 40-3). In einer Untersuchungsreihe wur-

de die Lipidzusammensetzung von dem Paramyxovirus SV-5 nach Vermehrung in verschiedenen Zellkulturen untersucht. Hierbei wurden Zellstämme gewählt, die sich in der Phospholipid- und Glykolipidzusammensetzung deutlich voneinander unterschieden. Nach diesen Untersuchungsbefunden besitzt die Hülle von SV-5 die gleiche Phospholipid- und Glykolipidzusammensetzung wie die Plasmamembran der Wirtszelle, durch die Virus aus der Zelle austritt. Die Lipide einer Klasse — die Ganglioside — wurden jedoch beseitigt oder deutlich reduziert, wenn die Membran der Wirtszelle in die Virushülle eingebaut wurde.

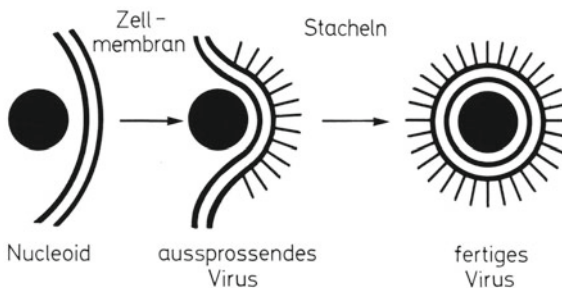


Abb. 27-5. Schema der Bildung eines Viruspartikels der Arbovirusgruppe A.

Links: Das Nucleoid wurde an anderer Stelle im Cytoplasma zusammengesetzt und erreicht die Zellmembran, die als dreischichtige Membran dargestellt ist.

Mitte: Sobald sich das Nucleoid durch Knospung durch die Zellmembran entwickelt, wird eine äußere Hülle, die mit stachelartigen Fortsätzen besetzt ist, angefügt.

Rechts: Das fertige Virus besteht aus einem Nucleoid, das in eine Membran eingehüllt und mit Stacheln umgeben ist, und liegt frei im Extracellularraum.

Das Schema ist in etwa maßstabgerecht gezeichnet, das Nucleoid besitzt einen Durchmesser von 28 nm, die Zellmembran („unit membran“) ist 7,5 nm dick und vom Nucleoid durch einen engen Spalt (1 bis 3 nm) getrennt, die Stacheln sind 11 nm lang, so daß das gesamte Viruspartikel einen Durchmesser von etwa 70 nm aufweist (Acheson und Tamm).

Bei einer Untersuchung über die Fettsäure-Zusammensetzung des Influenzavirus, das in Hühnerembryonalzellkulturen vermehrt worden war, war ein Unterschied zwischen dem isolierten Virus und der Wirtszellmembran nachweisbar; dieser Befund deutet auf zumindest einige wesentliche Unterschiede in dem Lipidaufbau zwischen Wirtszelle und Virus. Bei einer weiteren Untersuchung mit dem Virus der vesiculären Stomatitis (VSV), das ebenfalls durch Sprossung an der Plasmamembran freigesetzt wird, zeigte sich dagegen eine gleiche Phospholipid-Zusammensetzung bei Virus und Wirtszelle. In zusätzlichen Untersuchungen wurden die Phospholipide des Virus der atypischen Geflügelpest, des Sindbis-Virus, des Rous-Sarkomvirus und des Sendai-Virus — jeweils nach Vermehrung in Hühnerembryonalzellkulturen — mit den Phospholipiden der Plasmamembranen dieser Zellen verglichen. Die Phospholipid-Zusammensetzung aller vier Viren erwies sich als gleich, sie unterschied sich jedoch von den Phospholipiden der Wirtszellmembran. Hiernach kann man vermuten, daß zur Sprossung während der Virusreifung oder zur Adsorption an die Wirtszelle im Beginn der Penetration des Virus eine charakteristische Phospholipid-Zusammensetzung in der Virushülle für eine bestimmte Zellart notwendig ist.

Kürzlich durchgeführte Untersuchungen über die Phospholipid-Zusammensetzung des Herpes simplex-Virus — dieses Virus entwickelt sich durch Sprossung an der Zellkernmembran — legen die Vermutung nahe, daß die Phospholipid-Zusammensetzung des gereinigten Virions der Zusammensetzung der inneren Kernmembran ähnlicher ist als den entsprechenden Werten der äußeren Kernmembran oder der Cytoplasmamembran. In diesem Fall könnte die Kenntnis der Phospholipid-Zusammensetzung der Virushülle klären, ob die Virushülle aus der inneren oder der äußeren Zellkernmembran stammt.

Virusinfektionen beeinflussen den Stoffwechsel der Phospholipide in der Wirtszelle. So wurde in zahlreichen Veröffentlichungen über einen gesteigerten Stoffwechsel von Phospho-

lipiden in Zellkulturen nach Infektion mit Adenoviren und Picornaviren (Polioviren, Mengovirus) berichtet.

Glykosphingolipide sind ein wesentlicher Anteil der äußeren oder Cytoplasmamembranen der meisten tierischen Zellen. Werden diese, in vitro kultivierten Zellen entweder durch SV-40, Polyoma- oder Rous-Sarkomviren transformiert, so findet man deutliche Änderungen der relativen Anteile der verschiedenen Glykosphingolipide. Es geht auch die Menge an Enzymen zurück, die für die Anheftung von Zuckern an Glykolipide verantwortlich sind. Man hat vermutet, daß die Änderung in der Zusammensetzung der Glykosphingolipide mit dem Verlust der Kontakthemmung und der Änderung der Oberflächenantigenität zusammenhängt, die nach virusbedingten Zelltransformationen auftreten. Um die Bedeutung dieser Änderungen der Glykolipid-Zusammensetzung nach Transformationen verstehen zu können, müssen jedoch weitere Untersuchungsbefunde abgewartet werden, da auch nicht-transformierte Zellen Unterschiede in ihrer Glykolipid-Zusammensetzung zeigen, wenn sie in unterschiedlicher Zelldichte gezüchtet werden; die Veränderungen bei den transformierten Zellen sind jedoch unabhängig von der Zelldichte.

Viruskohlenhydrate

Außer Lipiden und Proteinen enthält die Virushülle auch Kohlenhydrate in Form von Glykoproteiden; diese Glykoproteide können verschiedene Monosaccharide (Glucosamin, Fucose, Galaktose, Mannose) enthalten. Das Glykoprotein der Hühnertumoviren ist entweder ein Teil des typenspezifischen und Untergruppen-spezifischen Antigens oder ist identisch mit diesem Antigen. Das nach der Infektion mit Herpesviren gebildete Glykoprotein ist im Virion und den Membranen der infizierten Zelle vorhanden, seine Synthese wird offenbar vom Virusgenom kontrolliert. Das Ausmaß der Glykosylierung der Virusproteine wird dagegen in einem gewissen Ausmaß vom Genom der

Wirtszelle determiniert. Untersuchungen der Glykoproteide der Arbo- und Influenzaviren deuten auf eine Variabilität der Kohlenhydrate der Virusmembran in Abhängigkeit von der Wirtszelle, in der das Virus vermehrt wurde, hin. Die Bedeutung des Zell- und des Virusgenoms bei der Steuerung der Glykosylierung der Virusmembranen ist jedoch eine offene Frage.

Größenbestimmung von Viren

Ultramikroskopische Größe und Filtrierbarkeit durch Filter, die Bakterien zurückhalten, gehören zu den klassischen Attributen der Viren. Da jedoch einige Bakterien kleiner als die großen Viren sind, kann man die Filtrierbarkeit nicht länger als die charakteristische Eigenschaft von Viren bezeichnen. Die folgenden Methoden werden zur Größenbestimmung von Viren und ihren Bestandteilen verwendet.

Filtration durch Kollodiummembranen mit abgestufter Porenweite

Die Membranen mit großer Porenweite lassen die größten Viren ohne weiteres hindurchtreten; durch die mit den engsten Poren treten dagegen nur kleine Moleküle wie Wasser und Salze hindurch, während kleine Viren und sogar Proteinmoleküle zurückgehalten werden. Wenn nun eine Virussuspension durch Membranen mit bekannter, abgestufter Porenweite hindurchgegeben wurde, so kann der ungefähre Durchmesser jedes Virus dadurch bestimmt werden, daß man diejenigen Membranen ermittelt, durch welche die infektiösen Einheiten hindurchtreten können, und diejenigen Membranen, welche die Viren zurückhalten. Die Größe der limitierenden mittleren Porenweite, multipliziert mit 0,64, gibt den Durchmesser der Viruspartikel an. Als limitierende mittlere Porenweite bezeichnet man entweder den Porendurchmesser einer Membran, durch die eine Virussuspension eben noch hindurchtreten kann

oder man bezeichnet mit diesem Ausdruck den Durchschnitt der mittleren Porenweiten von zwei Membranen, von denen die eine die betreffende Virussuspension hindurchtreten läßt, während die andere das Virus vollständig zurückhält.

Sedimentation in der Ultrazentrifuge

Wenn man eine Suspension von Partikeln in einer Flüssigkeit stehen läßt, so fallen diese Partikel mit einer Geschwindigkeit auf den Boden des Gefäßes, die ihrer Größe proportional ist. In einer Ultrazentrifuge können Kräfte von dem mehr als 100 000fachen der Schwerkraft angewendet werden, um die Partikel auf den Boden des Gefäßes zu schleudern. Hierdurch wird die entsprechende Sedimentationsgeschwindigkeit wesentlich gesteigert. Die Beziehung zwischen der Größe der Partikel und ihrer Sedimentationsgeschwindigkeit erlaubt, die Partikelgröße zu bestimmen.

Direkte Beobachtung im Elektronenmikroskop

Im Elektronenmikroskop werden Elektronen anstelle von Lichtquellen und elektromagnetische Linsen anstelle von Glaslinsen verwendet. Der Elektronenstrahl hat eine sehr viel kürzere Wellenlänge als sichtbares Licht, so daß man hiermit auch Objekte, die sehr viel kleiner sind als die Wellenlänge des sichtbaren Lichtes oder des üblichen Ultraviolettlichtes, darstellen kann. Außerdem ist es möglich, Viren nicht nur in Präparaten aus Gewebsextrakten abzubilden, sondern auch in situ durch Ultradünnschnitte infizierter Zellen.

Bestrahlung mit ionisierenden Strahlen

Treten geladene Partikel wie z.B. β -Strahlen, α -Partikel oder Deuteronen durch ein Virus hindurch, so hat dies einen Energieverlust in Form einer primären Ionisation zur Folge. Die Freisetzung einer Ionisation innerhalb

eines Viruspartikels inaktiviert bestimmte biologische Eigenschaften des Virus wie Infektiosität, Antigenität und Hämagglutination.

Aus der Zahl der Ionisationen pro Volumeneinheit oder Flächeneinheit, durch die die gesamte jeweilige biologische Aktivität zerstört wird (bis auf 37%), kann das durchschnittliche empfindliche Volumen oder die empfindliche Fläche pro Ionisation bestimmt werden. Unter diesen Bedingungen erfolgt — entsprechend der Poisson-Verteilung — im Durchschnitt ein Treffer auf ein empfindliches Zentrum, so daß das Volumen oder die Fläche pro Ionisation gleich dem Volumen oder der Fläche der jeweils gemessenen zerstörbaren Einheit ist. Wenn man das Volumen oder die Fläche kennt, so kann man ohne weiteres den Durchmesser oder die Fläche der infektiösen Einheit oder einer anderen biologischen Eigenschaft in dem Viruspartikel errechnen. Besitzt das Viruspartikel noch andere biologische Eigenschaften außer der Infektiosität, so ist die Geschwindigkeit des Verlustes jeder einzelnen Eigenschaft der Größe der betreffenden Einheit, die die Eigenschaft determiniert, proportional. Auf diesem Wege hat man die Größe des komplementbindenden Antigens und des Hämagglutinins innerhalb des jeweiligen Viruspartikels bei einzelnen Virusarten bestimmt.

Vergleichsmaßstäbe (siehe Tabelle 27-1)

Zum Vergleich muß daran erinnert werden, daß

- A. Staphylokokken einen Durchmesser von etwa 1 000 nm haben,
- B. Bakterienviren (Bakteriophagen) eine Größe zwischen 10—100 nm aufweisen. Hierzu gehören sphärische und hexagonale Viren mit kurzen oder langen Schwänzen,
- C. bekannte Proteinmoleküle einen Durchmesser von 5 nm (Serumalbumin), 7 nm (Globulin) bis zu 23 nm (einige Hämocyanine) besitzen.

Es muß darauf hingewiesen werden, daß Partikel mit einer zweifachen Differenz in ihrem Durchmesser eine achtfache Differenz in ih-

rem Volumen aufweisen. So ist die Masse eines Poxvirus etwa 1000fach größer als die eines Polioviruspartikels, und die Masse eines kleinen Bakteriums ist etwa 50000fach größer.

Im folgenden Text wird die Bezeichnung Nanometer — in Übereinstimmung mit der gültigen Terminologie — verwendet, um eine Länge von 10^{-9} Meter anzugeben. Die Bezeichnung Nanometer (nm) tritt an Stelle der alten Bezeichnung Millimicron ($m\mu$) und die Bezeichnung Micrometer (μm ; 10^{-6} meter) an Stelle der alten Bezeichnungen Micron (μ).

Reinigung von Viruspartikeln

Durch die Anwendung der Gewebekultur für die Vermehrung und die genaue Zählung von Viren konnten Mengen von Viren gewonnen werden, die früher niemals für Versuche der Virusreinigung zur Verfügung standen. Verschiedene Techniken stehen zur Verfügung, deren allgemeine Grundlage jedoch stets gleich ist: Konzentration der Viruspartikel durch Methoden der Präzipitation und Ultrafiltration, Abtrennung von Wirtszellmaterial durch Differentialzentrifugation oder Säulenchromatographie.

Das zur Gewinnung hochgereinigter Poliovirus suspensionen entwickelte Mehrschrittverfahren kann als gutes Beispiel dienen: 1. Präzipitation des Virus aus der Gewebekulturflüssigkeit mit 15 % Methylalkohol bei pH 4,0 und Elution des Präcipitates mit $1/50$ Volumen einer 1 m NaCl-Lösung bei pH 9,0. 2. Zwei Extraktionen mit n-Butanol. 3. Erneute Präzipitation des Virus wie in 1. jedoch ohne Methanol. 4. Einmaliges hoch- und niedertouriges Zentrifugieren. 5. Einwirkung von kristalliner Ribo- und Desoxyribonuclease. 6. Abschließende hoch- und niedertourige Ultrazentrifugation.

Ein Beweis für den hohen Grad der Homogenität gereinigter Viruspräparate, die 50 000-fach gegenüber der Viruskonzentration im Ausgangsmaterial angereichert wurden, ist ihre Fähigkeit zur Kristallisation.

Gleichgewichtszentrifugation im Dichtegradienten

Viren können auch durch hochtouriges Zentrifugieren in konzentrierten Lösungen von Cäsiumchlorid (CsCl), Kaliumtartrat, Kaliumcitrat oder Saccharose gereinigt werden. Für den Gradienten wählt man zweckmäßigerweise ein Material, das für das Virus möglichst wenig toxisch ist. Der Dichtegradient wird entweder vor Beginn der Zentrifugation durch geeignete Maßnahmen gebildet oder er bildet sich, wie z. B. bei CsCl, während des Zentrifugierens aus. Die Viren wandern jetzt unter Einwirkung der Zentrifugalkraft so lange, bis die Dichte des Lösungsmittels mit ihrer eignen Dichte („buoyant density“) im Gleichgewicht steht, wobei die Viruspartikel eine sichtbare Bande bilden können. Diese virushaltigen Banden können dann durch Anstechen des Bodens der aus Kunststoff hergestellten Zentrifugenröhrchen entnommen und auf ihre biologische Aktivität untersucht werden. Viren mit kubischer Symmetrie bilden im Cäsiumchlorid eine gut sichtbare Bande, da sie in Gegenwart dieses Salzes recht stabil sind. Für dieses Verfahren kann ein relativ ungereinigtes Ausgangsmaterial verwendet werden, da sie bei einer Dichte zwischen $1,3$ und $1,4 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ eine Bande bilden, während Zellproteine bei $1,25$ flotieren und freie DNS eine Bande bei $1,7 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ ausbildet. Viren mit einer Helixsymmetrie sind im allgemeinen in Gegenwart von CsCl instabil, man hat sie in Kaliumtartrat, Kaliumcitrat oder Saccharose entsprechend untersuchen können. Mäuseleukämieviren bilden in Saccharose oder in Kaliumcitrat bei $1,16$ eine Bande, die meisten Myxoviren bei einer Dichte von $1,20$.

Identifizierung eines Partikels als Virus

Bevor physikalische Partikel, die aus verschiedenen Geweben gewonnen wurden, als Viruspartikel angesprochen werden können, sollten sie möglichst mehreren der folgenden

Kriterien entsprechen: 1. Die Partikel können nur aus infizierten Geweben oder Zellen isoliert werden. 2. Partikel verschiedener Herkunft sind identisch, gleichgültig in welcher Zellart sich das Virus vermehrt hat. 3. Die Infektiosität einer Viruspräparation ist der Anzahl der vorhandenen Viruspartikel direkt proportional. 4. Das Ausmaß der Zerstörung der Partikel durch chemische und physikalische Maßnahmen geht stets mit einem entsprechenden Verlust an Infektiosität einher. 5. Bestimmte Eigenschaften der infektiösen Viren und der physikalischen Partikel müssen identisch sein, wie z. B. das Sedimentationsverhalten in der Ultrazentrifuge und die pH-Stabilitätskurve. 6. Das Absorptionsspektrum der Partikel im Ultraviolettbereich muß mit dem Ultraviolettpektrum, das zur Inaktivierung des Virus führt, zusammenfallen. 7. Antiseren, die gegen das infektiöse Virus hergestellt wurden, müssen auch mit den als charakteristisch angesehenen Partikeln reagieren und umgekehrt. 8. Die Partikel müssen in der Lage sein, in vivo die charakteristische Erkrankung hervorzurufen (falls die Durchführung derartiger Versuche möglich ist). 9. Die Passage derartiger Partikel in Gewebskulturen muß zur Produktion einer Nachkommenschaft mit den biologischen und serologischen Eigenschaften des Virus führen.

Verhalten gegenüber physikalischen und chemischen Einflüssen

Hitze und Kälte

Die Infektiosität der Viren wird im allgemeinen durch 30 min langes Erhitzen auf 50 bis 60°C zerstört, obwohl es einige bemerkenswerte Ausnahmen hiervon gibt (z. B. Virus der Serumhepatitis, Adeno-Satellitenvirus, Scrapie-Virus).

Viren können bei Temperaturen unterhalb des Gefrierpunktes gelagert werden, einige kann man auch lyophilisieren und dann im getrockneten Zustand bei 4°C oder sogar bei

Zimmertemperatur aufbewahren. Diejenigen Viren, die durch eine Lyophilisierung nicht inaktiviert werden, besitzen beim Erhitzen im getrockneten Zustand eine größere Hitzeresistenz als sonst. Mit einer Hülle versehene Viren verlieren nach längerer Lagerung auch bei -90°C meistens ihre Infektiosität, sie sind vor allem auch gegen wiederholtes Einfrieren und Auftauen empfindlich. Durch Dimethylsulfoxid (DMSO) — bereits in einer Konzentration von 5% — werden diese Viren wirksam stabilisiert.

Stabilisierung der Viren durch Salze

Viele Viren können durch Salze in molarer Konzentration stabilisiert werden. Das bedeutet, daß sie auch durch einstündiges Erhitzen auf 50°C nicht inaktiviert werden können. Die Ursache für den stabilisierenden Effekt der Salze ist nicht bekannt. Die Viren werden vor allem durch die in Tabelle 27-5 angegebenen Salze stabilisiert.

Die Stabilität des Virus ist von besonderer Bedeutung bei der Herstellung der Impfstoffe gegen Poliomyelitis, da die übliche — nicht mit einem Stabilisatorzusatz versehene — Vaccine bei Temperaturen unterhalb des Gefrierpunktes gelagert werden muß, um die Wirksamkeit zu erhalten. Nach dem Zusatz eines Salzes zur Stabilisierung des Virus kann die Wirksamkeit des Virus viele Wochen lang bei höheren Temperaturen, wie sie in vielen Teilen der Welt vorherrschen, erhalten werden. Außerdem kann das Erhitzen vieler Viruspräparationen in Gegenwart hoher Salzkonzentrationen dazu benutzt werden, um verunreinigende Viren zu beseitigen. So führt das Erhitzen einer Poliovirususpension

in 1 m MgCl_2 zu einer Inaktivierung von Affenviren wie z.B. SV-40, „foamy virus“ und Herpes B-Virus, hat jedoch auf die Infektiosität des Poliovirus keinen Effekt.

pH

Viren sind im allgemeinen in dem pH-Bereich von 5,0 bis 9,0 stabil. Bei der Hämagglutination entscheiden jedoch Abweichungen von wenigen Zehnteln pH-Einheiten über den negativen oder positiven Ausfall der Reaktion, da die Hämagglutination durch elektrostatische Kräfte bedingt ist.

Bestrahlung

Ultraviolett- und Röntgenbestrahlung sowie Bestrahlung mit energiereichen Partikeln inaktiviert Viren. Die Dosis ist für alle Virusarten individuell verschieden.

Vitalfarbstoffe

Vitalfarbstoffe, wie z.B. Toluidinblau, Neutralrot und Acridinorange, können in unterschiedlichem Ausmaß in Viren eindringen. Diese Farbstoffe verbinden sich mit der Virusnucleinsäure und das Virus ist dann — bei entsprechender Exposition — durch sichtbares Licht inaktivierbar. Man kann entsprechend dieser photodynamischen Inaktivierung eine Reihe bilden, die von den Viren, die durch diese Farbstoffe nicht penetrierbar und deshalb auch nicht inaktivierbar sind (z.B. Polioviren), über solche Virusarten, bei denen dies in mäßigem Umfang der Fall ist (Adenoviren, Reoviren) bis zu jenen reicht, die rasch inaktiviert werden (Herpesvirus, Vacciniavirus). Werden Viren,

Tabelle 27-5

1 Molar MgCl_2	1 Molar MgSO_4	1 Molar Na_2SO_4
Picomaviren Polioviren Echoviren Coxsackieviren Rhinoviren Reoviren	Myxoviren Influenzaviren Paramyxoviren Parainfluenzaviren Masernvirus Rötelnvirus	Herpesviren Herpes simplex-Virus

in die Farbstoffe nicht penetrieren können (z.B. Polioviren), in der Dunkelheit in Gegenwart von Vitalfarbstoffen vermehrt, so bauen sie diesen Farbstoff in ihre Nucleinsäure ein und sind dann gegenüber einer photodynamischen Inaktivierung empfindlich. Das Virushüllprotein bleibt hierdurch unbeeinträchtigt. Die photodynamische Inaktivierung wird seit kurzem auch zur Behandlung herpetischer Läsionen verwendet.

Ätherempfindlichkeit

Die Ätherempfindlichkeit hat sich als nützlich zur Unterscheidung der Viren mit Lipidhaltigen Hüllen von den anderen Viren erwiesen. Die folgenden Viren werden durch Äther inaktiviert: Herpes-, Orthomyxo-, Paramyxo-, Rhabdo-, Corona-, Arena-, Oncorna- und die meisten Arboviren. Die folgenden Viren sind resistent gegen Äther: Parvo-, Papova-, Adeno-, Pox-, Picorna-, Orbi- und Reoviren.

Virus-Lipid-Wechselwirkung

Die lipophile Affinität von Viren wurde durch Bestimmung der Adsorptionskapazität verschiedener Lipide, ferner durch Ermittlung der Infektiosität verschiedener Virus-Lipid-suspensionen untersucht. Zu den lipophilen Viren gehören Influenza-, Vaccinia- und Herpesvirus, zu den lipophoben Viren Polio-, Echo- und Coxsackieviren. Die lipophile Eigenschaft eines Virus ist offenbar mit seinem Lipidgehalt korreliert (25 % bei Influenzaviren, Fehlen von Lipiden bei Polioviren), der wiederum durch eine vielleicht vorhandene Virushülle bedingt ist, da hier die meisten Viruslipide vorhanden sind.

Antibiotica

Antibakteriell wirksame Antibiotica und Sulfonamide sind gegenüber echten Viren unwirksam. Die Erreger der Psittakose- LGV-Trachom-Gruppe sind dagegen, da sie keine echten Viren sind, gegenüber diesen Substan-

zen empfindlich. Rifampicin (und einige Derivate) hemmen die Polymerasen einzelner RNS- und DNS-Viren; für eine Virus-Chemotherapie erscheinen sie erfolgversprechend.

Stoffwechselanaloge oder Antibiotica, die mit der DNS- oder RNS-Synthese interferieren, hemmen die Virusvermehrung. Diese Antimetaboliten greifen jedoch auch in den Stoffwechsel der Wirtszelle ein und sind deshalb zu toxisch, um irgendeinen Wert als Chemotherapeuticum in der Therapie der meisten Virusinfektionen zu besitzen. Auf diesem Gebiet werden jedoch umfangreiche Forschungsarbeiten durchgeführt (siehe S. 458).

Antibakteriell wirkende Substanzen

Die bekannten bactericiden Substanzen sind nur gegen wenige Viren wirksam und es sind auch vergleichsweise hohe Chlorkonzentrationen erforderlich, um Viren zu zerstören. So ist z.B. die für Typhusausscheider empfohlene Chlorbehandlung von Faeces unzureichend, um Polioviren in den Faeces abzutöten. Verdünnte Salzsäure und Formalin zerstören auch resistente Virusarten wie z.B. Polio- und Coxsackieviren. Organische Jodverbindungen sind verhältnismäßig unwirksam gegen Viren, da bereits Spuren organischer Substanzen das aktive Jod rasch beseitigen.

Züchtung der Viren

Im Beginn der Virusforschung konnten Viren nur im Tierversuch festgestellt werden; eine rasche quantitative Arbeit war häufig unmöglich. So waren z.B. Untersuchungen über die Poliomyelitis so lange nur in begrenztem Umfang möglich, als Viren ausschließlich durch Inoculation von Affen nachgewiesen werden konnten. Heute können viele Virusarten in embryonierten Hühnereiern oder in Zellkulturen unter streng kontrollierten Bedingungen vermehrt werden.

Hühnerembryo

Die Virusvermehrung in dem bebrüteten Hühnerei kann zum Tod des Embryos (z. B. bei Encephalitisviren), der Bildung von Pokken oder Plaques auf der Chorioallantois-membran (z. B. bei Herpes-, Pocken-, Vacciniaviren), der Bildung von Hämagglutini-nen in den Embryonalflüssigkeiten oder -ge-weben (z. B. bei Influenzaviren) oder ledig-lich zur Bildung von infektiösem Virus (z. B. bei Poliovirus Typ 2) führen.

Gewebekultur

In Gewebekulturen (meist aus Zellen vom Menschen oder von Affen hergestellt) wach-sen die Wirtszellen an der Wand des Reagens-glasses und können somit ohne Schwierigkei-ten betrachtet werden. Die Vermehrung des Virus kann durch folgende Untersuchung verfolgt werden:

- A. Der cytopathische Effekt oder die Ne-krose der Zellen in der Gewebekultur (Polio-, Herpes-, Masern-, Adenovirus, Cytomegalie-virus).
- B. Verminderung des Zellstoffwechsels oder die mangelnde Fähigkeit der Virus-infizier-ten Zelle, Säure zu bilden (z. B. Enteroviren).
- C. Auftreten eines Hämagglutinins (z. B. Mumps-, Influenzaviren) oder eines komple-mentbindenden Antigens (z. B. Polio-, Vari-cellen-, Masernviren).
- D. Adsorption von Erythrocyten an infizier-te Zellen, die als Hämadsorption bezeichnet wird (z. B. Influenza-, Parainfluenzaviren). Diese Reaktion wird positiv, bevor cytopathi-sche Veränderungen feststellbar sind, und kann in Einzelfällen das einzige Verfahren zur Fest-stellung der Anwesenheit von Viren sein.
- E. Interferenz eines nicht-cytopathogenen Virus (z. B. Rötelnvirus) mit der Vermeh-rung und der cytopathogenen Wirkung eines zweiten „Indikator-“virus (z. B. Echovirus).
- F. Morphologische Transformation durch ein onkogenes Virus (z. B. SV-40, Rous-Sar-komvirus), die meist vom Verlust der Kon-takthemmung und einer Anhäufung von Zel-len in scharf begrenzten Herden begleitet ist. Diese Veränderungen sind eine vererbare Eigenschaft der transformierten Zellen.

Virushämagglutination

Verschiedene Viren sind in der Lage, Ery-throcyten von Menschen, Hühnern oder an-deren Tieren zu agglutinieren. Entsprechend dieser hämagglutinierenden Wirkung kön-nen die Viren in drei verschiedene Gruppen unterteilt werden:

In der ersten Gruppe werden die Myxoviren zusammengefaßt. Das Hämagglutinin dieser Viren ist ein integraler Bestandteil der Virus-hülle. Nachdem diese Viren Erythrocyten agglutiniert haben, können sie sich spontan von den Zellen ablösen; diese Zellen kön-nen dann durch die gleiche Virusart nicht nochmals agglutiniert werden. Das freige-setzte Virus ist jedoch in der Lage, frische Zellen zu agglutinieren. Diese Beobachtung beruht auf der Zerstörung spezifischer Muco-polysaccharid-haltiger Rezeptoren auf der Erythrocytenoberfläche durch die enzyma-tische Wirkung (Neuraminidase) des Virus-partikels. Die Hämagglutinationsreaktion wird durch Mucopolysaccharide gehemmt, da diese Substanzen mit den Erythrocyten um die Viren konkurrieren.

Die Hämagglutination kann außerdem als Grundlage eines Reinigungsverfahrens für Myxoviren verwendet werden. Nachdem das Virus sich an Erythrocyten adsorbiert hat, wird es in einem kleinen Volumen einer Puf-ferlösung eluiert und die Erythrocyten durch Zentrifugation entfernt. Die zwischen Virus und Erythrocyten einsetzende Reaktion kann auch als Indikator der Vermehrung von Pa-ramyxoviren in embryonierten Hühnereiern oder in Gewebekulturen verwendet werden. Der Erythrocyt adsorbiert sich an infizierte Zellen (Hämadsorptionstest), diese Reaktion ist ohne Schwierigkeiten sichtbar.

Eine zweite Gruppe agglutiniert ebenfalls Erythrocyten, aber bei diesen Viren (Pox-viren) ist das Hämagglutinin vom intakten infektiösen Viruspartikel abtrennbar. Dieses Hämagglutinin, ein Phospholipid-Protein-komplex, ist kleiner als das Virus und sedi-mentiert aus diesem Grunde langsamer als das Viruspartikel.

Eine dritte Gruppe von Viren besitzt Hämagglutinine (Arboviren und andere Viren), die mit dem Virus offenbar identisch sind. Die Bindung zwischen Hämagglutinin und Erythrocyt ist irreversibel.

Das Virus ist offenbar mit dem Hämagglutinin identisch.

Die hämagglutinierende Fähigkeit einiger Viren ist die Grundlage schnell und einfach durchzuführender Methoden der Virus-Konzentrationsbestimmung. Da sowohl infektiöse als auch nicht-infektiöse Partikel Erythrocyten agglutinieren, wird hierdurch die Gesamtzahl der vorhandenen Viruspartikel bestimmt. Bei allen drei genannten Gruppen kann die Hämagglutination zur Bestimmung spezifischer Antikörper verwendet werden. Versetzt man die Hämagglutinine mit Antikörpern, so verlieren sie ihre Fähigkeit, Erythrocyten zu verklumpen; das Ausmaß der Hemmung ist ein Maß für die vorhandenen hämagglutinationshemmenden Antikörper.

Vermehrung der Viren

Viren benötigen lebende Zellen zu ihrer Vermehrung. Die Wirtszelle muß nicht nur die

Energie und den Syntheseapparat, sondern auch niedermolekulare Vorstufen zur Synthese der Virusproteine und Nucleinsäure zur Verfügung stellen. Die Virusnucleinsäure trägt die genetische Spezifität zur Codierung aller virusspezifischen Makromoleküle, die in charakteristischer Weise angeordnet sind. In vielen Fällen wird unmittelbar nach dem Eindringen der Virusnucleinsäure in die Wirtszelle der Zellstoffwechsel ausschließlich zur Synthese neuer Viruspartikel verwendet. In anderen Fällen werden dagegen die Stoffwechselfvorgänge der Wirtszelle trotz der Synthese von Virusproteinen und -nucleinsäuren nicht verändert. Die Fähigkeit eines Virus zur Kontrolle der Stoffwechselprozesse der Wirtszelle hängt sowohl von dem jeweiligen Virus als auch von der Wirtszelle ab.

Viren verfügen während des Vermehrungszyclus über zahlreiche unterschiedliche Möglichkeiten zur Übertragung der genetischen Information von einer Generation auf die nächste. Essentiell ist jedoch die Transkription spezifischer mRNS von der Virusnucleinsäure zur erfolgreichen Expression und Verdoppelung der genetischen Information. Nachdem dies erreicht ist, benutzen die Viren alle Zellkomponenten zur Translation der

Tabelle 27-6. *Transkription der Nucleinsäure bei verschiedenen Virusarten*

Art der Virusnucleinsäure	Intermediärprodukt	Art der mRNS	Beispiele	Bemerkungen
± DS DNS	kein	+ mRNS	die meisten DNS-Viren (z. B. Herpesvirus, T4-Bakteriophage)	
+ SS DNS	± DS DNS	+ mRNS	ϕ X-Bakteriophage	
± DS RNS	kein	+ mRNS	Reovirus	
+ SS RNS	– SS RNS	+ mRNS	Picornavirus	Virusnucleinsäure ist infektiös und dient als mRNS
+ SS RNS	kein	– mRNS	Rhabdoviren, Paramyxoviren, Myxoviren	Virusnucleinsäure ist nicht infektiös; Virion enthält RNS-Transkriptase
+ SS RNS	– DNS, ± DNS	? mRNS	Oncarnaviren	Virusnucleinsäure ist nicht infektiös; Virion enthält inverse Transkriptase

DS = Doppelstrang
SS = Einzelstrang

– = negativer Strang
+ = positiver Strang

± = Helix enthält einen positiven und einen negativen Strang

mRNS. Die verschiedenen Virusklassen verwenden verschiedene Wege zur Synthese der mRNS, die von der Struktur der Virusnucleinsäure abhängen. Einige Viren (z. B. Vacciniavirus, Rhabdoviren, Myxoviren, Paramyxoviren) besitzen Transkriptasen zur Synthese der jeweiligen mRNS. In Tabelle 27-6 sind verschiedene Wege der Transkription (nicht gleichbedeutend mit der Vermehrung) verschiedener Virusklassen zusammengefaßt. In diese Tabelle wurde auch die wahrscheinliche Art der Transkription der RNS von Oncornaviren aufgenommen, obwohl dieser Vorgang in vivo bisher nicht eindeutig geklärt werden konnte. Bei zahlreichen anderen Viren weiß man nur sehr wenig über den Mechanismus der Informationsübertragung. Die Virusvermehrung wurde zuerst bei den

sog. T-Phagen, die E. coli befallen, näher untersucht, da diese einen kurzdauernden Vermehrungszyklus (er dauert nur Minuten, während der entsprechende Cyclus bei tierischen Viren Stunden oder Tage benötigt) besitzen und außerdem mit ihnen leicht quantitativ gearbeitet werden kann. Diese Untersuchungen haben zu einem weitgehend kompletten Bild der Phagenvermehrung geführt. Dies trifft vor allem für die gradzahligen T-Phagen zu, die in Kapitel 9 näher dargestellt sind. Die entsprechenden Untersuchungen mit tierpathogenen Viren waren nicht so erfolgreich, vor allem, da man zum Arbeiten mit diesen Erregern in vitro Kulturen benötigt und da quantitative Aussagen schwieriger zu gewinnen sind. In den letzten Jahren sind diese Techniken jedoch entwickelt wor-

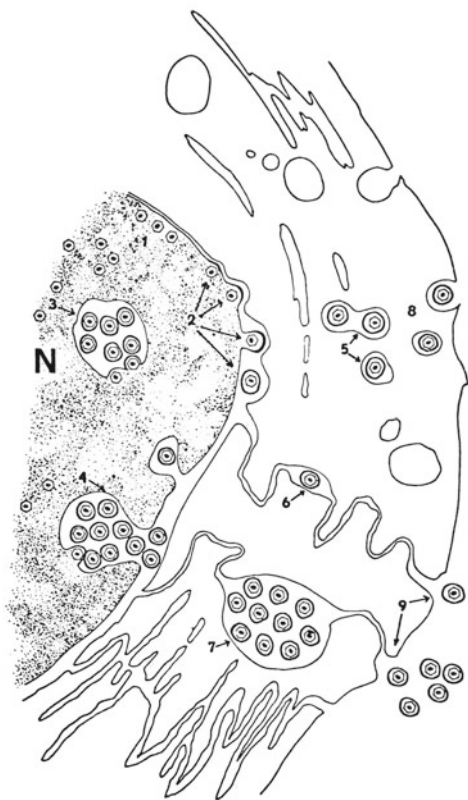


Abb. 27-6. Bildung der Virushülle und Freisetzung des Herpesvirus aus infizierten Zellen. Die Ziffern geben die einzelnen Schritte des im

folgenden beschriebenen Vermehrungsprozesses an (Darlington et al.).

Die Nucleocapside des Herpesvirus werden im Zellkern zusammengefügt und erwerben Hüllen aus den Zellkern- und nicht aus den Cytoplasmamembranen (1). An der Kontaktstelle wird die innere Zellkernmembran dicker und elektronenoptisch dichter. Diese Membran hüllt das Viruspartikel zunehmend ein und (2) wird schließlich abgequetscht, wobei die Zellkernmembran intakt bleibt und das umhüllte Partikel frei in einer perinucleären Zisterne liegt. Nucleocapside können die Hülle jedoch auch durch Sprossung in Vacuolen des Zellkerns erwerben (3). Diese Vacuolen scheinen Einschnitte der nucleären Membran zu sein, die an diesen Stellen in Querschnitten getroffen wurde, und die kontinuierlich in perinucleäre Zisternen übergeht (4). Das Viruspartikel wird jetzt aus der Nähe des Zellkerns in den Extracellularraum freigesetzt; hierbei können folgende Schritte beobachtet werden:

Die äußere Lamelle der Zellkernmembran wickelt sich um das umhüllte Nucleocapsid und trennt es vom Cytoplasma ab (5). Sobald die Vacuole die Cytoplasmamembran erreicht, wird das umhüllte Virion in den Extracellularraum freigesetzt (8). Ein zusätzlicher Weg scheint durch die Zisternen des endoplasmatischen Reticulums zu gehen (6, 7). Im späteren Infektionsablauf können nicht-umhüllte Partikel im Cytoplasma auftreten, wo die Hüllenbildung nachgeholt wird, doch sind zu diesem Zeitpunkt auch bereits Löcher in der Zellkernmembran nachweisbar. Die Umhüllung tritt offenbar immer dann auf, wenn das Nucleocapsid mit Zellmembranen in Kontakt kommt und stellt vielleicht einen Abwehrmechanismus der Zelle dar. Da die Zellkernmembran die erste Membran auf dem Wege ist, scheint dies der primäre Ort der Hüllenbildung des Nucleocapsids zu sein.

den, und man hat einzelne Schritte der Wechselbeziehung zwischen dem infizierenden Virus und der empfänglichen Zelle aufklären können.

Die Spezifität des Receptors, der zur Anheftung des Virus an empfängliche Zellen dient, wurde vor allem bei Myxoviren untersucht. Die Rezeptoren für diese Viren sind auf der Zelloberfläche gelegene Mucopolysaccharide. Die Adsorption des Virus kann durch eine Vorbehandlung der Zellen mit einem, aus *Vibrio cholerae* gewonnenen Enzym (receptor destroying enzyme, RDE) verhindert werden, das die Mucopolysaccharid-Rezeptoren zerstört. Bei diesen Untersuchungen wurde vor allem die Hämagglutinationsreaktion angewendet.

Die kontinuierlich aus infizierten Zellen freigesetzten Viren enthalten — im Gegensatz zu den durch Lyse der Zelle freigesetzten Viren — Lipide als essentielle Bestandteile und werden durch Äther inaktiviert. Lipidhaltige Viren werden offenbar aus Untereinheiten oder aus vegetativen Formen in oder in der Nähe der Zelloberfläche zusammengebaut und anschließend mit einer umhüllenden Lipidhaltigen Membran fertiggestellt. Diese Hülle stammt aus den Lipidstrukturen in der Zellperipherie (Abb. 27-6). Viren ohne essentielle Lipid-Bestandteile werden im Zellinneren fertiggestellt und in großer Zahl durch Platzen der Zelle freigesetzt.

Auch für Picornaviren hat man spezifische Rezeptoren der Zelle nachweisen können.

In den folgenden zwei Abschnitten wird die Vermehrung je eines RNS- und DNS-Virus beschrieben.

Vermehrung eines RNS-Virus

(siehe Abb. 27-7)

Die Vermehrung des Poliovirus, das eine Einzelstrang-RNS als Genom enthält, kann als gut untersuchtes Beispiel dienen. Alle Vermehrungsschritte sind unabhängig von der Wirtszell-DNS und laufen im Cytoplasma der Wirtszelle ab. Polioviren adsorbieren sich an die Wirtszelle mit Hilfe artspezifischer Zellrezeptoren (Schritt 1).

Deshalb kann intaktes Poliovirus auch nur Primatenzellen infizieren, während die isolierte Virus-RNS auch Nicht-Primatenzellen (Kaninchen, Meerschweinchen, Huhn) infizieren und einen Vermehrungszyklus in ihnen durchlaufen kann. Die Vermehrung ist in diesen Nicht-Primatenzellen auf einen Zyklus beschränkt, weil die gebildete Virusnachkommenschaft wiederum das Virushüllprotein besitzt, das nur ein Anheften und Eindringen in Primatenzellen gestattet. Das Viruspartikel wird anschließend in die Zelle durch Viropexis (ähnlich der Pinocytose) aufgenommen (Schritt 2) und die Virus-RNS wird freigesetzt (Schritt 3). Diese einsträngige RNS dient als ihre eigene messenger-RNS und wird translatiert (Schritt 4), so daß eine RNS-Polymerase gebildet wird, die einmal zur Bildung der replikativen Form, ein doppelsträngiges Molekül (Ausgangs-RNS-Strang und komplementärer Strang) erforderlich ist (Schritt 5) und zum anderen die Synthese eines Inhibitors veranlaßt, der die Synthese cellulärer RNS und cellulären Proteins abschaltet. Anzahl und Art dieser Inhibitoren sind unbekannt. Man hat jedoch eine virusinduzierte Stimulierung der Histonsynthese im Zellkern infizierter Zellen beobachtet, so daß dies der mögliche Mechanismus der Hemmung der RNS-Synthese ist. An der replikativen Form werden einsträngige Virus-RNS-Moleküle (+ Strang), die anfänglich als teilweise komplette Stränge an replikativen Intermediärformen nachweisbar sind (Schritt 6) geformt. Der neu gebildete (+) RNS-Strang übt eine der drei folgenden Funktionen aus: a) messenger-RNS für die Strukturproteine; b) Matrize für die fortlaufende RNS-Replikation; c) Umhüllung durch das Capsid, hierdurch entsteht reife Virusnachkommenschaft. Die Synthese der Virus-capsidproteine (Schritt 7) beginnt etwa zur gleichen Zeit wie die RNS-Synthese. Durch elektrophoretische Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß Poliovirus vier Polypeptide enthält: VP 1 ($MG = 3,5 \times 10^4$), VP 2 ($MG = 2,8 \times 10^4$), VP 3 ($MG = 2,4 \times 10^4$) und VP 4 ($MG = 6 \times 10^3$). Während die exakte Lokalisierung dieser Po-

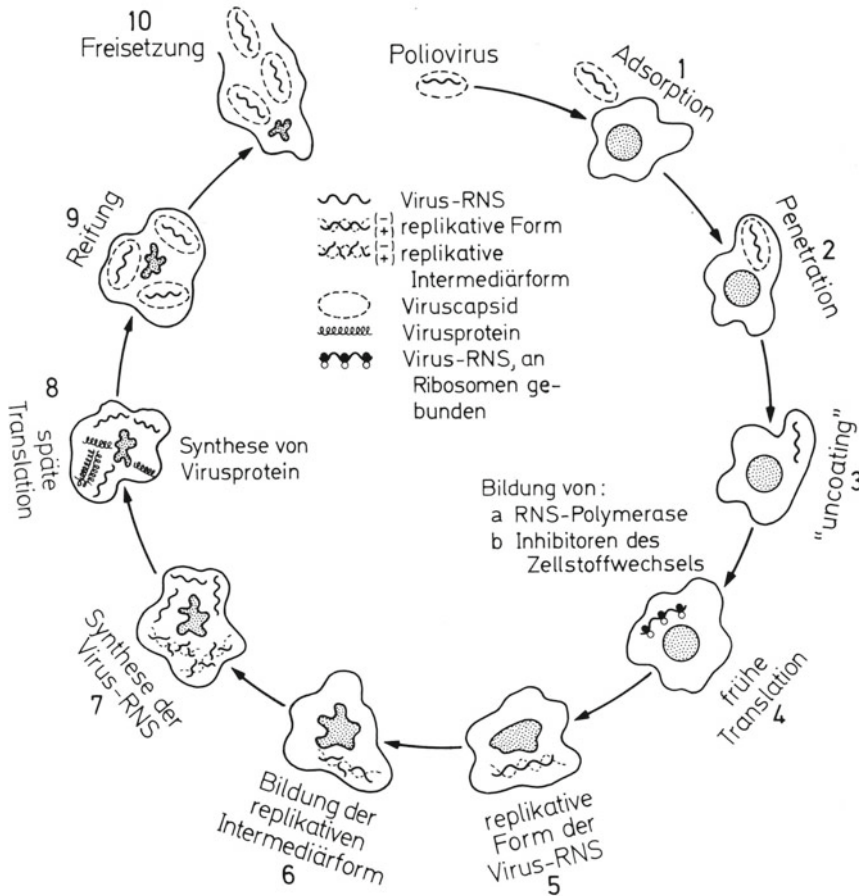


Abb. 27-7. Vermehrung von Poliovirus, das RNS als Genom enthält

lypeptide im Viruspartikel noch nicht möglich ist, sind ihre Mol.-Gewichte doch den Werten sehr ähnlich, die man durch elektronenmikroskopische Untersuchungen und Anwendung der Röntgenkleinwinkelstreuung erhielt. Untersuchungen unter Anwendung der Polyacrylamidgel-Elektrophorese wurden auch mit Partikeln durchgeführt, denen ihre RNS fehlte und die von infektiösen Partikeln durch Dichtegradientenzentrifugation abgetrennt worden waren. Diese Partikeln enthielten nur VP 1 und VP 3 sowie ein neues Polypeptid, das als VP 0 bezeichnet wurde. Man kann vermuten, daß dieses RNS-freie Partikel (das auch als Procapsid bezeichnet wurde) eine Vorstufe des infektiösen Virus ist. Sobald die RNS sich, in einer bis jetzt unbekanntenen Form, mit dem Procapsid verbind-

det (Schritt 8), wird VP 0 gespalten und ergibt VP 2 und VP 4. Der Mechanismus dieser Spaltung ist unbekannt, es ist jedoch möglich, daß eines der drei Polypeptide des Procapsids (VP 0, VP 1 oder VP 3) eine entsprechende enzymatische Aktivität besitzt. Die Beendigung der Capsidbildung führt zur Bildung reifer Viruspartikel (Schritt 9), die dann durch eine Lyse der Zelle (Schritt 10) freigesetzt werden.

Die RNS des Poliovirus konnte — wie auch bei vielen anderen Picornaviren — aus dem Virion in infektiöser Form gewonnen werden, während dies bei vielen größeren Viren, die zu den Gruppen der Ortho- und Paramyxoviren gehören — nicht gelang. Das gesamte RNS-Genom des Poliovirus dient als mRNS. Der Weg der Transkription bei den

anderen RNS-Viren ist in Tabelle 27-6 zusammengefaßt; die Vermehrung von Reovirus, das eine Doppelstrang-RNS als Genom besitzt, wird in Kapitel 39 beschrieben.

Vermehrung eines DNS-Virus
(siehe Abb. 27-8)

Die Vermehrung eines Poxvirus unterscheidet sich von der Replikation der meisten DNS-Viren durch die Synthese der Viruskomponenten und den Zusammenbau der Viruspartikel im Cytoplasma der Wirtszelle. Die Vermehrung eines Poxvirus wird eingehend in Kapitel 36 beschrieben. Die Vermehrung der anderen DNS-Viren (Adeno-, Herpes-, Papovaviren) zeigt jedoch einheitliche Syntheseschritte. Nach der Synthese der Viruskomponenten im Cytoplasma wandern diese Bausteine in den Zellkern und werden hier zusammgebaut. Im allgemeinen verlaufen sowohl die Adsorption des Virus (Schritt 1) und die Penetration (Schritt 2) ähnlich, wie es für das Poliovirus beschrieben wurde. Nach dem Eindringen des Virus

in die Zelle wird der Proteinmantel beseitigt (Schritt 3), dies geschieht wahrscheinlich durch celluläre Enzyme; anschließend dringt die Virus-DNS in den Zellkern ein. Wie bei jeder Replikation eines DNS-Virus wird ein DNS-Strang transkribiert (Schritt 4) in eine spezifische messenger-RNS, die wiederum zur Synthese viruspezifischer Proteine, wie z. B. der Tumorantigene und der zur Bildung der Virus-DNS erforderlichen Enzyme, translatiert wird (Schritt 5). In diesem Zeitraum werden die Frühfunktionen des Virus wirksam. Die Synthese der Wirtszell-DNS wird nach einer vorübergehenden Erhöhung in dem Maße herabgesetzt, wie die Bildung der Virus-DNS zunimmt (Schritt 6). Die Virus-DNS wird weiterhin fortlaufend transkribiert und Spätfunktionen des Virus treten hervor. Die während dieser späteren Phasen des Infektionsablaufs gebildete messenger-RNS (Schritt 6) geht in das Cytoplasma über und wird hier translatiert (Schritt 7). Unter dem Einfluß der Spätfunktionen des Virus werden die Proteine zur Bildung des Viruscapsid synthetisiert und in den Zellkern trans-

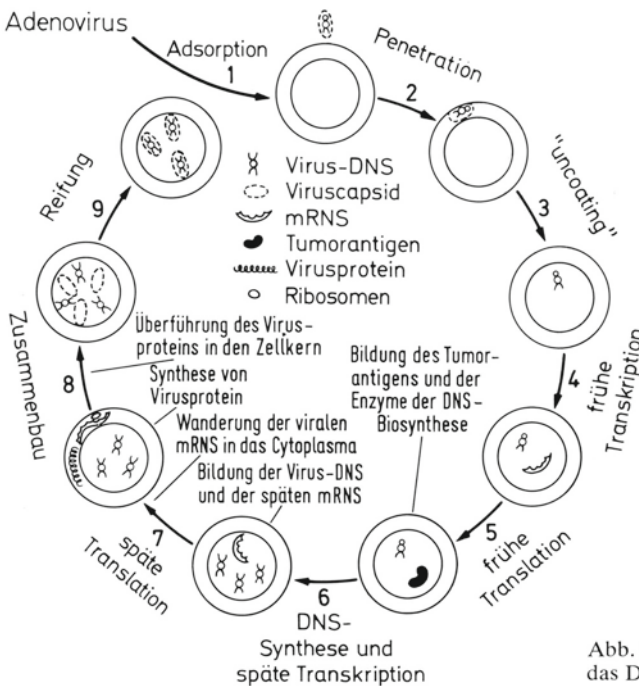


Abb. 27-8. Vermehrung von Adenovirus, das DNS als Genom enthält

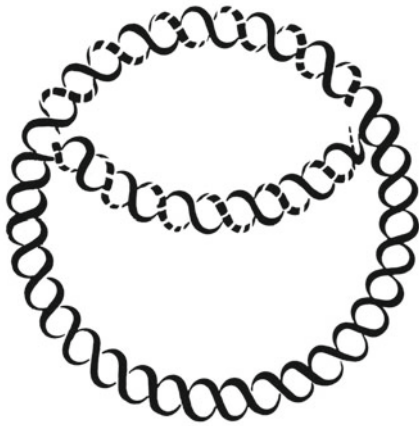


Abb. 27-9. Schematische Darstellung der replizierenden DNS des Papovavirus SV-40. Die wesentlichen Eigenschaften des Moleküls sind: 1. Beide Ausgangs-DNS-Stränge (ausgezogene Linie) sind durch Kovalenzbindungen geschlossen; 2. Die zwei neu synthetisierten DNS-Stränge (unterbrochene Linie) sind weder durch Kovalenzbindungen mit der Ausgangs-DNS noch miteinander verbunden (Nach Sebring et al.)

portiert, wo sie in die Virusstruktur eingefügt werden (Schritt 8). Bei einzelnen Viren kann die Wanderung einiger Strukturproteine aus dem Cytoplasma in den Zellkern durch das Fehlen von Arginin im Nährmedium verhindert werden. Die Ansammlung der Proteinuntereinheiten um die Virus-DNS führt zur Bildung des kompletten Virion (Schritt 9), das nach Lyse der Zelle freigesetzt wird.

In vitro-Synthese infektiöser Virus-DNS

Infektiöse RNS bzw. DNS zahlreicher kleiner Viren konnte in vitro synthetisiert werden. Die kürzlich durchgeführten Arbeiten über die DNS-Synthese sind deshalb von so großer Bedeutung, da alle lebenden Organismen ein ähnliches Genom besitzen. Wie aus Abb. 27-10 hervorgeht, wird ein als Matrize dienendes DNS-Molekül aus dem Bakteriophagen ϕ X-174 durch gereinigte DNS-Polymerase kopiert. Das Genom dieses Virus besteht aus 5500 Nucleotiden und liegt als Einzelstrang in einem, durch Kovalenzen geschlossenen Ring vor, der als (+)-Strang bezeichnet wird. Die DNS-Polymerase kopiert die Sequenz der Nucleotide in dem (+)-Strang und synthetisiert einen linearen (-)-Strang, der dem kreisförmigen (+)-Strang komplementär ist. Dieser lineare (-)-Strang wird durch das „joining enzyme“ in einen kovalenten Doppelkreis umgewandelt, der der in vivo vorkommenden Form gleicht. Die Trennung der zwei DNS-Ringe beruht auf der höheren Dichte des in vitro synthetisierten (-)-Ringes als jener des als Matrize dienenden (+)-Kreises. Die Ursache der höheren Dichte (Abb. 27-10) liegt in dem Ersatz von Thymidylsäure durch 5-Bromdesoxyuridin in dem Gemisch aus Monomeren, das zur

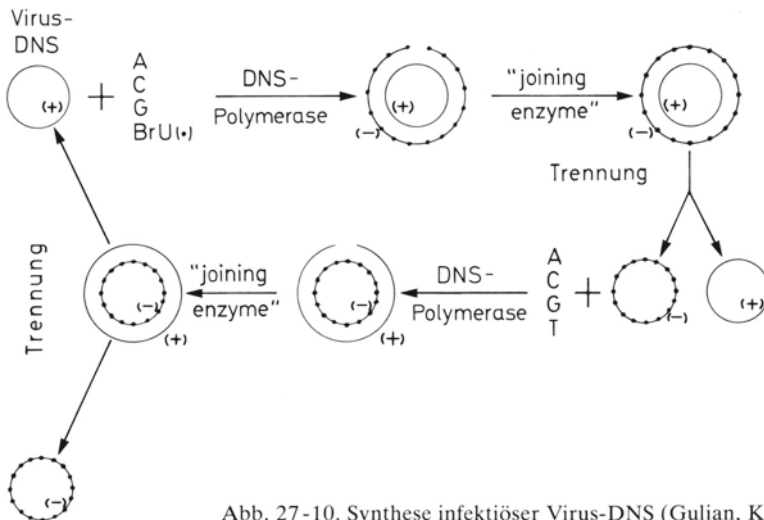


Abb. 27-10. Synthese infektiöser Virus-DNS (Gulian, Kornberg und Sinsheimer)

Polymerisation verwendet wird. Die hierbei gebildete dichtere DNS kann von der leichteren Matrizen-DNS durch Dichtegradientenzentrifugation abgetrennt werden. Der synthetische (−)-Kreis mit der höheren Dichte kann dann wiederum als Matrize in einem analogen System eingesetzt werden, in dem dann Thymidin und kein BrU in der Mischung der Monomeren vorhanden ist. Der synthetisch gewonnene Doppelstrang enthält jetzt einen leichten (+)-Ring, dessen Identität nach Durchführung entsprechender Reinigungsschritte mit der infektiösen DNS, die aus dem intakten Virion gewonnen worden war, bewiesen werden kann.

Kontrollmechanismen der Virusvermehrung

Im Ablauf der Virusvermehrung werden alle virusspezifischen Makromoleküle in einer streng geordneten Reihenfolge synthetisiert. Einige frühe virusspezifische Proteine werden unmittelbar nach der Infektion gebildet, während die Synthese der sog. späten Proteine erst in einer späteren Phase des Infektionsablaufs erfolgt. In einigen Fällen werden die früh wirksamen Gene während des gesamten Vermehrungszyklus wirksam, während in anderen Fällen diese früh wirksamen Gene nach ihrer Expression vollständig abgeschaltet werden. In Abhängigkeit von der jeweiligen Virusart und der Wirtszelle sind in dem Virusgenom offenbar sehr differenzierte Kontrollsysteme vorhanden, die die Synthese der virusspezifischen Makromoleküle nach einem charakteristischen Fahrplan während des Vermehrungszyklus regulieren. Eine Analyse der Nucleotidsequenz kann — zumindest teilweise — die zeitliche Reihenfolge der Genexpression in der infizierten Zelle erklären.

In Zellen, die mit einem DNS-Virus infiziert worden waren, konnten virusspezifische „Initiationsfaktoren“ — Sigma-Faktoren — nachgewiesen werden. Diese Initiationsfaktoren können eine spezifische Nucleotidsequenz

(Promotor) in der Virus-DNS feststellen und eine Bindung der RNS-Polymerase an diese Stelle veranlassen. Hierdurch können die spezifischen Initiationsfaktoren ein neues Operon zu einer bestimmten Zeit in Funktion setzen. Nachdem die erwünschte RNS transkribiert ist, kann vielleicht ein Virus-codierter Terminationsfaktor — Rho-Faktor — die RNS-Transkription beenden.

Bei einzelnen RNS-Viren blockieren die neu gebildeten Hüllproteine den Ort der beginnenden Anheftung der RNS-Polymerase, wodurch eine Synthese von mehr Virus-RNS als für die vollständige Bildung des Virion erforderlich ist, verhindert wird. Trotz dieser Kontrollmechanismen werden die Virusbausteine in den infizierten Zellen jedoch meist im Überschuß gebildet.

Genetik der Viren

Genetische Untersuchungen werden bei Bakteriophagen seit etwa 30 Jahren betrieben, sinnvolle genetische Untersuchungen bei tierpathogenen Viren waren jedoch erst in den letzten Jahren möglich; sie wurden durch zwei Entwicklungen ermöglicht. Die eine Voraussetzung für derartige genetische Untersuchungen war die Entwicklung eines Plaquetests zur quantitativen Bestimmung der Virusinfektiosität. Da genetische Wechselbeziehungen zwischen verschiedenen Viren nur selten beobachtet werden, war das Vorhandensein dieses empfindlichen und genauen Nachweisverfahrens eine Grundvoraussetzung für derartige Untersuchungen. Die zweite Voraussetzung für die Durchführung derartiger genetischer Untersuchungen war die Entwicklung stabiler genetischer Merkmale oder Marker (phänotypischer Leistungen eines Virus wie z. B. spezifische virusinduzierte Enzyme); ohne solche Marker können aussagefähige genetische Untersuchungen nicht durchgeführt werden. Diese Marker müssen durch experimentelle Untersuchungen zugänglich, leicht erkennbar sein und auf einzelnen Mutationen beruhen. Zu

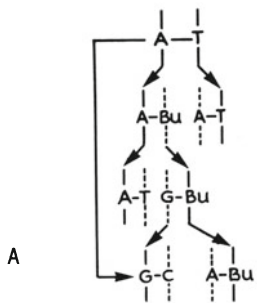
den häufig verwendeten Markern gehören virusinduzierte Antigene, Resistenz gegen chemische Substanzen und die Unfähigkeit der Viren, sich bei erhöhten Bebrütungstemperaturen zu vermehren; auch die Plaquegröße und die Pathogenität eines Virus können als Marker verwendet werden. Virusmutanten, die derartige Marker besitzen, erhält man als Folge spontaner Mutationen, häufiger aber nach Behandlung einer Viruspopulation mit Mutagenen.

Für die Untersuchung der Genetik und der Molekularbiologie der Viren sind häufig konditional-letale Mutanten verwendet worden. Hierunter versteht man Mutanten, die unter bestimmten Bedingungen — die als nicht-permissive Bedingungen bezeichnet werden — letal (kein infektiöses Virus wird produziert) sind, während sie unter anderen Bedingungen — die als permissive bezeichnet werden — eine normale infektiöse Nachkommenschaft produzieren. Zu den konditional-letalen Mutanten gehören Temperatursensitive (ts) und Wirtszell- (host range- [hr])-Mutanten. ts-Mutanten konnten bei verschiedenen tierpathogenen Viren isoliert werden; sie vermehren sich bei niedriger (permissiver) Temperatur, jedoch nicht bei hoher (nicht-permissiver) Temperatur. Der Defekt dieser Mutanten auf molekularer Ebene beruht offenbar auf einer veränderten Aminosäuresequenz in einigen virusspezifischen Proteinen, so daß diese Proteine bei nicht-permissiver Temperatur entweder nicht die funktionale Konfiguration erhalten oder aufrechterhalten können. hr-Mutanten sind durch ihre Fähigkeit zur Vermehrung und Plaquebildung in einer Zellart (permissive Zellen) charakterisiert, während in anderen Zellarten (nicht-permissive Zellen) nur eine abortive Infektion auftritt. Bei Untersuchungen der hr-Mutanten von Bakteriophagen konnten veränderte Basensequenzen in der Nucleinsäure nachgewiesen werden, so daß sie von den nicht-permissiven Zellen als „nonsense“-Mutanten gelesen werden, so daß keine Polypeptidketten gebildet werden und eine abortive Infektion entsteht. Auf der anderen Seite besitzt die permissive Wirtszelle

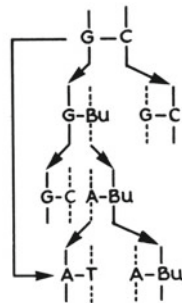
eine Transfer-RNS, die die Sequenz als kompatible Aminosäure translatiert, so daß ein funktionierendes Polypeptid entsteht. Ob dieser Mechanismus auch in den hr-Mutanten der tierpathogenen Viren vorhanden ist, muß noch geklärt werden. Nachdem mehrere konditional-letale Mutanten induziert und isoliert wurden, kann man durch Infektionen mit mehreren derartiger Mutanten unter permissiven und nicht-permissiven Bedingungen Aufschlüsse über Genfunktion, Gensequenz (Anfertigung von Genkarten) und die Mechanismen der Virusvermehrung auf molekularer Ebene gewinnen.

Die zur Induktion von Mutanten verwendeten Mutagene lassen sich in drei Gruppen einteilen: 1. Basenanalogue, die an Stelle der normalen Basen in der DNS während der Replikation eingebaut werden; 2. Substanzen, welche die Basen in der ruhenden DNS verändern; 3. Substanzen, welche einzelne Basen in der DNS beseitigen. Ein Beispiel für die Mutagene der ersten Gruppe ist 5-Bromuracil, das Thymin quantitativ ersetzen kann und sich ebenfalls mit Guanin bindet. Diese Substanz erzeugt daher Mutationen durch zwei verschiedene Veränderungen der Basenpaare und zwar abhängig davon, ob der Irrtum der Zusammenlagerung während der Inkorporation oder während der Replikation nach der Inkorporation erfolgt (Abb. 27-11 A). Salpetrige Säure ist ein Beispiel der zweiten Klasse von Mutagenen. Die mutagene Wirkung dieser Substanz liegt in der Fähigkeit zur oxydativen Desaminierung von Adenin oder Cytosin (siehe Abb. 27-11 B). Ein Beispiel für die dritte Gruppe von Mutagenen ist Äthyläthanol-sulfonat, das wahrscheinlich durch Beseitigung von Guanin wirkt (Abb. 27-11 C).

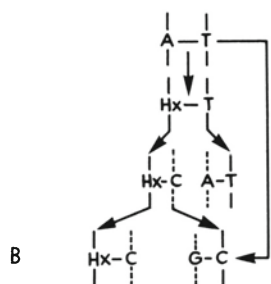
Man kann zeigen, daß bei gleichzeitiger Infektion einer Wirtszelle mit zwei verschiedener Viren diese Partikel in unterschiedlicher Weise miteinander reagieren können. Die Möglichkeiten dieser Wechselbeziehungen sind in Tabelle 27-7 zusammengestellt und graphisch in Tabelle 27-8 dargestellt. Die eine große Gruppe umfaßt die genetischen Wechselbeziehungen zwischen verschiedenen



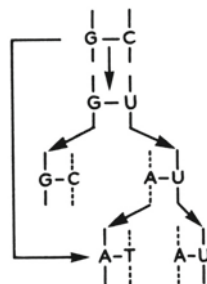
A-T zu G-C — Umwandlung nach initialer Zusammenlagerung von 5-Bromuracil (BU) mit Adenin (A) und anschließender Zusammenlagerung mit Guanin (G) während der Replikation.



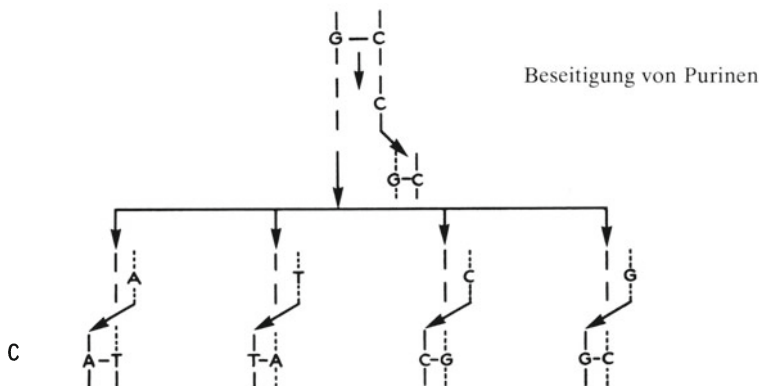
G-C zu A-T — Umwandlung nach fehlerhafter Zusammenlagerung von BU mit G während der Inkorporation, anschließende Zusammenlagerung mit A während der Replikation.



A-T zu G-C — Umwandlung, die sich aus der Desaminierung von Adenin (A) zu Hypoxanthin (Hx) ergibt.



G-C zu A-T — Umwandlung, die sich aus der Desaminierung von Cytosin (C) zu Uracil (U) ergibt.



Substitution eines Basenpaares nach der Beseitigung von Guanin durch Äthylenäthansulfonat (EES), die entweder eine G-C- zu A-T-Umwandlung oder eine Verlagerung von G-C zu T-A oder G-C zu C-G verursacht oder auch zu keiner Veränderung führt.

Abb. 27-11. Mutagenese. A) durch 5-Bromuracil (BU); B) durch salpetrige Säure; C) durch Äthylenäthansulfonat (EES) (Nach Hayes)

Tabelle 27-7. Art und Besonderheiten der Wechselbeziehungen zwischen tierpathogenen Viren

Art der Wechselbeziehung	Vermehrungsfähigkeit der Ausgangsviren	Auftreten von Nachkommen die sich von den Ausgangsviren unterscheiden	Auftreten genetisch stabiler Nachkommen	Beispiel
I. Genetisch				
A. Rekombination	aktiv + aktiv	ja	ja	Influenza, Poliovirus Influenza Vaccinia
B. Kreuzreaktivierung	aktiv + inaktiv	ja	ja	
C. „multiplicity“-Reaktivierung	inaktiv + inaktiv	ja	ja	
II. Nichtgenetisch				
A. Phänotypische Mischung	aktiv + aktiv	ja	nein	Picornaviren
B. Genotypische Mischung	aktiv + aktiv	ja	nein	Paramyxoviren
C. Interferenz	aktiv + aktiv	nein	ja	Coxsackieviren Satelliten + Adenovirus NDV + Parainfluenza Poxviren a) Rous-assoziiertes Virus + Rous-Sarkomvirus* b) Mäuseleukämie + Sarkom* c) SV-40 + Adenovirus d) Adenovirus + Satellitenvirus
D. Verstärkung	defekt + aktiv	nein	ja	
E. Komplementierung	aktiv + aktiv	nein	ja	
	aktiv + inaktiv	nein	ja	
	aktiv + defekt	nein*	ja	
	defekt + defekt	nein*	ja	a) PARA(SV-40-Adeno) + Adenovirus b) MAC-Adeno + Adenovirus

* In jenen Fällen, in denen das Helfervirus den Proteinmantel liefert (RSV-RAV, MSV-MLV, PARA-Adenovirus, MAC-Adenovirus), wird das defekte Virus in der Nachkommenschaft in seiner Antigenität unterschiedlich sein, wenn ein heterologes Helfervirus vorhanden ist und eine Transcapsidation oder die Bildung von Pseudotypen eintritt.

+ Zeigt gewisse Ähnlichkeiten mit einer extremen Form der phänotypischen Mischung.

Viren, die in der Bildung einer Nachkommenschaft resultieren, die genetisch unterschiedlich von den Ausgangsviren ist. Bei der anderen großen Gruppe, den nicht-genetischen Wechselbeziehungen zwischen verschiedenen Viren, gleicht die Nachkommenschaft den Ausgangsviren.

Ein weiterer Unterschied besteht darin, daß bei der genetischen Wechselbeziehung tatsächlich Nucleinsäure-Moleküle miteinander reagieren, während bei den nicht-genetischen Wechselbeziehungen Genprodukte miteinander reagieren.

Bei der Darstellung der Virusgenetik werden die folgenden Begriffe verwendet: *Genetik* ist das Studium der Vererbung. Mit dem Begriff *Genotyp* wird die genetische Konstitution

eines Organismus bezeichnet; mit dem Ausdruck *Phänotyp* werden die sichtbaren Eigenschaften eines Organismus gekennzeichnet, die durch den Genotyp in Verbindung mit Umweltfaktoren gebildet wurden. Das *Genom* ist die Summe der Gene eines Organismus. Eine *Mutation* ist eine vererbliche Veränderung des Gen-Typs.

Man sollte stets beachten, daß unter geeigneten Bedingungen verschiedene Arten von Wechselbeziehungen gleichzeitig auftreten können.

Genetische Wechselbeziehungen

Die **Rekombination** führt zu einer Nachkommenschaft (Rekombinante) mit Eigenschaften

Tabelle 27-8: Schematische Darstellung der Möglichkeiten genetischer und nicht-genetischer Wechselbeziehungen zwischen tierpathogenen Viren (Buttel)

Art der Wechselbeziehung	Ausgangsviren		Rekombinanten oder andere Ausgangsviren		Nachkommen		
	I	II	I	II			
I. genetisch Rekombination	(a ₁ b ₁) aktiv	+	(a ₂ b ₂) aktiv	(a ₁ b ₁)	(a ₂ b ₂)	(a ₁ b ₂)	(a ₂ b ₁)
Kreuzreaktivierung	(a ₁ b ₁) aktiv	+	(a ₂ b ₂) inaktiv	→ (a ₁ b ₁)	keine	(a ₁ b ₂)	oder (a ₂ b ₁)
„multiplicity“-Reaktivierung	(a ₁ b ₁) inaktiv	+	(a ₂ b ₂) inaktiv	→ keine	keine	(a ₁ b ₂)	oder (a ₂ b ₁)
II. nicht-genetisch Phänotypische Mischung	(A) aktiv	+	(B) aktiv	→ (A)	(B)	(A) oder (B) Vermehrung ↓ (A)	(A)
genotypische Mischung	(A) aktiv	+	(B) aktiv	→ (A)	(B)	(A, B) Vermehrung ↓ (A) und (B)	(A) und (B)
Interferenz	(A) aktiv	+	(B) aktiv	→ (A)	(B)		möglich
							weniger als üblich
2.	(A) aktiv	+	(B) defekt	→ (A)	(B)		möglich
Verstärkung	(A) aktiv	+	(B) aktiv	→ (A)	(B)		möglich
							mehr als üblich

Tabelle 27-8. Fortsetzung

Art der Wechselbeziehung	Ausgangsviren		Rekombinanten oder andere Ausgangsviren		Nachkommen
	I	II	I	II	
1. Komplementierung	⊙ A aktiv ↓ ⊙ A	+ einmalige Infektion ↓ keine Vermehrung	⊠ B inaktiv ↓ keine Vermehrung	→ ⊙ A ⊠ B	möglich
2.	⊙ A aktiv ↓ ⊙ A	+ einmalige Infektion ↓ keine Vermehrung	⊠ B defekt ↓ keine Vermehrung	→ ⊙ A ⊠ B	möglich
3.	⊙ A defekt ↓ keine Vermehrung	+ einmalige Infektion ↓ keine Vermehrung	⊠ B defekt ↓ keine Vermehrung	→ ⊙ A ⊠ B	möglich

ten, die keine der beiden Elternstämme besitzen. Diese Art der Wechselbeziehung tritt offenbar vor allem dann auf, wenn beide Ausgangsviren vermehrungsfähig (aktiv) sind. Hierbei wird unterstellt, daß die Nucleinsäurestränge brechen und daß ein Teil des einen Genoms sich mit einem Teil des Genoms des zweiten Ausgangsstammes rekombiniert. Ein wesentliches Charakteristikum von Rekombinationen ist ihre genetische Stabilität, die zum Auftreten einer identischen Nachkommenschaft bei der Replikation führt. So hat man z. B. Rekombinanten des Influenzavirus daran erkannt, daß das Antigen des Hämagglutinins identisch mit dem Influenza A-Virus als Ausgangsvirus war, während die Antigenität der Neuraminidase dem Typ A₂-Ausgangsvirus entsprach.

Kreuzreaktivierungen treten zwischen dem Genom eines aktiven Virus und dem Genom eines zweiten Viruspartikels auf, das auf irgendeine Weise inaktiviert worden ist. Hier-

bei vereinigt sich das Genom des inaktivierten Virus mit dem des aktiven Ausgangsvirus, so daß bestimmte Marker des inaktivierten Ausgangsvirus aktiviert werden und bei der vermehrungsfähigen Nachkommenschaft nachweisbar sind. Innerhalb dieser Nachkommenschaft finden sich keine Partikel, die mit dem inaktivierten Ausgangsvirus identisch sind. Die Partikel, welche die aktivierten Marker des inaktivierten Ausgangsvirus tragen, sind genetisch stabil. Derartige Kreuzreaktivierungen wurden angewendet, um Influenza A₂-Viren zu erhalten, die für die Impfstoffherstellung geeignet waren. Hierbei wurde ein inaktiviertes Influenza A-Virus, das sich gut in embryonierten Hühnereiern vermehrte, mit einem aktiven Influenza A₂-Virus gemischt und man erhielt eine Rekombinante mit der erwünschten Influenza A₂-Antigenität und der Fähigkeit des Influenza A-Ausgangsvirus, sich in embryonierten Hühnereiern zu vermehren.

„**Multiplicity-„Reaktivierungen**“ treten auf, wenn ein inaktives Virus durch Wechselbeziehung mit einem zweiten inaktiven Virus in der Wirtszelle aktiviert wird. Diese Form der Wechselbeziehung beruht auf einem Austausch zwischen den beschädigten Nucleinsäuren der beiden Ausgangsviren, die zur Bildung eines vermehrungsfähigen Genoms führt. Je größer der Defekt in den Genomen der Ausgangsviren ist, um so größer muß die Anzahl der inaktiven Partikel pro Zelle sein, um die Produktion eines derartigen vermehrungsfähigen Genoms zu ermöglichen. Es wird hierbei keine Nachkommenschaft gebildet, die mit einem Ausgangsvirus identisch ist.

Nicht-genetische Wechselbeziehungen

Als **phänotypisches Gemisch** bezeichnet man die Assoziierung eines Phänotyps mit einem heterologen Genotyp. Ein derartiges Gemisch tritt beim zufälligen Einbau des Genoms eines Virus in das Capsid eines anderen Virus auf oder wenn ein Capsid aus Komponenten beider Viren besteht. Diese Assoziierung ist nicht genetisch stabil, bei der Vermehrung derartiger phänotypischer Gemische tritt eine Nachkommenschaft auf, die dem Genotyp entspricht, da die Proteinsynthese und damit auch der Aufbau des Viruscapsids vom Virusgenom gesteuert wird. Ein derartiges phänotypisches Gemisch zwischen zwei verschiedenen Picornaviren wurde durch folgenden Versuch entdeckt: Nach Infektion mit einem Virusgemisch tritt eine Viruspopulation auf, die durch Antiserum gegen Coxsackievirus neutralisiert wurde, deren Nachkommenschaft wurde jedoch ausschließlich durch ein Antiserum gegen Poliovirus neutralisiert.

Ein **genotypisches Gemisch** (Heterozygote) ist durch das Auftreten eines einzelnen Viruspartikels gekennzeichnet, das zu einer Nachkommenschaft aus den zwei unterschiedlichen Ausgangsviren führt. Es liegt keine stabile genetische Veränderung zugrunde; derartige Heterozygoten treten wahrscheinlich dann auf, wenn zufällig zwei komplette Virusgenome in ein einziges Virus-

capsid eingebaut werden. Derartige genotypische Gemische wurden bisher ausschließlich bei den Paramyxoviren gefunden.

Als **Interferenz** bezeichnet man die Hemmung der Vermehrung eines superinfizierenden Virus durch die Gegenwart des zuerst vorhandenen Virus. Diese Vermehrungshemmung wird entweder durch Interferon bewirkt oder durch eine Veränderung der Zellrezeptoren oder aber durch Änderungen der Stoffwechselwege, die zur Vermehrung des zweiten, superinfizierenden Virus erforderlich sind (weitere Einzelheiten sind auf S. 461 dargestellt).

Der **Verstärkereffekt** („**enhancement**“) ist — im Gegensatz zur Interferenz — die gesteigerte Produktion eines Virus als Folge einer Co-Infektion mit einem zweiten Virus. Die gesamte Nachkommenschaft gleicht in diesem Fall den beiden Ausgangsviren. Auch hier sind die zugrundeliegenden Mechanismen unterschiedlich; nach einem Bericht hemmt die Aktivität des zweiten Virus die Interferonbildung, so kann z. B. eine Infektion mit Parainfluenzavirus die Autoinhibition des Virus der atypischen Geflügelpest — einem potenten Interferonproduzenten — aufheben.

Die **Komplementierung** ist eine funktionelle Wechselbeziehung zwischen zwei Viren, von denen eines oder beide defekt sind, so daß sich entweder die eine Virusart oder auch beide Arten unter Bedingungen vermehren, unter denen üblicherweise keine Vermehrung auftritt. Die gebildete Nachkommenschaft gleicht den Ausgangsviren; weder der Genotyp noch der Phänotyp eines der beiden Viren wird hierbei beeinflusst. Wie in Tabelle 27-7 angegeben, gibt es verschiedene Arten der Komplementierung und die Bedingungen, unter denen eine derartige Komplementierung auftritt, variieren in verschiedenen Systemen. Folgende Beispiele sollen als Erläuterung dienen: a) die Stimulierung eines „uncoating enzyme“, das zur Freisetzung des Genoms eines inaktiven Poxvirus (Myxomavirus) erforderlich ist, durch ein aktives Poxvirus (Fibromvirus); b) aktives Adenovirus führt zur Produktion eines Hüllproteins, das

von defekten SV-40-Viren (PARA) verwendet wird. In anderen Beispielen führen ein oder zwei defekte Viren zur Bildung essentieller, bis jetzt jedoch nicht identifizierter Genprodukte, die eines der Viren zur Vermehrung benötigt, jedoch nicht selbst beisteuern kann.

Transfer von Virusgenen in Säugerzellen

In letzter Zeit hat sich ein zunehmendes Interesse an der Entwicklung von Methoden gezeigt, durch die externe genetische Informationen stabil in eukaryote Zellen eingefügt werden können. Derartige Verfahren könnten u. a. vielleicht zur Reparatur genetischer Defekte in Zellen solcher Menschen verwendet werden, die an connatalen Stoffwechselstörungen leiden. Ansätze zur Lösung des Problems des Gentransfers beruhen auf der viralen Transduktion, der Transformation und den Zellhybridisierungstechniken. Ein Gentransfer zwischen Bakterien kann durch Bakteriophagen-Transduktion erfolgen (siehe Kapitel 4). In letzter Zeit hat man einige Hinweise gewonnen, daß eine Transduktion auch zwischen Säugerzellen erfolgen kann, wenn ein tierpathogenes Virus als transduzierendes Agens verwendet wird. Innerhalb von SV-40-Pseudoviruspartikeln als Spender vorhandene DNS aus Affenzellen dringt in die Zellkerne der als Empfänger dienenden Mäuseembryonalzellen ein, oder Mäusezell-DNS innerhalb von Polyoma-Pseudoviruspartikeln dringt in die Zellkerne menschlicher Zellen ein; in keinem Fall wird die physikalische Integrität der jeweiligen DNS zerstört. Ob die neu eingefügte DNS allerdings vermehrt und genetisch wirksam wird, muß erst noch geklärt werden.

Ein zusätzlicher Hinweis auf eine erfolgreiche Transduktion in eukaryoten Zellen durch Viren entstammt kürzlich veröffentlichten Berichten über die Transduktion menschlicher Zellen durch den Bakteriophagen Lambda. Hierbei wurde das gal⁺-Gen aus E. coli-Zellen in menschliche gal⁻-Zellen durch den transduzierenden Phagen Lambda übertragen; die menschlichen Zellen stammten von

einem Patienten mit einer Galaktosämie. In den transduzierten Zellen konnte nach wiederholten Subkulturen nicht nur das Enzym nachgewiesen werden, sondern es wurde auch Lambda-spezifische mRNA gefunden, so daß sowohl die Transkription als auch die Translation der neu eingeführten Virus-DNS eingetreten sein muß.

Eine zweite Möglichkeit zur Einfügung von externem genetischen Material in eukaryote Zellen beruht auf der Transformation durch UV-inaktiviertes Virus. Hierbei wird das Virusgen selbst transferiert, nachdem das Partikel durch UV-Inaktivierung nicht mehr infektiös ist. So wurden Mäusezellen, denen Thymidinkinase-Aktivität (TK) fehlte, zu einem TK-positiven Phänotyp transformiert nach Infektion mit einem TK-positiven UV-inaktivierten Herpes simplex-Virus; die transformierten Zellen produzierten über mehr als 8 Monate in der Kultur das Enzym. Außerdem wies das neue Enzym Eigenschaften auf, die von der in normalen TK-positiven Zellen vorhandenen Thymidinkinase abweichen, so daß man auch hiernach vermuten kann, daß die neu erworbene Enzymaktivität durch das Herpesvirus TK-Gen transferiert wurde.

Bei der dritten (cytologischen) Möglichkeit des Gentransfers wird ein in vitro-Verschmelzen von Zellen, die von Patienten mit einem genetischen Defekt stammen, mit normalen Donorzellen angewendet. Hybridzellen mit der normalen Stoffwechselaktivität der Donorzellen, die jedoch die Transplantationsantigene des Spenders verloren haben, werden dann selektiert. Eine Transplantation dieser Hybridzellen wird vom Empfänger toleriert, hierdurch wird die ihm fehlende Enzymaktivität übertragen.

Sowohl bei dem durch Viren als auch bei dem durch cytologische Methoden erfolgten Gentransfer zur Korrektur genetischer Defekte bei Säugerzellen ergeben sich folgende Schwierigkeiten: a) mögliche immunologische Inkompatibilität des neuen Genproduktes; b) gleichzeitiger Transfer von erwünschtem Gen und einem unerwünschten Gen. Die dritte (c) und sehr wesentliche

Schwierigkeit betrifft die Regulation der Genexpression. Wenn der entscheidende Regulationsmechanismus in der Empfängerzelle nicht aktiv ist, kann der Transfer für den Empfänger-Wirtsorganismus entweder durch Über- oder Unterproduktion des neuen Genproduktes schädlich sein.

Experimentelle Chemoprophylaxe von Virusinfektionen

In den infizierten Zellen können einige Vorgänge, die der Bildung von Virusbestandteilen dienen, gehemmt werden; ferner kann die Adsorption, Penetration oder die Freisetzung des Virus aus der infizierten Wirtszelle verhindert werden. Diese Verbindungen müssen jedoch eine größere Spezifität gegenüber den virusinduzierten Reaktionen als gegenüber den Stoffwechselreaktionen der normalen Zelle aufweisen, um als Chemoprophylaktikum geeignet zu sein. Die hierbei verwendeten Inhibitoren reichen von solchen, die im hohen Maße virusspezifisch sind, bis zu solchen, die nur eine geringe Virusspezifität aufweisen. Gegenwärtig sind keine Verbindungen bekannt, die routinemäßig zur Behandlung von Virusinfektionen des Menschen verwendet werden könnten.

Von **Amantadin** (s. S. 178) konnte nachgewiesen werden, daß es spezifisch die Vermehrung einiger Myxoviren dadurch verhindert, daß es die Viruspenetration in die Wirtszelle blockiert. Wird die Substanz prophylaktisch angewendet, so soll sie nach einigen Berichten einen deutlichen Schutzeffekt bei experimentell infizierten Tieren und auch beim Menschen gegen Influenza-A-Virusstämme aufweisen; sie ist dagegen unwirksam gegen Influenza-B-Virus oder gegen andere Virusarten. Dieser Schutzeffekt äußert sich im wesentlichen in einer Mitigierung der Krankheitszeichen.

Guanidin und **2-(α -Hydroxybenzyl)-benzimidazol (HBB)** hemmen spezifisch die in vitro-Vermehrung zahlreicher Picornaviren durch Hemmung der Weiterverarbeitung der RNS nach ihrer Synthese, so daß indirekt

eine Blockierung der Virus-RNS und der Hüllproteine resultiert. Nachdem die RNS-Polymerase einmal gebildet ist, kann jedoch keiner der beiden Inhibitoren ihre Aktivität beeinflussen. Die Wirkung der beiden Verbindungen ist ähnlich, jedoch nicht identisch, da die Vermehrung bestimmter Viren durch die eine Verbindung gehemmt wird, durch die andere jedoch nicht. Die Hemmwirkung kann durch Verdünnung mit frischem Nährmedium aufgehoben werden. In experimentell infizierten Tieren ist jedoch durch keine dieser beiden Verbindungen ein Schutzeffekt nachweisbar. Man hat vermutet, daß dies auf der raschen Entstehung resistenter Mutanten beruht. Es gelang, sowohl resistente als auch von der Anwesenheit der Verbindungen abhängige Virusmutanten zu isolieren.

N-Methylisatin- β -thiosemicarbazon (siehe Abb. 27-12 und S. 178) ist ein anderer gruppenspezifischer Inhibitor der Vermehrung zahlreicher Pox- und Adenoviren. Die Substanz (N-Methyl-Derivat des Isatin- β -Thiosemicarbazons [IBT]) ist in hohem Maße virusspezifisch und beeinträchtigt den normalen Zellstoffwechsel nicht. In Gegenwart dieses Inhibitors verläuft die Bildung der Virus-DNS ungestört, jedoch werden nicht alle Virusantigene synthetisiert; als Folge hiervon werden unreife, nicht-infektiöse Viruspartikel produziert. Die Wirkung des Isatin- β -thiosemicarbazons läßt sich durch einfache Verdünnung nicht aufheben. Auch gegen Methisazon resistente Mutanten konnten isoliert werden. Das N-Methyl-Derivat dieser Verbindung hemmt auch die Poxvirusvermehrung in der experimentell infizierten Maus; diese Verbindung ist auch bei der Prophylaxe der Pocken des Menschen wirksam, wenn sie innerhalb von 24 bis 48 Std nach der Exposition verabreicht wird.

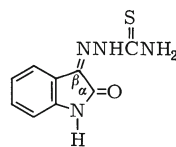


Abb. 27-12. N-Methylisatin- β -thiosemicarbazon (Methisazon), ein Inhibitor der Pockenvirusvermehrung

Die Wirkung von N-Methyl-IBT und N-Äthyl-IBT wurde auch bei den RNS-Tumoviren untersucht. N-Äthyl-IBT hemmt hierbei die Bildung von Rous-Sarkomvirus in transformierten Zellen im gleichen Ausmaß wie die Bildung von Poxviren. Bei weiterer Untersuchung zeigte sich jedoch eine anhaltende Bildung von Viruspartikeln in diesen, durch Rous-Sarkomvirus transformierten Zellen, die jedoch nicht infektiös waren. Sowohl N-Methyl-IBT als auch N-Äthyl-IBT — nicht jedoch das IBT-Molekül selbst — wirken direkt auf das Viruspartikel ein und inaktivieren verschiedene Oncornaviren (Rous-Sarkomvirus, Hühner-Leukosevirus, Maus-Sarkomvirus). Bisher konnte der Mechanismus der selektiven Inaktivierung von RNS-Tumoviren durch diese Verbindungen nicht geklärt werden; fest steht lediglich, daß die Inaktivierung nicht durch Spaltung der Viruspartikel und auch nicht durch Hemmung der inversen Transkriptase in diesen Viren erfolgt.

Viele **Purin- und Pyrimidinanaloge** hemmen sowohl die RNS- als auch die DNS-Synthese. Durch den Einbau von Ribose oder Desoxyribose in das Molekül, so daß das entsprechende Ribosid oder Desoxyribosid entsteht, läßt sich die Aktivität dieser Strukturanalogen auf die Hemmung der RNS- bzw. DNS-Synthese ausrichten. Die Bedeutung dieser strukturellen Spezifität der Zuckerkomponente für die Hemmung der Virussynthese geht z.B. aus dem Befund hervor, daß das Ribosid des 5-Fluoruracils ein sehr viel wirksamerer Inhibitor der Vermehrung des RNS-haltigen Tabakmosaikvirus ist als das entsprechende Desoxyribosid. Riboside halogenierter Benzimidazole sind Inhibitoren mit einer stärker ausgeprägten Spezifität für die Vermehrung

von Influenza- oder Poliovirus als die freien Benzimidazole oder ihre Desoxyriboside.

Pyrimidinanaloge können aufgrund ihrer strukturellen Ähnlichkeit entweder mit dem Uracil oder mit dem Thymin eine Wirkung ausüben (siehe Abb. 27-13). Bei halogenierten Pyrimidinen konnte man nachweisen, daß die Größe des eingefügten Halogenatoms den Wirkungscharakter des Moleküls bestimmt. Die van der Waalschen Radien von Fluor und Brom ähneln denen von Wasserstoff bzw. einer Methylgruppe, so daß Größe und Form von 5-Bromuracil dem Thymin ähnelt und 5-Fluoruracil dem Uracil. 5-Bromuracil hat sich als wirksamer Hemmstoff für die Synthese der DNS von Bakteriophagen erwiesen, während es auf die Bildung der RNS des Tabakmosaikvirus ohne Einfluß war. Auf der anderen Seite blockierte 5-Fluoruracil (FU) die Vermehrung dieses RNS-haltigen Virus; die Hemmwirkung konnte durch Zusatz von Uridin, nicht dagegen durch Thymidin, aufgehoben werden.

5-Fluor-2'-desoxyuridin (FUDR) hemmt die DNS-Synthese durch Interferenz mit der enzymatischen Synthese von Thymidylsäure. Dagegen werden **5-Brom-2'-desoxyuridin (BUDR)** und **5-Jod-2'-desoxyuridin (JUDR)** in die DNS eingebaut, so daß eine falsche DNS entsteht, die keine normale Funktion ausübt. Diese drei halogenierten Desoxyuridine hemmen die Vermehrung der hauptsächlichsten DNS-haltigen Viren: Papova-, Adeno-, Herpes- und Poxviren. Bei einigen Viren hat man resistente Mutanten gefunden, wenn sie in Gegenwart von JUDR oder BUDR vermehrt wurden. JUDR wird beim Menschen zur Lokalanwendung bei der Behandlung der Keratitis herpetica verwendet, eine parenterale Anwendung ist wegen der

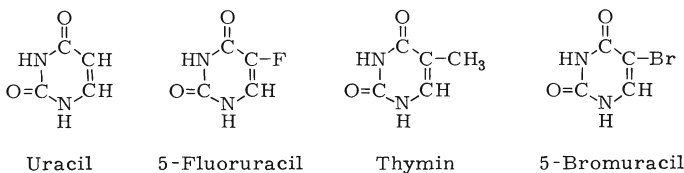


Abb. 27-13. Struktur von Uracil, 5-Fluoruracil, Thymin und 5-Bromuracil

Toxizität der Verbindungen nicht möglich. Bei Encephalitiden als Folge einer Infektion mit *H. simplex*-Virus hat man jedoch durch i.v. Verabreichung massiver, nahezu letaler Dosen (200—400 mg/kg) JUDR angeblich vollständige Heilungen erzielen können.

Die Behandlung von Zellen mit JUDR nach ihrer Infektion mit Herpesviren oder Papovaviren arretiert die Bildung infektiöser Viren, nicht dagegen die Bildung von Virusbausteinen. In infizierten Zellen findet man nach JUDR-Behandlung große Mengen von viruspezifischem Antigen. Elektronenmikroskopisch konnte man in Gegenwart von JUDR große Mengen strukturell unreifer Herpesviruspartikel (bis zu 20 000 Partikel pro Zelle wurden beobachtet) nachweisen. Vielleicht beruht die antivirale Wirkung von JUDR auf einem falschen Zusammenbau der gebildeten Virusbausteine.

In Gegenwart von FU werden in Zellen nach Infektion mit Herpesvirus nichtinfektiöse Partikel gebildet, denen der DNS-Innenkörper fehlt. Bei dem Papovavirus SV-40 wird im Zellkern virusspezifisches Antigen in großer Menge synthetisiert, jedoch nicht zu Capsiden zusammengefügt.

In vivo kann durch die Verwendung von Purin- und Pyrimidinanalogen (z. B. 5-Bromdesoxyuridin und 2-Aminopurin) die Bildung von Mutanten innerhalb der Wirtszelle induziert werden. Es gelingt also, spezifische Veränderungen im Virusgenom über den Stoffwechsel der Wirtszelle herbeizuführen. Das ebenfalls mutagen wirkende Nitrit bietet den zusätzlichen Vorteil, daß das Virus oder die Nucleinsäure direkt behandelt werden können, wodurch der komplizierende Einfluß der Wirtszelle ausgeschaltet wird. Bei Versuchen mit Tabakmosaikvirus konnte gezeigt werden, daß Nitrit die Virus-RNS desaminiert, wodurch Adenin zu Hypoxanthin, Guanin zu Xanthin und Cytosin zu Uracil umgewandelt wird. Man nimmt an, daß die Umwandlungen von Cytosin in Uracil, d. h. von einer natürlichen Base in eine andere, einen mutagenen Effekt hat, während die Umwandlung in Xanthin oder Hypoxanthin, die beiden Basen kommen natürlicherweise in

der RNS nicht vor, einen inaktivierenden Effekt hat.

Eine andere, dem Pyrimidin analoge Verbindung ist **1- β -D-Arabinofuranosylcytosinhydrochlorid (Cytosinarabinosid, Ara-C)**. Diese Verbindung hemmt die DNS-Synthese und hierdurch die Vermehrung DNS-haltiger Viren vor allem durch eine Hemmung der Reduktion des Cytosinribotids zum Desoxyribotid. Wie auch JUDR hemmt Cytosinarabinosid in annähernd gleichem Ausmaß die Bildung von Zell- und Virus-DNS und weist aus diesem Grunde nur eine geringe Spezifität auf. Die Verbindung besitzt jedoch offenbar einen differenzierenden Hemmeffekt während der Vermehrung bestimmter Viren in Gewebekulturen. So wird z. B. in Gegenwart von Hemmkonzentrationen des Cytosinarabinosids tumorspezifisches Antigen sowohl von SV-40 als auch von Adenoviren synthetisiert, dagegen wird kein Capsidprotein und kein infektiöses Virus gebildet. Der zugrundeliegende biochemische Mechanismus dieser differenzierenden Hemmwirkung ist unklar. Wahrscheinlich beruht sie darauf, daß für die Bildung des Tumorantigens keine Vermehrung der Virus-DNS erforderlich ist, während die Synthese weiterer Virus-DNS eine Voraussetzung der Produktion von Virus-Hüllprotein und von infektiösem Virus ist.

Dactinomycin (Actinomycin D) hemmt die DNS-abhängige RNS-Synthese und blockiert hierdurch die Vermehrung von DNS-Viren, jedoch nicht der meisten RNS-Viren. Dactinomycin beeinflusst jedoch die Vermehrung einiger RNS-Myxoviren und der Oncornaviren; der Mechanismus dieser Dactinomycinwirkung ist ungeklärt. Es ist möglich, daß die Hemmwirkung auf die Vermehrung einiger RNS-Viren auf einem schädigenden Effekt des Dactinomycins auf die Wirtszelle-DNS und nicht auf einer direkten Wirkung auf die Synthese der Virus-RNS beruht.

Rifampicin und seine Derivate hemmen die Polymerasen zahlreicher RNS- und DNS-Viren, so daß diese Substanzen vielleicht als Virus-Chemotherapeutica erfolgversprechend sind.

Die Anwendung der **photodynamischen Inaktivierung** wird gegenwärtig erprobt, vielleicht wird sie bei der Behandlung rekurrender Herpes simplex-Virusinfektionen der Haut und Schleimhäute wirksam sein. Die Behandlung besteht in 1. Aufbrechen der vesiculären Läsion; 2. Applikation von Neutralrot oder Proflavin; 3. Exposition gegen fluoreszierendes Licht für die Dauer von 15 min. Der Farbstoff verbindet sich mit der Virus-DNS und der DNS-Farbstoff-Komplex wird dann durch Licht inaktiviert.

Inhibitoren der Proteinsynthese sind zwar als Chemotherapeutica nicht verwendbar, sie erwiesen sich jedoch bei Untersuchungen der Virusvermehrung als brauchbar. So hemmen z. B. **Puromycin, Cycloheximid und p-Fluorphenylalanin** sowohl die Virus- als auch die Zellproteinsynthese. Sie wurden in entsprechenden Experimenten zur Unterbrechung des Virus-Vermehrungszyclus in seinen verschiedenen Stadien verwendet.

Bei allen spezifischen Inhibitoren muß der Nachweis geführt werden, daß ihre Hemmwirkung nicht lediglich auf einer direkten cytotoxischen Wirkung der Verbindung beruht. Die Wirkung der kompetitiv wirkenden Inhibitoren (Cytosinarabinosid, JUDR usw.) kann durch Zugabe des analogen normalen Stoffwechselproduktes aufgehoben werden. Die Wiederherstellung der normalen Funktionen der Zelle nach einer derartigen Reversion kann als Hinweis auf die spezifische Natur der Hemmwirkung der untersuchten Verbindung gewertet werden.

Statolon, ein aus einem Schimmelpilz (*Penicillium stoloniferum*) isoliertes Produkt, hemmt die Vermehrung zahlreicher RNS-Viren (z. B. Picornaviren, Arboviren). Nachdem man sich viele Jahre mit der Hemmwirkung dieser Verbindung beschäftigt hatte, konnte kürzlich nachgewiesen werden, daß die RNS eines Mycophagen, der als Verunreinigung in den *Penicillium*kulturen vorhanden war, als Stimulans der Interferonproduktion wirkt.

Interferenz und Interferon

Mit dem Begriff Virusinterferenz wird der Vorgang bezeichnet, daß ein infizierendes Viruspartikel in irgendeiner Weise am Eindringen oder an der Vermehrung in einer Zelle gehindert wird, die bereits durch ein anderes Virus infiziert ist; derartige Beobachtungen kann man sowohl in Tieren als auch in Zellkulturen machen. Die bei Tieren nachzuweisende Interferenz muß von der spezifischen Immunität unterschieden werden, d. h. von der Immunität als Folge einer Stimulierung der Antikörperbildung durch das infizierende Virus. Eine derartige Interferenz kann auch nicht für alle Kombinationen von Viren nachgewiesen werden; in einigen Fällen können zwei verschiedene Viren in eine Zelle eindringen und sich in ihr vermehren (z. B. Vaccinia- und Herpesviren; Masern- und Polioviren).

Zwei Mechanismen sind als Ursache der Interferenz beschrieben worden: 1. Das zuerst vorhandene Virus kann entweder die Oberfläche der Wirtszelle oder einzelne Stoffwechselwege in der Zelle so verändern, daß sie für das nachfolgende Virus nicht mehr zur Verfügung stehen; 2. Das zuerst vorhandene Virus stimuliert die Bildung eines Inhibitors (Interferon), der die Vermehrung des zweiten Virus verhindert. Der zuerst genannte Typ der Interferenz kann sowohl zwischen miteinander verwandten als auch zwischen nicht verwandten Viren auftreten; in einigen Fällen kann ein Virus auch mit seiner eigenen Vermehrung interferieren (Autointerferenz). Die interferierende Wirkung eines Virus wurde als Möglichkeit zur Eindämmung bei Ausbrüchen mit virulenten Poliovirusstämmen verwendet, indem man abgeschwächte Poliovirusstämmen in der Bevölkerung verbreitete, die dann mit der Ausbreitung der virulenten Polioviren interferierten. Theoretisch ist es auch möglich, die Interferenz zur spezifischen Prophylaxe zu verwenden: Viren mit geringer Virulenz können nachfolgende Infektionen mit hochvirulenten Viren verhindern. Nach Infektionen mit einem Virus, das nur geringe respiratorische Symptome im infizierten

Menschen hervorruft, bildet sich eine zwei bis sechs Wochen anhaltende refraktäre Periode gegenüber einem hiermit verwandten oder auch nicht verwandten Virus des Respirationstraktes aus. Die Entwicklung hierzu geeigneter abgeschwächter Virusstämme, die einen derartigen refraktären Zeitraum nach Infektion hervorrufen, ohne daß sie selbst klinische Symptome bedingen, kann zur Verhütung schwerer Krankheitssymptome, die bei Influenza-Epidemien auftreten, beitragen. Die Interferenz ist jedoch nur eine kurzdauernde Erscheinung und nach Verschwinden des zuerst infizierenden Virus aus der Zelle werden die Zellreceptoren oder andere Substanzen rasch regeneriert, so daß die Zelle für eine erneute Infektion wiederum empfänglich ist.

Interferon

Interferon ist ein Virusinhibitor, der nach Virusinfektion intakter Tiere oder nach Infektion von Zellkulturen gebildet wird. Die Infektion eines tierischen Organismus geht mit einer maximalen Virusproduktion einher, die sich nach einer entsprechenden Inkubationszeit ausbildet. Etwa 12—48 Std nach Erreichen des maximalen Virustiters wird Interferon in großen Mengen gebildet und die Virusproduktion geht rasch zurück. Antikörper treten dagegen im Blut erst mehrere Tage nach der Verminderung der Virusproduktion auf. Dieser zeitliche Zusammenhang zwischen Virusproduktion, Auftreten der Interferonproduktion und dem späteren Erscheinen antiviraler Antikörper legt die Vermutung nahe, daß Interferon eine wesentliche Rolle bei der Abwehr des Tieres gegen Virusinfektionen spielt.

Interferon ist ein säurestabiles (pH 2,0), Trypsin-empfindliches, nicht-dialysierbares Protein, das in der Ultrazentrifuge durch Schwerfelder nicht sedimentierbar ist, durch die das Virus abgeschleudert werden kann. Interferon ist als antivirale Substanz in den Zellen jener Tierespecies wirksam, in der es gebildet wurde; es ist fast niemals in Zellen anderer Species wirksam. So schützt Interferon, das in intakten Mäusen oder in Kulturen von

Mäusezellen gebildet wurde, Mäusezellen vor einer Virusinfektion, dagegen ist es in Hühnerzellen unwirksam. Interferon ist somit Species-spezifisch, hat dagegen keine Spezifität im Hinblick auf das zu hemmende Virus. Die durch ein Virus induzierte Interferonproduktion kann eine Vielzahl von Viren hemmen.

Interferon wird in Zellkulturen entweder nach Stimulierung durch Viren oder durch synthetisch gewonnene Doppelstrang-Polynucleotide synthetisiert; im intakten Tier wird es nach Stimulierung mit Viren, Rickettsien, bakteriellen Endotoxinen oder mit synthetisch gewonnenen anionischen Polymeren und Polynucleotiden gebildet. Viele potente Interferoninduktoren sind durch den Besitz einer Doppelstrang-RNS entweder im Inoculationsmaterial gekennzeichnet oder durch die Bildung einer Doppelstrang-RNS während der Virusvermehrung. So erwies sich die aus dem Virion des Reovirus extrahierbare doppelsträngige RNS als ausgezeichneter Induktor der Interferonsynthese. Nach der Stimulierung lenkt das Wirtszellgenom die Bildung des Interferons, das von der Zelle freigesetzt wird.

Gibt man Interferon zu Zellen, bevor sie infiziert werden, so beobachtet man eine deutliche Hemmung der Virusvermehrung. Das in der Zelle vorhandene Interferon stimuliert die Bildung eines anderen Proteins, das als „translational inhibitory protein“ (TIP) bezeichnet wird. Man nimmt an, daß TIP sich an die cellulären Ribosomen bindet und sie in der Weise umändert, daß die Virus-RNS nicht translatiert werden kann, während die celluläre messenger-RNS normal translatiert wird. Die normalen Funktionen der Zelle gehen deshalb weiter, die Bildung Virus-induzierter Proteine wird dagegen verhindert. Ohne die Bildung der erforderlichen Enzyme und ohne Synthese des Hüllproteins für die Virusnachkommenschaft wird kein neues Virus produziert. Ein Schema des Wirkungsmechanismus des Interferons findet sich in Abb. 27-14.

Alle Zellen eines intakten Tieres sind wahrscheinlich zur Interferonbildung befähigt, die

Wirkungsmechanismus des Interferons

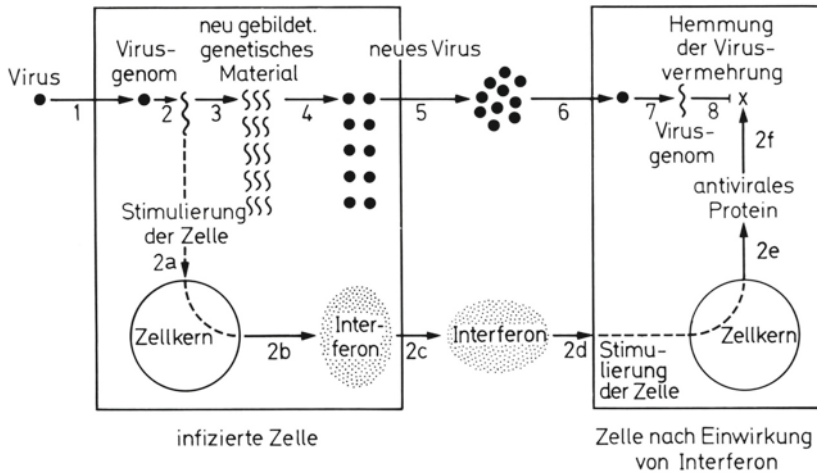


Abb. 27-14. In der linken Abbildung kommt das Virus in Kontakt mit der Zelle (1) und dringt durch die Zellmembran ein. Das Virusgenom wird in der Zelle freigesetzt (2), wodurch die Zelle zur Herstellung zahlreicher Kopien dieses Virusgenoms veranlaßt wird (3). Das neu gebildete genetische Material (4) wird mit Virusprotein umhüllt, so daß neue Viren entstehen (5), die anschließend in den Extracellularraum freigesetzt werden und sich auf andere Zellen ausbreiten können. Während der frühen Infektionsstadien stimuliert der Vermehrungsprozeß des Virus in der Zelle (2a) die gespeicherte Information zur Interferonsynthese. Durch eine Reihe komplexer Syntheseschritte wird das Protein Interferon gebildet (2b) und umgehend (2c) in den Extracellularraum freigesetzt. In vielen Fällen erreicht Interferon umgebende Zellen vor dem Eintreffen des neu gebildeten Virus. In diesen umgebenden Zellen (2d) stimuliert Interferon die Verwendung eines anderen Satzes gespeicherter Informationen, die zur Bildung eines intracellulären antiviralen Proteins führen (2e). Dieses antivirale Protein (2f) verändert den Proteinsyntheseapparat der Zelle, so daß er von dem später eintreffenden Virusgenom nicht verwendet werden kann. Aus diesem Grund führt jede Infektion einer durch Interferon geschützten Zelle durch ein neues Virus (6) zwar zur Freisetzung des Virusgenoms (7), das jedoch vom Syntheseapparat der Zelle nicht beachtet wird (8), so daß wesentliche Virusbestandteile nicht gebildet werden. Die Virusvermehrung wird damit gehemmt, die Zelle ist geschützt (Baron).

Masse wird aber offensichtlich während der Virusinfektion in den Zellen des reticulo-endothelialen Systems gebildet.

Bei Tieren führt die Gabe verschiedener Substanzen zur Bildung von zumindest zwei verschiedenen Klassen von Interferonen. Die eine Interferonart liegt offenbar präformiert vor und wird innerhalb von zwei Stunden nach der Injektion von Statolon oder von Endotoxinen in den Blutstrom abgegeben. Dieses Interferon hat ein höheres Mol.-Gewicht ($8,5 \times 10^4$) im Vergleich zu jenem Interferon, das 18 Std nach der Stimulierung im Serum vorhanden ist. Dieses später nachweisbare Interferon besitzt ein Mol.-Gewicht von $3 - 4 \times 10^4$ und wird nach entsprechender Stimulierung synthetisiert. Unter verschiedenartigen experimentellen Bedingungen hat man Interferone mit noch anderen

Mol.-Gewichten gefunden, und es scheint sicher zu sein, daß Interferon eine Gruppe von Proteinen ist, die die biologische Fähigkeit zur Hemmung der Virusvermehrung durch Änderung des Zellstoffwechsels besitzen.

Die geringe Antigenität des Interferons und sein deutlicher antiviraler Effekt erklärt das große Interesse, das diese Substanz und ihre mögliche Anwendung bei der Kontrolle von Viruserkrankungen des Menschen gefunden hat. In Tierversuchen konnte die Wirksamkeit exogenen Interferons zur Verhütung oder auch zur Verminderung der Schwere einer Viruserkrankung nachgewiesen werden. Die Schwierigkeiten bei der Produktion ausreichender Interferonmengen zur Anwendung beim Menschen konnten bisher jedoch nicht behoben werden. Interferon ist unwirksam

und ändert den Ablauf einer Viruserkrankung nicht, wenn die Substanz nach Beginn der Infektion verabreicht wird. Die gegenwärtigen Möglichkeiten zur Anwendung von Interferon bei der Kontrolle menschlicher Erkrankungen liegen in der Entwicklung eines Induktors der Interferonsynthese. Lebendimpfstoffe aus attenuierten Viren wurden als Induktoren der Interferonsynthese verwendet, außerdem wurde die Wirkung verschiedener synthetischer Induktoren untersucht. Am erfolgversprechendsten erscheint ein RNS-Analoges, das als Poly I:C bezeichnet wird und das durch Komplexbildung aus zwei Homopolymeren — Polyriboinosinsäure und Polyribocytidylsäure — gewonnen wird. Poly I:C und andere synthetische Polynucleotide sowie andere Induktoren wurden in Tierversuchen eingehend untersucht, vor allem das Poly I:C wurde auch gelegentlich zur Behandlung von Patienten verwendet; ein Induktor zur allgemeinen Anwendung steht jedoch gegenwärtig nicht zur Verfügung.

Pathogenese von Virus-erkrankungen

Die Implantation und Vermehrung des Virus erfolgt in den verschiedenen Geweben in dem gleichen Maße, wie der Infektionserreger auf sein Ziel von der Eintrittspforte her fortwandert. In dem letztlich befallenen Organ muß die Virusvermehrung einen kritischen Schwellenwert überschreiten, bevor es zur Zellnekrose kommt und die Erkrankung manifest wird. In Abb. 27-15 werden als Beispiel für Virusinfektionen die Mäusepocken, eine Hauterkrankung, und die Poliomyelitis, eine Erkrankung des Zentralnervensystems, gezeigt.

Bei den Mäusepocken dringt das Virus in den Körper durch kleine oberflächliche Läsionen der Haut ein und vermehrt sich in den Zellen der Epidermis. Gleichzeitig wird es auf den Lymphbahnen zu den regionären Lymphknoten weitergetragen, wo ebenfalls eine Vermehrung eintritt. Die wenigen Virus-

partikel, die auf dem Wege über die efferenten Lymphbahnen in das Blut eindringen, werden durch die Makrophagen der Leber und der Milz phagocytiiert. In diesen beiden Organen setzt dann sehr rasch eine Virusvermehrung ein. Nach Freisetzung des Virus aus Leber und Milz breitet es sich auf dem Blutwege aus und setzt sich in den basalen Epidermisschichten der Haut, in den Con-junctivalzellen und in der Nähe der Lymph-follikel im Intestinum fest. Außerdem kann sich das Virus gelegentlich in den Epithelialzellen der Niere, der Lunge, der Glandula submaxillaris und des Pankreas ansiedeln. An den Stellen des Eindringens tritt eine Primärläsion auf. Diese äußert sich als eine lokale Schwellung, die sich rasch vergrößert, ödematös wird, ulceriert und bis zur Narbenbildung fortschreitet. Hiernach tritt ein generalisiertes Exanthem auf, durch das große Virusmengen in die Umgebung freigesetzt werden.

Bei der Poliomyelitis dringt das Virus in den Organismus auf dem Wege über den Verdauungstrakt ein und vermehrt sich entweder an den Stellen der anfänglichen Virusansiedlung (Tonsillen, Peyersche Plaques) oder aber in den Lymphknoten, die dieses Gewebe versorgen. Danach erscheint es im Rachen und in den Faeces. Auf dem Blutweg erfolgt die sekundäre Virusausbreitung zu den anderen empfänglichen Organen, d.h. in andere Lymphknoten, in das braune Fett und das Zentralnervensystem. Innerhalb des Zentralnervensystems breitet sich das Virus entlang der Nervenfasern aus und erreicht auf diesem Wege die motorischen Ganglien. Wenn es zu einer deutlichen Virusvermehrung bei der Ausbreitung innerhalb des ZNS kommt, so werden Nervenzellen zerstört und Lähmungen treten auf. Die Ausscheidung des Virus in die Umgebung des Erkrankten hängt dagegen nicht von dieser sekundären Virusausbreitung zum Zentralnervensystem ab. Die Ausbreitung des Virus in das Zentralnervensystem hinein wird unterbrochen, falls Antikörper als Folge einer früheren Infektion oder Schutzimpfung im Organismus vorhanden sind.

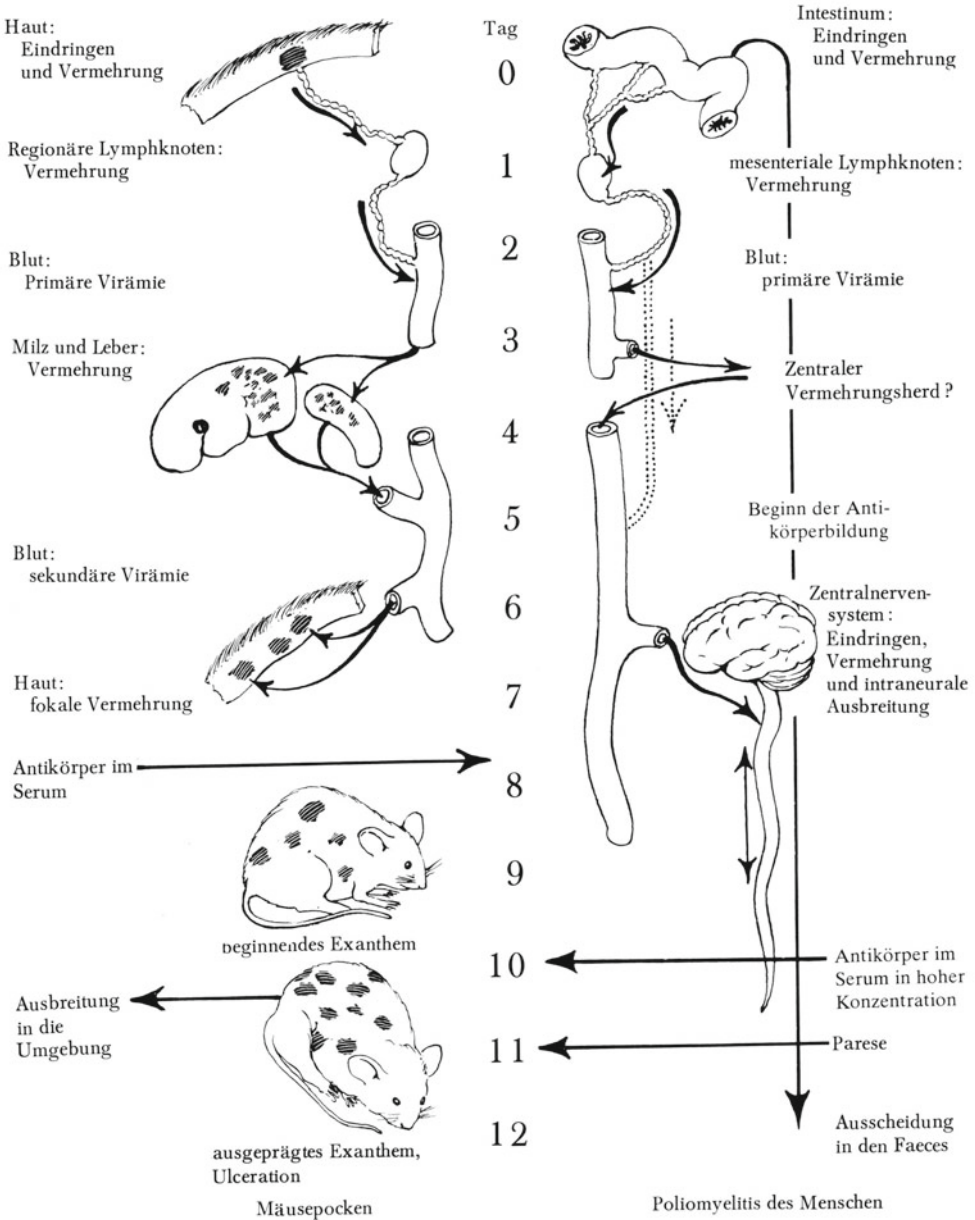


Abb. 27-15. Schematische Darstellung der Pathogenese der Mäusepocken und der Poliomyelitis (nach Fenner, modifiziert)

Persistierende Virusinfektionen und immun-pathologische Mechanismen bei Viruserkrankungen

Einzelne Viren führen nicht regelmäßig zum Tod der infizierten Zellen. Die immunologi-

sche Reaktion des Wirtsorganismus auf diese Viren kann für die beobachteten pathologischen Veränderungen und die klinischen Symptome verantwortlich sein. Ein Beispiel hierfür ist die Infektion mit dem Virus der lymphocytären Choriomeningitis der Maus.

Erwachsene Mäuse erkranken nach einer Infektion mit diesem Virus nicht, wenn sie durch Röntgenbestrahlung, durch Gabe immunosuppressiver Substanzen oder durch ein Antiserum gegen lymphoide Zellelemente der Maus immunologisch inkompetent gemacht wurden. Das Virus vermehrt sich in diesen Tieren und bildet eine chronische Infektion aus, die bis zur Wiedererlangung der immunologischen Kompetenz anhält, gleichzeitig wird das Tier krank. Eine Infektion neugeborener Mäuse vor Erlangung einer immunologischen Kompetenz führt zu einer lebenslänglich anhaltenden Virusinfektion, die ohne akute Krankheitssymptome abläuft. Im Alter von 10 bis 12 Monaten zeigen viele Mäuse mit einer derartigen persistierenden Infektion eine letale Erkrankung mit Beteiligung des Zentralnervensystems. Bei diesen Tieren findet sich eine chronische Glomerulonephritis mit Hypergammaglobulinämie. Man vermutet, daß die Veränderungen am Glomerulum auf der Ablagerung von Antigen-Antikörperkomplexen beruhen (siehe Kapitel 33).

Derartige persistierende Virusinfektionen treten bei zahlreichen Virusarten auf, wobei die Persistenz in einigen Fällen vom Lebensalter zum Zeitpunkt der Infektion abhängt. Beim Menschen führt eine pränatale Infektion mit Rötelnvirus und Cytomegalievirus zu einer Viruspersistenz von begrenzter Dauer, die wahrscheinlich durch die mit der Reifung

des Individuums einhergehenden Fähigkeit zur immunologischen Reaktion beendet wird. Persistierende („slow“) Virusinfektionen spielen bei der Ausbildung menschlicher Erkrankungen vielleicht eine sehr viel größere Rolle, als früher vermutet wurde. Bei Tieren sind derartige persistierende Virusinfektionen bei Leukämien und Sarkomen der Hühner und Mäuse anzutreffen (siehe Kapitel 40), ferner bei progressiven degenerativen Erkrankungen des Zentralnervensystems des Menschen und einiger Tierarten (siehe Kapitel 33). Eine persistierende Viruserkrankung der Aleuten-Nerze ist mit Veränderungen der Immunglobuline im Serum verknüpft, wie man sie auch bei dem multiplen Myelom des Menschen antrifft. Man nimmt an, daß diese Veränderungen der Immunglobuline eine überschießende Reaktion einzelner Immunocyten bei der Reaktion des Wirtsorganismus auf die ständige Anwesenheit des Virus darstellen. Bei den infizierten Nerzen findet man ebenfalls pathologische Veränderungen der Blutgefäße und Nieren, die den bei bestimmten Kollagenosen des Menschen nachweisbaren Besonderheiten ähnlich sind. Die Reaktion des Wirtsorganismus auf das infizierende Virus muß nicht immer positiv für diesen Organismus sein. In Abb. 27-16 wird eine Möglichkeit skizziert, wie Viren bei einer „slow“-Virusinfektion vielleicht persistieren und eine Glomerulonephritis auslösen können.

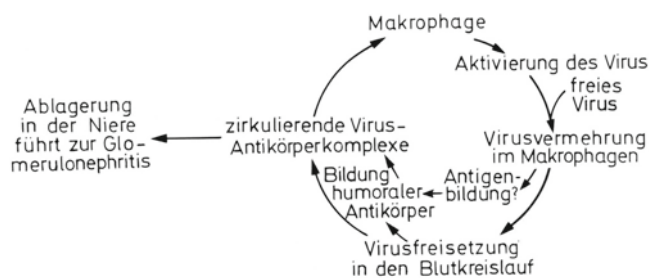


Abb. 27-16. Hypothesen zur Viruspersistenz und zur Erkrankung bei der Aleuten-Virusinfektion des Nerzes. Makrophagen phagozytieren Virus-Antikörperkomplexe, reaktivieren das Virus und ermöglichen hierdurch eine Virusvermehrung in der phagozytierenden Zelle. Durch diese Annahme würde jede Wirkung antiviraler Antikörper bei der Beendigung der Infektion negiert und eine Viruspersistenz begünstigt. Die Glomerulonephritis beruht im wesentlichen auf der Ablagerung von Virus-Antikörperkomplexen in den Glomerula (Porter).

Bildung von Einschlusskörpern

Während der Virusvermehrung in der Zelle werden gelegentlich virusspezifische Strukturen gebildet, die man als Einschlusskörper bezeichnet. Diese Einschlusskörper sind sehr viel größer als die einzelnen Viren und zeigen häufig eine Affinität für saure Farbstoffe, wie z. B. Eosin oder saures Fuchsin. Sie liegen entweder im Zellkern oder im Cytoplasma oder auch an beiden Stellen (wie z. B. bei Masern). Bei vielen Virusinfektionen muß man annehmen, daß diese Einschlusskörper Orte der Virussythese — Virusfabriken — sind. Bei anderen Infektionen wiederum (Molluscum contagiosum) besteht der Einschlusskörper aus großen Mengen von Viruspartikeln, die man elektronenoptisch in diesem Einschlusskörper heranreifen sieht. Bei noch anderen Virusinfektionen, wie z. B. bei den intranucleären Einschlusskörpern bei Herpes, hat sich das Virus innerhalb des Zellkerns vermehrt, bevor sich der typische eosinophile Einschlusskörper bildet. Bei diesem letzten Beispiel ist der Einschlusskörper offenbar nur ein Überrest der Virusvermehrung. Vieles ist über die Bedeutung dieser Einschlusskörper noch unklar.

Beobachtete Unterschiede in dem Auftreten der Einschlusskörper hängen unter anderem von der Zusammensetzung des verwendeten Fixierungsmittels ab. Werden die Zellen bei einem pH von 7,3 in Formalin oder Osmiumtetroxyd fixiert, so färbt sich der Einschlusskörper nur sehr schwach mit sauren Farbstoffen an und nimmt im allgemeinen den ganzen chromatinfreien Bezirk des Zellkerns ein. Im Gegensatz hierzu führt die Anwendung von Essigsäure-haltigen Fixierungsmitteln, wie z. B. nach Zenker, Bouin, Carnoy, zu einer Schrumpfung der Einschlusskörper und es bildet sich ein heller, chromatinfreier Hof rings um den Einschlusskörper, der ihm sein charakteristisches Aussehen gibt. Einschlusskörper können sehr klein sein, nicht größer als die Nucleoli; der Zellkern kann ein oder auch mehrere dieser Einschlüsse enthalten. Sie können sich langsam vergrößern und verschmelzen dann mit-

einander, bis sie den gesamten Zellkern ausfüllen, wie es z. B. bei Masern der Fall ist. Der Nucleolus wird durch die Einschlussmasse dann gegen die offensichtlich normale Zellkernmembran gedrängt.

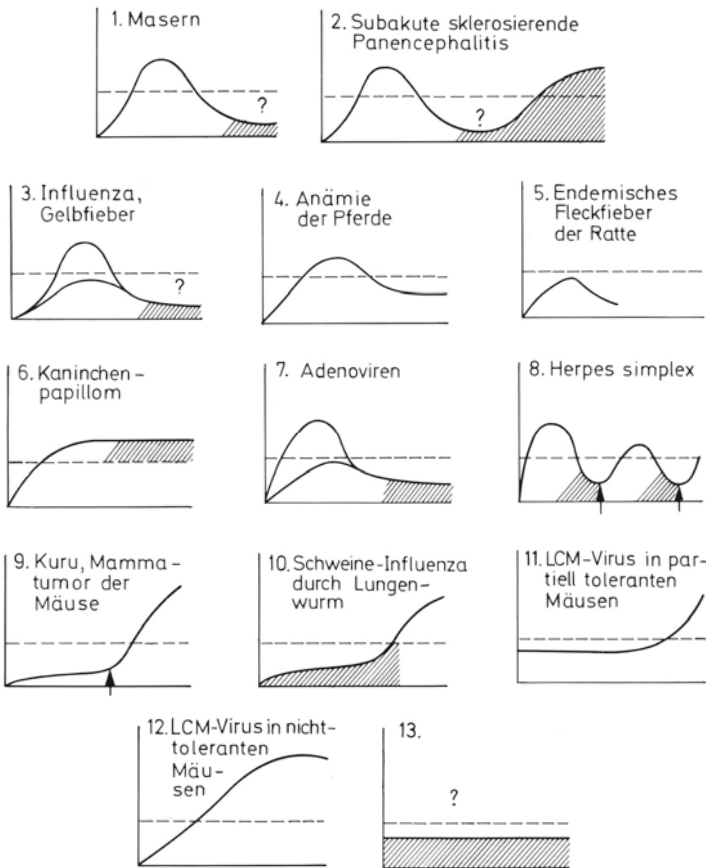
Der Nachweis von Einschlusskörpern kann eine wesentliche diagnostische Hilfe bedeuten. Die intracytoplasmatischen Einschlusskörper in Nervenzellen, die Negri-Körperchen, sind pathognomonisch für Rabies. Gelegentlich kann es schwierig sein, eine leichte Pockenerkrankung aufgrund klinischer Kriterien von einem schweren Erkrankungsfall an Windpocken zu unterscheiden. Die histologische Untersuchung der Hautläsionen erlaubt dagegen eine rasche Diagnose, da bei Pocken intracytoplasmatische Einschlüsse vorhanden sind, während bei Windpocken intranucleäre Einschlusskörper nachgewiesen werden können.

Vergleichende Untersuchungen unter Verwendung von cytochemischen Methoden und Anwendung der Immunfluoreszenz erbrachten eine Fülle von Befunden über die intracelluläre Bildung der Virusnucleinsäuren und der virusspezifischen Antigene. Z. B. hat die Färbung von Zellen mit Acridinorange nach Infektion mit Reoviren die Entwicklung eines Einschlusskörpers im Cytoplasma der Zellen aufgezeigt, der doppelsträngige Virus-RNS enthält und inmitten einer Proteinmatrix liegt. Durch Anwendung Fluorescein-gekoppelter Antikörper konnte dann gezeigt werden, daß diese Matrix große Mengen von dem Antigen des Reovirus enthält. Bei Zellen, die mit Vaccinia-Virus infiziert wurden, hat man durch die Verwendung von zwei Immunsereen, von denen jedes mit einem anderen fluoreszierenden Farbstoff gekoppelt worden war, zeigen können, daß die Bildungsorte im Cytoplasma für das LS-Proteinantigen und das aus Nucleoprotein bestehende NP-Antigen ohne Schwierigkeiten unterschieden werden können. Der typische Einschlusskörper in Vaccinia-infizierten Zellen besteht im wesentlichen aus dem NP-Antigen. In parallel laufenden Untersuchungen mit Acridinorange konnte in diesen Einschlusskörpern eine Synthese der Virus-DNS nachgewiesen werden.

Chromosomenveränderungen

Als Folge einer Virusinfektion von Zellen kann man auch Veränderungen des Karyotyps feststellen. Die meisten Veränderungen, die man hierbei beobachten kann, sind zufallsmäßig verteilt. Häufig kommt es zu Brüchen, Abspaltungen und Rearrangements der Chromosomen; außerdem hat man Veränderungen der Chromosomenzahlen sowie die Bildung abnormer Chromosomen beobachtet. Zostervirus zeigt nach Infektion menschlicher Zellen einen der Colchicinwirkung ähnlichen Effekt, der Mitosecyclus wird

in der Metaphase unterbrochen, die Chromosomen sind überkontrahiert und es bilden sich Mikronuclei. Einige Chromosomen zeigen außerdem Brüche. Derartige Brüche hat man auch in den Leukocyten von Patienten mit Windpocken oder auch mit Masern beobachtet. Diese beiden Virusarten sowie das Rötelnvirus führen auch bei in vitro kultivierten Zellen zur Ausbildung ähnlicher Chromosomenveränderungen. Ferner werden zufällig verteilte Chromosomenveränderungen auch in Zellen nach Infektion mit den Papovaviren SV-40 und Polyoma sowie nach Transformation durch diese beiden Virusarten



- Schwelle der apparenten Infektion (klinisch manifeste Erkrankung)
- ↑ Aktivierung der Virusproduktion im ursprünglichen Wirt
- Verlauf der Erkrankung
- ▨ okkultes Virus vorhanden

oder Adenovirus Typ 12 beobachtet. Viele dieser Befunde müssen noch als vorläufig angesehen werden, weitere Untersuchungen des Effektes verschiedener Virusarten auf die Chromosomen werden gegenwärtig an vielen Stellen durchgeführt.

Mit den Zellen des chinesischen Hamsters hat man ein besonders günstiges Untersuchungsobjekt in der Hand, da sie einen stabilen Karyotyp besitzen, der aus nur 22 Chromosomen besteht. Die Beimpfung dieser Hamsterzellen mit Herpes simplex-Virus führt zu Chromosomenveränderungen, die nicht zufällig verteilt sind. Die meisten Brüche treten in der Region 7 des Chromosoms Nr. 1 sowie der Region 3 des X-Chromosoms auf, während das Y-Chromosom nicht betroffen ist. Voraussetzung für das Auftreten dieser Chromosomenveränderungen ist eine Vermehrung des Virus.

Bis jetzt wurden pathognomonische Chromosomenveränderungen weder in virusinfizierten noch in virustransformierten Zellen nachgewiesen.

Latente Virusinfektionen

Zu den inapparenten Infektionen kann man diejenigen Wirt-Parasit-Verhältnisse rechnen, bei denen die Infektion ohne Symptome abläuft. Ein anderer Ausdruck, der vor allem bei menschlichen Infektionen gebräuchlich ist, ist „subklinische“ Infektion.

Latente Infektionen sind inapparente Infektionen, die chronisch verlaufen und bei denen sich ein bestimmtes Gleichgewicht zwischen Virus und Wirt eingestellt hat. Mit der Bezeichnung „okkultes Virus“ kennzeichnet

Abb. 27-17. Apparente, inapparente, latente und okkulte Virusinfektionen.

(1) Masern beginnen in den meisten Fällen akut und führen zu einer klinisch manifesten Erkrankung, die eine langanhaltende Immunität hinterläßt.

(2) Masern können mit der Persistenz einer latenten Infektion einhergehen; hierbei werden inkomplette, nackte Nucleocapside gefunden, wie man sie bei Patienten mit einer subakuten sklerosierenden Panencephalitis nachweisen kann.

(3) Gelbfieber und Influenza zeigen einen ähnlichen Verlauf wie Masern; die Infektionen verlaufen jedoch häufiger subklinisch als klinisch manifest.

(4) Bei der infektiösen Anämie der Pferde — und gelegentlich bei der Virushepatitis Typ B des Menschen — ist das Abklingen der klinischen Erkrankung mit dem Auftreten einer latenten Infektion gekoppelt, bei der voll aktives Virus im Blut persistiert.

(5) Einige Infektionen können in einer bestimmten Species stets subklinisch verlaufen; Beispiele hierfür sind die Encephalomyelitis bei einigen Vogelarten und das endemische Fleckfieber bei Ratten.

(6) Beim Kaninchenpapillom ist der Verlauf der Infektion stets chronisch, und dieser chronische Verlauf ist mit einem Übergang des Virus in den okkulten Zustand verbunden.

(7) Die Infektion des Menschen mit einzelnen Adenoviren kann klinisch manifest oder subklinisch verlaufen. Es kann eine langanhaltende latente Infektion entstehen, während das Virus nur in niedriger Konzentration vorhanden ist, das Virus kann auch nach Abklingen der klinischen Symptome persistieren.

(9) Eine Infektion kann über einen langen Zeitraum vollkommen latent bleiben, bevor sie aktiviert wird. Derartige „slow“-Virusinfektionen sind durch lange Inkubationszeiten gekennzeichnet; als Beispiele können das Mammatumorvirus der Maus, das Scrapie-Virus bei Schafen und die Kuru-Erkrankung des Menschen genannt werden.

(10) In Schweinen, die virushaltige Lungenwürmer gefressen haben, bleibt das Schweine-Influenzavirus solange okkult, bis ein entsprechender Stimulus die Virusproduktion und damit auch die klinische Erkrankung induziert.

(11) Das Virus der lymphocytären Choriomeningitis (LCM) kann bereits in utero zu einer Infektion der Feten führen. Es entwickelt sich eine Art modifizierter immunologischer Toleranz, bei der nur geringe Antikörpermengen produziert werden. Diese Antikörper und zirkulierendes LCM-Virus bilden Antigen-Antikörperkomplexe, die letztlich zu einer immunpathologisch bedingten Erkrankung in dem partiell toleranten Wirt führen. Das Vorhandensein von LCM-Virus bei dieser latenten Infektion (zirkulierendes Virus und gering ausgeprägte oder keine apparenten Krankheitssymptome) kann durch Übertragung auf einen Indikatorwirt bewiesen werden (z.B. nicht-tolerante erwachsene Mäuse auf einer LCM-freien Zucht); die infizierten nicht-toleranten Mäuse zeigen die klassischen akuten Symptome der LCM und sterben (12).

(13) Es besteht die Möglichkeit einer latenten Infektion durch ein okkultes Virus, das nicht aktiviert werden kann. Der Nachweis eines solchen Virus ist eine schwierige Aufgabe.

man jene Fälle, bei denen keine Viruspartikel gefunden werden können, wobei der tatsächliche Zustand, in dem sich das Virus befindet, z. Z. nicht angegeben werden kann.

Wenn gezeigt werden kann, daß tierische oder pflanzliche Viren einen Entwicklungszyclus durchmachen, wie er für Bakteriophagen beschrieben wird (siehe Kapitel 9), so sind die Bezeichnungen „Provirus“, „vegetatives Virus“ und „infektiöses Virus“ zur Kennzeichnung der entsprechenden Stadien angezeigt. Das infektiöse Virus ist das vollständig ausgereifte Viruspartikel.

Ein moderiertes Virus (in gewisser Hinsicht einem temperierten Phagen vergleichbar) ist ein Virus, das sich in einer Zelle vermehrt, die diesem Vorgang überlebt und sich auch weiterhin noch vermehren kann (einige Viren können in einem Zellsystem moderiert und in einem anderen cytocid sein).

Eine Infektion mit „slow viruses“ ist durch eine verlängerte Inkubationszeit gekennzeichnet, die Monate oder Jahre anhalten kann, während der das Virus sich kontinuierlich vermehrt und das Gewebe zunehmend zerstört.

Latente Infektionen in Gewebekulturen

Die Vermehrung der Zellen in vitro kann über viele Generationen von einer gleichzeitigen Virusvermehrung begleitet sein. Die Anzahl von solchen Zellen, die in einer optimal wachsenden Gewebekultur das Virus vermehren, ist stets nur ein kleiner Anteil der gesamten Zellpopulation.

Zellen können sich nach ihrer Infektion mit einzelnen Virusarten teilen und in infizierte Klone auswachsen. Solche Infektionen gleichen in dieser Hinsicht Infektionen durch moderierte Viren, man hat jedoch keinen Beweis dafür, daß die Virusnucleinsäure in irgendeine echte Beziehung mit der Nucleinsäure der Wirtszelle tritt. In den meisten Zellen einer vermehrungsfähigen Virusträgerkultur scheint das Virus unter irgendeiner Kontrolle oder einem Repressionsmechanismus zu stehen, z. B. Interferonbildung. Die durch bestimmte Versuchsbedingungen (z. B. sehr starkes Zellwachstum, Nährmediummangel, Temperaturniedrigung) induzierte

Virusfreisetzung in einem derartigen Virus-Zellkomplex führt stets auch zu einer Verlangsamung der Zellvermehrung.

In Abb. 27-17 sind Beispiele apparter, inapparter, latenter und okkulten Virusinfektionen zusammengestellt.

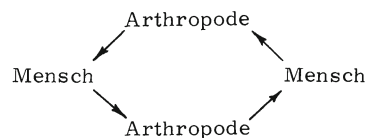
Ökologie und Übertragung von Viren und Rickettsien

Viren können auf folgende Weise übertragen werden: 1. Direkte Übertragung von Mensch zu Mensch durch Kontakt, wobei Tröpfcheninfektionen eine wesentliche Rolle spielen können (z. B. Influenza, Masern, Pocken). 2. Übertragung durch den Verdauungstrakt, wobei ein enger Kontakt mit Virusausscheidern, Nahrungsmitteln oder Getränken gegeben sein kann (z. B. Enterovirusinfektionen; infektiöse Hepatitis). 3. Übertragung durch Staub (z. B. Q-Fieber). 4. Übertragung durch Bisse (z. B. Rabies). 5. Übertragung durch einen als Überträger dienenden Arthropoden (z. B. Arboviren).

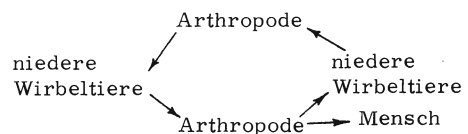
Einige Viren können auf mehrere verschiedene Arten übertragen werden und deshalb auch unterschiedliche epidemiologische Charakteristika aufweisen.

Die folgenden Cyclen können bei den durch Arthropoden übertragenen Viren festgestellt werden:

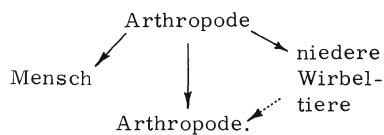
1. Mensch-Arthropode-Cyclus. Beispiel: Städtegelbfieber.



2. Niederer Wirbeltier-Arthropode-Cyclus, hiervon kann die Infektion des Menschen ausgehen. Beispiele: Dschungelgelbfieber, Pferdeencephalitis.



3. Arthropode-Arthropode-Cyclus mit gelegentlicher Infektion des Menschen und niederer Wirbeltiere. Beispiel: Colorado-Zekkenfieber.



Bei dem unter 3. angeführten Übertragungscyclus kann das Virus von erwachsenen Arthropoden auf die Nachkommenschaft auch durch Eier übertragen werden (transovariable Übertragung). Der Cyclus geht also mit oder ohne Zwischenschaltung eines Wirbeltierwirtes weiter.

Bei den Wirbeltieren ruft das Eindringen der meisten Viren eine heftige, kurzdauernde Reaktion hervor, deren Ausgang für die weiteren Ereignisse entscheidend ist. Entweder stirbt der Wirt oder er überlebt mit Hilfe der Bildung von Antikörper, die das Virus neutralisieren oder abtöten können. Unabhängig vom Ausgang der Infektion ist die Aufenthaltsdauer des aktiven Virus im Organismus im allgemeinen nur kurz, obwohl Zustände einer latenten Virusinfektion wie z.B. bei Herpes-, Adenovirus- und Speicheldrüsenvirusinfektionen vorkommen können. Bei den Arthropoden, die als Überträger des Virus dienen, ist dieses Verhältnis Wirt-Parasit im allgemeinen vollkommen anders. Das Virus kann nur geringe oder auch gar keine Krankheitssymptome in dem Arthropoden hervorrufen und trotzdem während des ganzen Lebens des Wirtes im aktiven Zustand im Arthropoden verbleiben. Aus diesem Grunde stellen Arthropoden im Gegensatz zu Wirbeltieren permanente Wirte und Reservoir der Viren dar.

Virus-Impfstoffe

Die Anwendung von Virus-Impfstoffen zur Verhütung von Erkrankungen des Menschen wird in den Kapiteln, in denen die jeweiligen Erkrankungen besprochen werden, detail-

liert dargestellt; eine Zusammenfassung findet sich in Tabelle 27-9. Einige allgemeine Grundsätze, die auf die meisten Virus-Impfstoffe — sowohl auf die jetzt verfügbaren als auch auf die Impfstoffe, die sich in der Entwicklung befinden — zutreffen, können jedoch aufgestellt werden.

Die Empfehlungen zur Impfstoffanwendung, wie sie in Tabelle 27-9 zusammengestellt sind, gelten in erster Linie für Länder mit einem voll leistungsfähigen Gesundheitsdienst, in denen die Bevölkerung als „gut geschützt“ angesehen wird. Abweichend von einer lange geübten Praxis wird die Pocken-Schutzimpfung in USA und anderen Ländern, in denen die Erkrankung nicht mehr endemisch ist und selten — wenn überhaupt — eingeschleppt wird, nicht mehr empfohlen. In den Entwicklungsländern haben Programme zur Massenimpfung gegen Pocken in letzter Zeit einen eindeutigen Erfolg gezeigt, so daß eine völlige Ausrottung dieser Erkrankung in naher Zukunft möglich erscheint.

Impfstoffe aus inaktivierten Viren

Impfstoffe, die durch Inaktivierung intakter Virionen gewonnen werden, stimulieren meist die Bildung zirkulierender Antikörper gegen die Proteine in der äußeren Umhüllung des Virus und führen hierdurch zur Ausbildung einer gewissen Resistenz. Bei einigen Erkrankungen stehen gegenwärtig nur Impfstoffe aus inaktivierten Viren zur Verfügung. Die Anwendung dieser Impfstoffe ist mit einigen Nachteilen (siehe unten) verbunden, obwohl man diesen Schwierigkeiten z.T. durch die Entwicklung neuer Impfstoffe (z.B. Influenza, Rabies) begegnen kann, die entweder gereinigt sind oder aus Virusbestandteilen als Antigen gewonnen werden.

1. Bei der Herstellung von Impfstoffen aus inaktivierten Viren muß außerordentlich sorgfältig darauf geachtet werden, daß kein verbliebenes vermehrungsfähiges Virus im Impfstoff vorhanden ist.
2. Die im Impfling hervorgerufene Immunität ist häufig nur kurzdauernd und muß

Tabelle 27-9. Wesentliche Impfstoffe, die zur Verhütung von Viruserkrankungen des Menschen verwendet werden

Erkrankung	Herkunft des Impfstoffes	Zustand des Virus	Anwendungsart
Empfohlene spezifische Prophylaxe für die Allgemeinbevölkerung			
Poliomyelitis	Gewebekulturen (Formalinbehandlung oder Formalinbehandlung und UV-Bestrahlung)	inaktiv	intramuskulär
	Gewebekultur (mensch. diploide Zellstämme, Affenniere)	vermehrungsfähig, abgeschwächt	oral
Masern ^d	Gewebekultur (Hühnerembryo)	vermehrungsfähig, abgeschwächt ^a	subcutan ^b
Pocken und Alastrim ^f	„Lympe“ vom Kalb oder Schaf (mit Glycerin versetzt; lyophilisiert)	aktiv	Hautscarifikation oder „multiple pressure“;
	Chorioallantois, Gewebekultur (lyophilisiert)	aktiv	„Jet“-Injektion (gesondert gefertigter Impfstoff)
Mumps ^d	Gewebekultur (Hühnerembryo)	vermehrungsfähig, abgeschwächt	subcutan
Röteln ^{d e}	Gewebekultur (Hühnerembryo)	vermehrungsfähig, abgeschwächt	subcutan
	Gewebekultur (Entenembryo, Kaninchen- oder Hundeniere)	vermehrungsfähig, abgeschwächt	subcutan
Empfohlene spezifische Prophylaxe unter besonderen Bedingungen (Epidemie, Exposition, Reisen, Militärpersonen)			
Gelbfieber	Gewebekultur und Eier (17 D-Stamm)	vermehrungsfähig, abgeschwächt	subcutan, intradermal
Influenza	Embryoniertes Hühnerei: Allantoisflüssigkeit (Formalinbehandlung, UV-Bestrahlung, Konzentrierung durch verschiedene Verfahren)	inaktiv	subcutan
	Hochgereinigte Impfstoffe oder Spaltimpfstoffe empfohlen (falls verfügbar)	inaktiv	subcutan
Rabies	Entenembryo, Phenolbehandlung oder UV-Bestrahlung	inaktiv	subcutan
Adenovirus ^c	Affennierengewebekultur (Formalinbehandlung)	inaktiv	intramuskulär
	Zellstämme aus menschlichen diploiden Zellen	vermehrungsfähig, abgeschwächt	oral in besonders präparierten Kapseln
Japanische B-Encephalitis	Mäusehirn (Formalinbehandlung)	inaktiv	subcutan
Pferdeencephalomyelitis, östliche und westliche ^c	Hühnerembryo (Formalinbehandlung)	inaktiv	subcutan
Frühsommer-Meningoencephalitis ^c	Mäusehirn (Formalinbehandlung)	inaktiv	subcutan

durch sog. „Booster“-Injektionen aufgefrischt werden. Hieraus ergeben sich nicht nur organisatorische Schwierigkeiten, die jeweiligen Impflinge mehrfach einzubestellen, sondern es muß auch mit den möglichen Folgen der wiederholten Verabreichung von Fremdprotein (Überempfindlichkeitsreaktionen) gerechnet werden.

3. Die parenterale Verabreichung von Impfstoffen aus inaktivierten Viren hat trotz der Stimulierung zirkulierender Antikörper in ausreichender Konzentration häufig zu einem unbefriedigenden Schutzeffekt geführt, da keine ausreichende lokale Resistenz an den Eintrittspforten oder den primären Vermehrungsorten der Wildviren hervorgerufen wurde (z. B. Nasopharynx bei respiratorischen Infektionen, Gastrointestinaltrakt bei Polioviren; siehe Kapitel 31 und 34).

Impfstoffe aus vermehrungsfähigen, abgeschwächten Viren

Impfstoffe aus vermehrungsfähigen, abgeschwächten (attenuierten) Viren haben den Vorteil, daß sie im Hinblick auf die Immunität wie eine natürliche Infektion wirken. Die Viren vermehren sich im Wirtsorganismus, induzieren im allgemeinen eine länger anhaltende Antikörperbildung und führen auch zur Produktion von Antikörpern und zur Ausbildung einer Resistenz an den Eintrittspforten des Wildvirus. Der Nachteil die-

ser Impfstoffe liegt in dem Risiko einer Reversion zu größerer Virulenz während der Virusvermehrung im Impfling. Diese Reversion hat sich zwar in der Praxis nicht als Problem erwiesen, die Möglichkeit hierzu kann jedoch nicht übersehen werden. Die lizenzierten Impfstoffe sollten im vollen Umfang eingesetzt werden, doch ist ein ausreichendes Überwachungssystem erforderlich.

Ein weiterer Nachteil der Lebendimpfstoffe liegt in der Möglichkeit einer unbemerkten latenten Infektion des Kultursubstrates (Eier, Zellkulturen) durch zusätzliche Erreger, die in den Impfstoff gelangen können. Zu diesen, zusätzlich zum Impfvirus in Impfstoffen vorhandenen Erregern gehören Hühner-Leukoseviren, das Papovavirus des Affen SV-40 und das Cytomegalievirus des Affen. Dieses Problem der Kontamination der Impfstoffe kann durch die Produktion des Impfvirus in normalen Zellen umgangen werden, die fortlaufend als Zellkulturen gehalten werden (z. B. Zellstämme aus menschlichen diploiden Zellen). Durch Vermehrung in derartigen Zellkulturen gewonnene Impfstoffe sind in zahlreichen Ländern seit etwa 5 Jahren in Gebrauch und wurden bei mehr als 10 Millionen Menschen angewendet. Ein Polio-Lebendimpfstoff, der in menschlichen diploiden Zellen (WI-38) hergestellt wird, wurde 1972 in USA lizenziert.

Die Entwicklung von Virusstämmen, die sich als Lebendimpfstoffe eignen, geschah frü-

a Ein Masern-Impfstoff aus inaktivierten Viren stand für eine kurze Zeit zur Verfügung. Da jedoch häufig Erscheinungen einer Überempfindlichkeit vom verzögerten Typ bei Impfungen auftraten, bei denen die Erstimpfung mit Impfstoff aus inaktivierten Viren vorgenommen wurde und die anschließend mit vermehrungsfähigem Masernvirus in Kontakt kamen, wird dieser Impfstoff aus inaktivierten Viren nicht länger hergestellt. Dagegen ist in einigen Ländern ein Impfstoff, der durch Spaltung des Masernvirus gewonnen wird, verfügbar.

b Bei Verwendung weniger abgeschwächter Stämme wird gleichzeitig Gammaglobulin an anderer Stelle injiziert.

c Nicht für die allgemeine Anwendung erhältlich.

d In einigen Ländern auch als Kombinationsimpfstoffe erhältlich.

e Weder monovalenter Rötelnimpfstoff noch Kombinationsimpfstoff mit Rötelnkomponente sollen an Frauen in der Postpubertät verabreicht werden, wenn nicht gesichert ist, daß keine Schwangerschaft vorliegt; die geimpften Frauen müssen belehrt werden, daß zumindest in den folgenden 3 Monaten nach der Impfung keine Schwangerschaft eintreten soll (von einigen Autoren wird die Zeit unmittelbar nach einer Geburt als sicherer Zeitraum für die Durchführung dieser Impfung empfohlen).

f Falls eine Pockenschutzimpfung bei Schwangeren vorgenommen werden muß, so sollte gleichzeitig Vaccinia-Immunglobulin verabreicht werden, um das Risiko einer fetalen Vaccinavirus-Infektion zu vermindern.

her vorwiegend durch Selektion natürlich vorkommender abgeschwächter Stämme oder durch fortlaufende Kultivierung des Virus in verschiedenen Wirtsorganismen oder Kulturen in der Hoffnung, hierdurch abgeschwächte Stämme zu gewinnen. In letzter Zeit konnte die Suche nach derartigen Stämmen durch Anwendung bestimmter Laboratoriumsverfahren, die gezielte genetische Veränderungen im Virus hervorrufen sollen (z. B. Rabies, Influenza, RS-Virus), rationeller gestaltet werden.

Verfügbare Impfstoffe

A. Richtlinien zur Anwendung: Es muß nachdrücklich darauf hingewiesen werden, daß auch ein wirksamer Impfstoff gegen eine Erkrankung nicht schützt, wenn er nicht in ausreichender Dosierung an empfängliche Personen verabreicht wird. Das Unvermögen, alle Bevölkerungsgruppen ausreichend zu immunisieren, führte in USA und anderen Ländern zu einer unvollständigen Ausrottung virulenter Polio-Wildviren, so daß weiterhin paralytische Poliomyelitiserkrankungen bei nicht-geimpften Personen auftreten. Auch bei Masern führte — nach einem anfänglichen Rückgang der Masernhäufigkeit nach den Massenimpfungen in USA — die mangelhafte Impfbeteiligung der empfänglichen Personen zu einem deutlichen Anstieg der Erkrankungshäufigkeit im Jahr 1971. Kinder im vorschulpflichtigen Alter in ärmlichen Gegenden sind die am wenigsten ausreichend geimpfte Bevölkerungsgruppe in USA.

B. Gleichzeitige Anwendung von Lebendimpfstoffen: Das Advisory Committee on Immunization Practices des US Public Health Service hat einen zeitlichen Abstand von einem Monat zwischen der Verabreichung von verschiedenen Virus-Lebendimpfstoffen empfohlen. Diese Empfehlung beruht auf der Annahme, daß mehr Impfreaktionen aufträten und diese schwerer seien, wenn die Impfstoffe in einem kürzeren zeitlichen Abstand gegeben würden; auch die Antikörperbildung könnte nach dieser Annahme herabgesetzt sein.

Diese Empfehlung ist gelegentlich als Anordnung ausgelegt worden, nach der Lebendimpfstoffe unter keinen Umständen in einem geringeren zeitlichen Abstand als einem Monat verabreicht werden dürften. Diese irrtümliche Ansicht hat zu einer erheblichen Belästigung für Reisende geführt, deren Pläne ein langes Abwarten zwischen den einzelnen Impfterminen verhinderten. So wurde gelegentlich eine Gelbfieber-Schutzimpfung verweigert, wenn der Betreffende kürzlich gegen Pocken geimpft worden war und kurz vor seiner Abreise stand. Das Advisory Committee hat jedoch kürzlich folgendes festgestellt: „Wenn der theoretisch erwünschte Abstand von einem Monat nicht eingehalten werden kann — sei es im Hinblick auf eine mögliche gleichzeitige Exposition oder eine Unterbrechung des Immunisierungsprogramms — sollten die Impfstoffe möglichst am gleichen Tag gegeben werden, wobei für parenterale Gaben unterschiedliche Injektionsorte zu wählen sind. Ein zeitlicher Abstand von zwei Tagen bis zu zwei Wochen sollte im Hinblick auf eine mögliche Interferenz zwischen den Impfviren vermieden werden.“ Die diesen Empfehlungen zugrundeliegenden Beobachtungen sollen im folgenden kurz dargestellt werden.

Werden Vacciniavirus und abgeschwächtes Gelbfiebervirus gleichzeitig, jedoch an *verschiedene Stellen inoculiert*, so ist die Impfreaktion auf das Vacciniavirus und die Antikörperbildung gegen Gelbfiebervirus zufriedenstellend. Werden diese beiden Viren jedoch gleichzeitig in die gleiche Körperstelle inoculiert, so ist die Impfreaktion auf das Vacciniavirus zwar normal, die Antikörperbildung gegen Gelbfiebervirus wird jedoch unterdrückt; das Vacciniavirus interferiert also mit der lokalen Vermehrung des Gelbfiebervirus. Abgeschwächtes Gelbfiebervirus ist gegenüber der antiviralen Wirkung des Interferons *in vitro* empfindlich und man kann annehmen, daß Gelbfiebervirus bei gleichzeitiger Gabe von Vacciniavirus durch die Interferonproduktion, die an der Stelle der Inoculation des Vacciniavirus stattfindet, gehemmt wird.



Abb. 27-18. Elektronenmikroskopische Aufnahme, die das typische Bild eines gereinigten Präparates eines sphärischen Virus zeigt (20 000-fach). Auf dieser Abbildung sind Partikel von menschlichem Warzenvirus (Papovavirusgruppe) mit einem Durchmesser von 45 nm gezeigt (Melnick und Bunting)



Abb. 27-19. Influenzaviruspartikel (Stamm PR 8), die an die Membran eines Hühnererythrocyten adsorbiert sind. Die Partikel zeigen einen Durchmesser von 100 nm (Werner und Schlesinger)

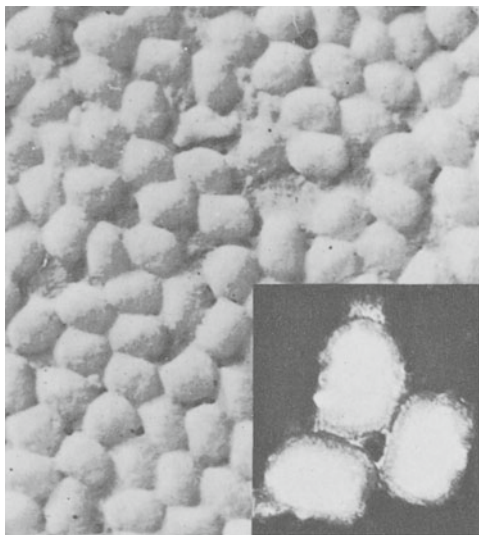


Abb. 27-20. Elektronenmikroskopische Aufnahme einer gereinigten Suspension eines quaderförmigen Pockenvirus, *Molluscum contagiosum* (20 000fach). Die Viruspartikel, die aus menschlichen Hautläsionen durch fraktionierte Zentrifugation gereinigt wurden, zeigen eine Größe von etwa 330×230 nm (Melnick, Bunting und Strauss). Eingefügtes Bild: Uranylacetatfärbung des DNS-haltigen Innenkörpers des Virus (47 000fach)



Abb. 27-21. Replizierendes Molekül der DNS des Papovavirus SV-40 (schematisch in Abb. 27-9 dargestellt). Die elektronenoptische Aufnahme zeigt etwa 10 % der Population replizierender DNS-Moleküle. Die meisten replizierenden Moleküle enthalten auch einen gedrehten Anteil, der so stark verdreht ist, daß es in elektronenmikroskopischen Präparationen nicht möglich ist, zwischen den einzelnen DNS-Doppelsträngen zu unterscheiden (Salzmann et al.)

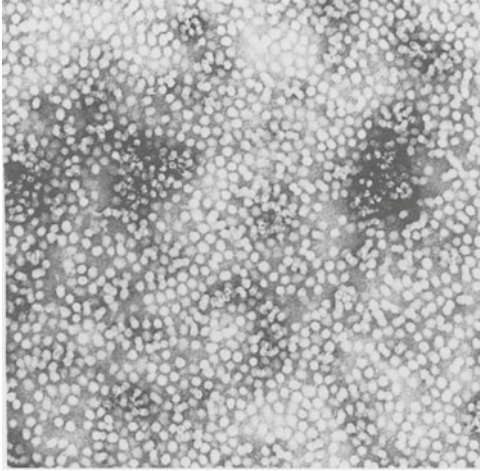


Abb. 27-22. Gereinigtes Hepatitis-B-Antigen (HB-Ag) (55 000fach) (McCombs und Brunschwig)

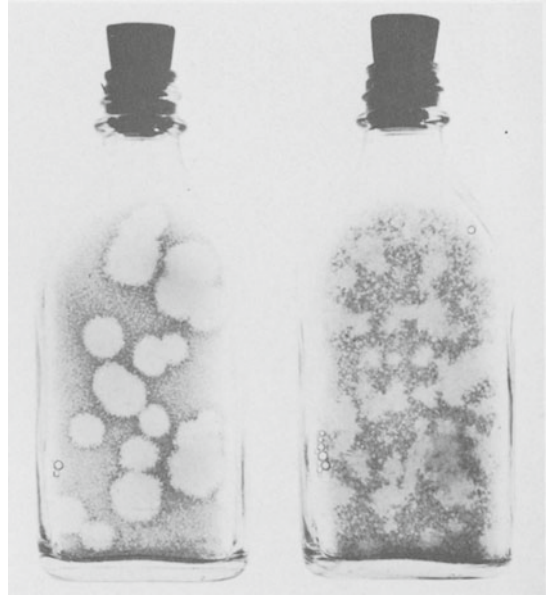


Abb. 27-23. Plaques nach Infektion mit Poliovirus (links) und Echowirus (rechts). Beide Virusarten wurden in Flaschen mit Affenierenzellkulturen vermehrt. Nach Aussaat des Virus wurde die epitheliale Zellschicht mit einem Nähragar überschichtet, der einen Vitalfarbstoff (Neutralrot) enthält. Nachdem der cytopathische Effekt des Virus manifest wird, verlieren die Zellen ihre Vitalfärbung und erscheinen dann als helle Flecke in der Kultur. In jedem dieser hellen Flecke ist die Nachkommenschaft eines einzelnen Viruspartikels lokalisiert. Die Morphologie des Plaques von jeder der gezeigten Virusarten ist so eindeutig, daß die zwei Viren ohne Schwierigkeiten durch diese Methode voneinander unterschieden werden können (Hsiung und Melnick)

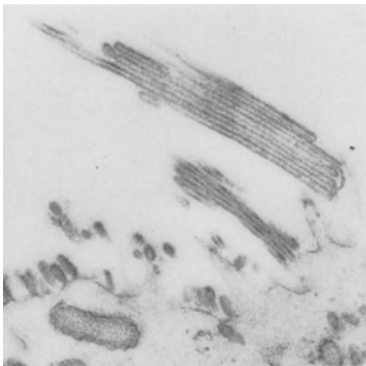
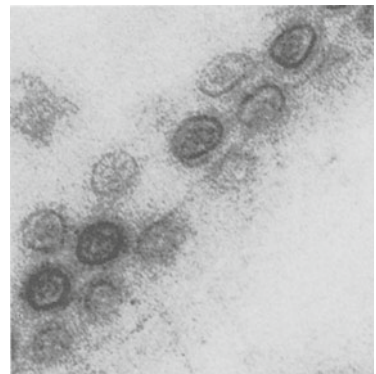


Abb. 27-24. Influenzavirus an der Zelloberfläche (31 000fach). Zwei bündelartig zusammenliegende Gruppen von Filamenten (das eine längs, das andere schräg geschnitten) reichen in den extracellulären Raum hinein. Links scheinen kurze Filamente direkt von der Zelle auszugehen (Morgan, Rose und Moore)

Abb. 27-25. Sphärische Formen des Influenzavirus (116 000fach). Die Zellgrenze geht diagonal durch das Bild, rechts liegt das Cytoplasma der Wirtszelle. Zahlreiche Partikel, unmittelbar unterhalb der Zellmembran, machen offenbar eine Differenzierung zu reifen extracellulären Formen durch (Morgan, Rose und Moore)



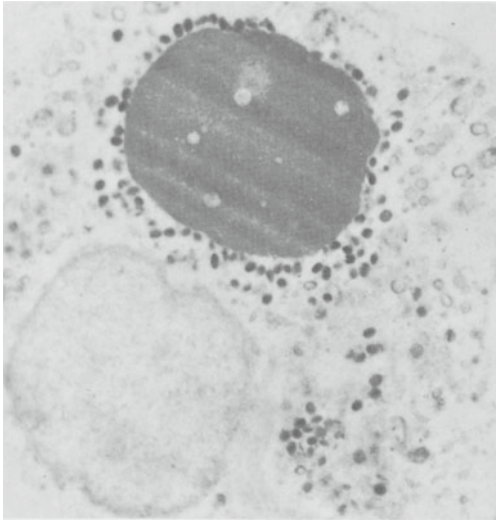


Abb. 27-26. Mäusepockenvirus in einer infizierten Zelle (7 400fach). Der Zellkern liegt unten links, darüber erkennt man einen dunklen cytoplasmatischen Einschlußkörper, der von Viruspartikeln rings umgeben ist. Mehrere Viruspartikel, die sich offenbar noch im Entwicklungsstadium befinden, liegen rechts vom Zellkern (Gaylord und Melnick)

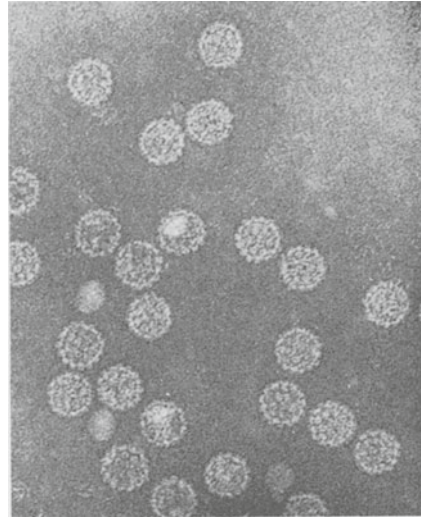


Abb. 27-27. Papovavirus SV-40. Eine durch Virusreinigung gewonnene Präparation wurde mit Phosphorwolframsäure kontrastiert (150 000-fach) (McGregor und Mayor)

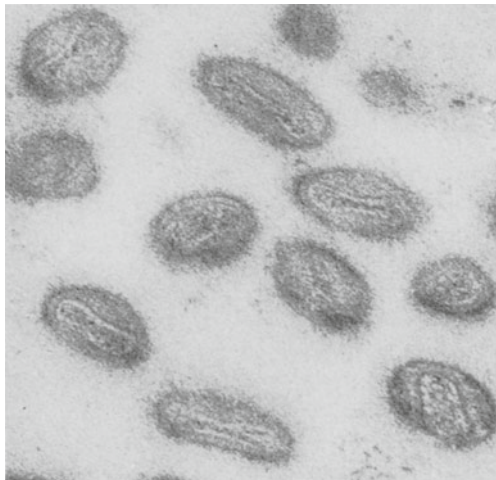


Abb. 27-28. Ultradünnschnitt von Vaccinia-Viruspartikeln im Cytoplasma einer infizierten Zelle (74 000fach). Die innere Struktur des ausgereiften Virus ist eindeutig zu erkennen (Morgan, Rose und Moore)

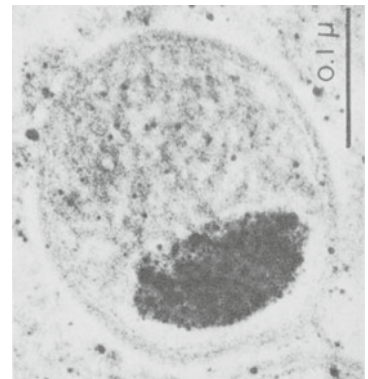
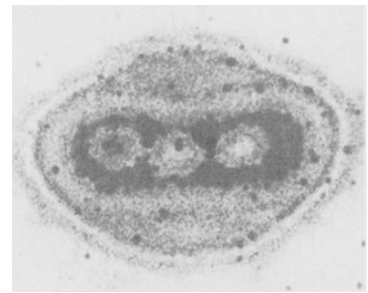


Abb. 27-29. Lokalisierung der DNS in unreifen (unten) und reifen (oben) Vacciniaviruspartikeln. Nach Hydrolyse mit HCl läßt man eine Silbermethenaminlösung auf Eponschnitte des Virus einwirken. Die Silbergranula werden spezifisch an den Stellen, an denen DNS vorhanden ist, abgelagert. Die anderen Strukturen werden durch eine Gegenfärbung mit Uranylacetat dargestellt (170 000fach) (Peters)

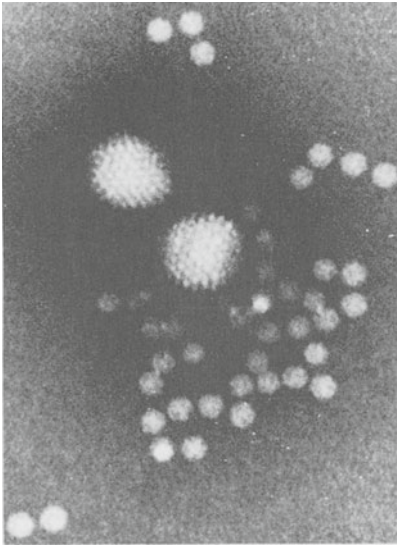


Abb. 27-30. Eine Gruppe von Satellitenviren, die zwei Virionen des Adenovirus umgeben; die Adenoviren dienen als Helfer der defekten Satellitenviren (250 000fach) (Mayor, Jordan und Melnick)

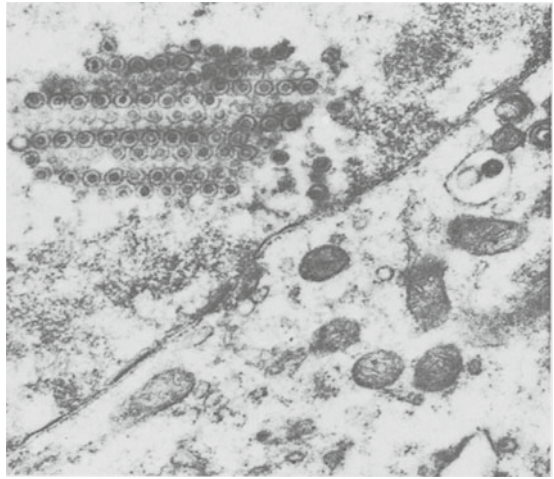


Abb. 27-31. Herpesvirus in einer menschlichen Amnionzelle. Die Kernmembran läuft von links unten nach rechts oben. Im Zellkern erkennt man eine regelmäßige Anordnung der Viruspartikel, die jeweils einen dichten Zentralkörper und eine einzige periphere Membran besitzen (27 000fach). (Morgan)



Abb. 27-32. Elektronenmikroskopische Aufnahme eines geschoßähnlichen Partikels, wie es für die Rhabdovirusgruppe typisch ist (100 000fach). Dargestellt ist das Virus des vesiculären Stomatitis nach Negativkontrastierung mit Phosphorwolframsäure (McCombs, Benyesh-Melnick und Brunschwig)

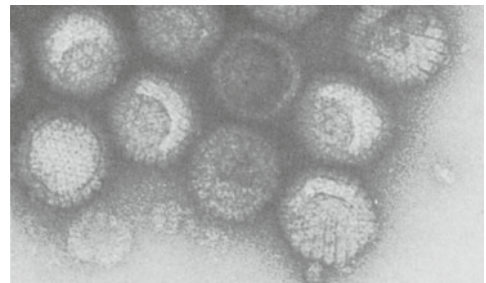


Abb. 27-33. Oben: Herpesviren aus menschlicher Vesikelflüssigkeit nach Kontrastierung mit Uranylacetat, um den DNS-Innenkörper darzu-

stellen (140 000fach). Unten: Virionen nach entsprechender Färbung zur Darstellung der Proteinhaltigen Capsomeren (140 000fach) (Smith und Melnick)

Auch das Angehen der Pockenschutzimpfung kann durch Interferon verhindert werden und Gelbfiebervirus induziert die Bildung zirkulierenden Interferons — wenn auch erst 4 bis 6 Tage nach der Impfung. Die gleiche Hemmung kann durch Masernvirus-Impfstoff auftreten, wenn das Vacciniavirus auf dem Höhepunkt der durch Masernvirus induzierten Interferonbildung gegeben wird, was etwa 10 Tage nach der Impfung der Fall ist. Aus diesen Befunden kann geschlossen werden, daß eine Hemmung der Vermehrung von Vacciniavirus durch Gelbfiebervirus nicht eintritt, wenn beide Viren gleichzeitig verabreicht werden. In Entwicklungsländern wird aus organisatorischen Gründen bei Massimpfungen Gelbfieber- und Masernimpfstoff gleichzeitig — jedoch an unterschiedlichen Inoculationsstellen — mit Pockenimpfstoff verabreicht.

Lebendimpfstoffe als Kombinationsimpfstoffe (Masern-Mumps-Röteln; Masern-Röteln; Röteln-Mumps) wurden 1971 zur Anwendung freigegeben. Die in diesen Impfstoffen vorhandenen Virusstämme erwiesen sich bei gleichzeitiger Anwendung sowohl als sicher als auch als wirksam. Nach den vorliegenden Befunden ist die Antikörperbildung gegen jede Komponente des Kombinationsimpfstoffes mit der Antikörperbildung vergleichbar, die nach Gabe der jeweiligen Einzelimpfstoffe auftritt. Man hat keinen Anhaltspunkt für häufigere oder schwerere Impfreaktionen nach Gabe der Kombinationsimpfstoffe als nach Verabreichung der Einzelimpfstoffe. Nach Ansicht der oben angeführten Kommission, können bei Impfungen in USA 2 oder 3 Einzelimpfstoffe, welche die gleichen Virusstämme wie die Kombinationsimpfstoffe enthalten (weiter abgeschwächtes Masernvirus, Rötelnvirus, Mumpsvirus), auch gleichzeitig — jedoch an verschiedenen Injektionsstellen — verabreicht werden.

Weitere Entwicklung der Virusimpfstoffe

A. Lokale Verabreichung eines Impfstoffes zur Stimulierung lokaler Antikörperbildung an den Eintrittsstellen: Intranasal als Aerosol applizierte Vaccinen befinden sich in der Ent-

wicklung, vor allem zur Verhütung respiratorischer Infekte.

B. Reinigung von Impfstoffen durch neue Methoden (z. B. Zonenzentrifugation): Hierdurch sollen nicht-virale Proteine beseitigt werden, so daß die Möglichkeit unerwünschter Begleitreaktionen sich verringert. Bei einigen Viren kann das gereinigte Material auch in höheren Konzentrationen verabreicht werden, die wesentlich höhere Mengen des spezifischen Antigens enthalten.

C. Impfstoffe aus Spaltprodukten des Virus: Subvirale Komponenten erhält man durch Aufbrechen des Virus; für den Impfstoff können dann ausschließlich jene Spaltprodukte verwendet werden, die zur Stimulierung der Synthese protektiver Antikörper erforderlich sind.

D. Abschwächung der Viren durch genetische Manipulationen: Hierdurch werden Rekombinanten oder temperatursensitive Mutanten gewonnen, die als Lebendimpfstoff verwendet werden können.

Literatur

- Baltimore, D.: Expression of animal virus genomes. *Bact. Rev.* **35**, 235—241 (1971).
- Bishop, J. M., Levintow, L.: Replicative forms of viral RNA structure and function. *Progr. Med. Virol.* **13**, 1—82 (1971).
- Caspar, D. L. D., Klug, A.: Physical principles in the construction of regular viruses. *Cold Spring Harbor Symposium* **27**, 1—24 (1962).
- Erikson, R. L.: Replication of RNA viruses. *Ann. Rev. Microbiol.* **22**, 305—322 (1968).
- Fenner, F.: The genetics of animal viruses. *Ann. Rev. Microbiol.* **24**, 297—334 (1970).
- Grady, L., Axelrod, D., Trilling, D.: The SV-40 pseudovirus: Its potential for general transduction in animal cells. *Proc. Nat. Acad. Sc.* **67**, 1886—1893 (1971).
- Harrison, S. C. & others: Lipid and protein organization in Sindbis virus. *J. Molec. Biol.* **60**, 523—528 (1971).
- Hilleman, M. R.: Toward control of viral infections in man. *Science* **164**, 506—514 (1969).
- Joklik, W. K.: The molecular basis of the viral eclipse phase. *Progr. Med. Virol.* **7**, 44—96 (1965).
- Kaplan, A. S., Ben-Porat, T.: Metabolism of animal cells infected with nuclear DNA viruses. *Ann. Rev. Microbiol.* **22**, 427—450 (1968).
- Kit, S., Dubbs, R.: Enzyme induction by viruses. *Monogr. Virol.* **2**, 1—114 (1969).

- Melnick, J. L.: Classification and nomenclature of animal viruses, 1971 and 1972. *Progr. Med. Virol.* **13**, 462—484 (1971); **14**, 321—332 (1972).
- Merril, C. R., Geier, M. R., Petricciani, J. C.: Bacterial virus gene expression in human cells. *Nature* **233**, 398—400 (1971).
- Mims, C. A.: Pathogenesis of viral infections of the fetus. *Progr. Med. Virol.* **10**, 194—237 (1968).
- Munyon, W. & others: Transfer of thymidine kinase to thymidine kinaseless L cells by infection of ultraviolet-irradiated herpes simplex virus. *J. Virol.* **7**, 813—820 (1971).
- Neurath, A. R., Rubin, B. A.: Viral structural components as immunogens of prophylactic value. *Monogr. Virol.* vol. 4 1971.
- Pagano, J. S.: Biologic activity of isolated viral nucleic acids. *Progr. Med. Virol.* **12**, 1—48 (1970).
- Phillips, B. A., Sydiskis, R. I.: Synthesis of viral products by cell-free extracts. *Progr. Med. Virol.* **13**, 83—155 (1971).
- Proceedings of the International Conference on the Application of Vaccines Against Viral, Rickettsial, and Bacteriol. Diseases of Man.* Scientific publication No. 226. Pan American Health Organization, Washington, DC, 1971.
- Quigley, J. P., Rifkin, D. B., Reich, E.: Phospholipid composition of Rous sarcoma virus, host cell membranes and other enveloped RNA viruses. *Virology* **46**, 106—116 (1971).
- Rapp, F.: Defective DNA animal viruses. *Ann. Rev. Microbiol.* **23**, 293—316 (1969).
- Sebring, E. D. & others: Structure of replicating simian virus 40 deoxyribonucleic acid molecules. *J. Virol.* **8**, 478—490 (1971).
- Stich, H. F., Yohn, D. S.: Viruses and chromosomes. *Progr. Med. Virol.* **12**, 78—127 (1970).
- Wheelock, E. F., Larke, R. P. B., Caroline, N. L.: Interference in human viral infections: Present status and prospects for the future. *Progr. Med. Virol.* **10**, 286—347 (1968).
- Wildy, P.: Classification and nomenclature of viruses. *Monogr. Virol.* vol. **5**, 1971.