

Übersetzung

Die Entwicklung struktureller Virologie

Stephen C. Harrison

Zuallererst möchte ich mich bei der Paul Ehrlich Stiftung bedanken für die Ehrung, die mir mit dieser Preisverleihung zuteil wird, und auch bei Prof. Norrby für seine elegante Laudatio. Ich möchte auch bemerken, dass ich mich freue, diesen Preis mit Professor Michael Rossmann zu teilen. Die Arbeiten von Professor Rossmann haben als Leitfaden und Inspiration für mehrere Generationen von Strukturbiologen gedient.

Die Art der Forschung, die zu diesem Preis geführt hat, lässt sich vielleicht am besten mit einem Zitat von Paul Ehrlich aus seinem Nobel-Vortrag erklären. Sie erinnern sich, dass Ehrlich chemische Farbstoffe und Lichtmikroskopie verwendet hat, um die Entwicklung von Zellen des Immunsystems zu studieren. Doch schrieb er: *"... ich möchte glauben, dass das, was das Mikroskop uns leisten konnte und geleistet hat, jetzt sich seiner Grenze nähert und dass für ein weiteres Eindringen in das wichtige, alles beherrschende Problem des Zellebens die Anwendung optischer ... Hilfsmittel versagen muss. Gerade jetzt ist die Zeit gekommen, in den feinsten Chemismus des Zellebens einzudringen und den Vollbegriff der Zelle in eine grosse Zahl einzelner bestimmter Partialfunktionen zu zerlegen. Da aber das, was in der Zelle geschieht, im wesentlichen chemischer Art ist und da die Gestaltung chemischer Strukturen ausserhalb der Grenze der Sichtbarkeit gelegen ist, werden wir hier nach anderen Forschungsmethoden uns umsehen müssen. Diese Richtung ist nicht nur zum wirklichen Verständnis der Lebensvorgänge überhaupt von Wichtigkeit, sondern sie ist auch die Grundlage einer wirklich rationellen Verwendung der Arzneistoffe."* Diese bemerkenswerte Feststellung könnte als Programm für die Forschungsrichtungen der Zellbiologie und der Biochemie des gesamten 20. Jahrhunderts gelten. Ehrlich verstand, dass es nötig sein würde, biochemische Strukturen sichtbar zu machen.

Ich begann 1963 als Student, fünfundfünfzig Jahre nach Ehrlichs Vortrag, darüber nachzudenken, in welcher Weise ich meinen eigenen kleinen Beitrag zur Biologie des 20. Jahrhunderts leisten könnte. Max Perutz und John Kendrew hatten gezeigt, wie man die dreidimensionale Anordnung von Atomen in einem Proteinmolekül enthüllen kann. Dies repräsentierte das endgültige Zerlegen einer Zelle in ihre Bausteine. Ich dachte mir, dass die Zeit reif war für einen weiteren Schritt nach vorne, weg von dem detaillierten Verständnis des Transportes von Sauerstoff und der enzymatischen Katalyse und hin zu einem Bild der Zelle als ein integriertes Ensemble von molekularen Maschinen. Das Verständnis der atomaren Organisation von Viren schien mir ein guter Beginn für solch ein Vorhaben zu sein. Viren repräsentieren elegante Vereinfachungen vieler Aspekte der Zellbiologie. Viren sind oftmals zerstörerische Krankheitserreger, die schwer zu bekämpfen sind, sowohl auf der Ebene der individuellen Infektion als auch in ihrer Verbreitung in der Bevölkerung. Die Biologie von Viren ist deshalb sehr wichtig für die menschliche Gesellschaft. Und der experimentelle Weg zu einem Verständnis ihrer Struktur auf atomarer Ebene, ihrer Konstruktprinzipien, ihrer Eintrittsmechanismen in die Zelle und ihrer immunologischen Spezifitäten war bereits durch die bahnbrechenden Arbeiten von J.D. Bernal, Rosalind Franklin, Don Caspar, Aaron Klug, Ken Holmes, und ihrer vielen Mitarbeiter aufgezeigt worden. Diese Forscher hatten demonstriert, dass es möglich sein müsste, dieselbe Methode, die in so brillanter Weise von Perutz und Kendrew zum Verständnis von Hämoglobin und Myoglobin eingesetzt worden war – die Röntgenkristallographie, für eine atomare Analyse eines Viruspartikels zu verwenden. Solch eine Analyse würde es ermöglichen zu verstehen, wie Proteinuntereinheiten und DNA oder RNA zusammenkommen, um ein Partikel zu bilden, wie dieses Partikel aus einer Zelle herauskommt und in eine andere Zelle eintritt und seine Proteinhülle abstreift, um sein Genom in die neue Zelle zu schleusen. Michael Rossmann hatte (zusammen mit David Blow) gezeigt, dass die spektakuläre Symmetrie einfacher Viruspartikel ausgenutzt werden kann, um diese Aufgabe in dramatischer Weise zu vereinfachen.

Aber wo beginnen? Das genetische Engineering und die Expression rekombinanter Proteine lagen 20 Jahre in der Zukunft. Man musste also biologisches Material verwenden, welches in größeren Mengen und einfach zu bekommen war, und die RNA Pflanzenviren waren hierfür gute Kandidaten. Deshalb schrieb ich in 1965, während ich ein Jahr als Student im Labor von Aaron Klug in Cambridge verbrachte, an meinen zukünftigen

Doktorvater, Don Caspar, und fragte ihn, ob ich die Kristallstrukturanalyse des Tomato Bushy Stunt Virus als meine Doktorarbeit wählen könnte.

Es ist natürlich keine Frage, dass es mehr als eine Doktorarbeit benötigte, um dieses Ziel zu erreichen! Es dauerte in der Tat etwas mehr als 12 Jahre, bevor sich im Sommer 1977 schliesslich ein atomares Bild des TBSV zu formen begann. Das Ergebnis war in spektakulärer Weise aufregend, aber es war auch eine Enttäuschung. Es war aufregend, weil man in der Tat nun sehen konnte, wie die Evolution an einer funktionellen Architektur eines Zelle-zu-Zelle RNA Lieferanten, welches die essentielle Funktion eines Virus wie TBSV ist, angekommen war. Um David Baltimore zu zitieren: "Ein Virologe ist einer der glücklichsten Biologen, weil er in sein Lieblingsforschungsobjekt hineinschauen kann, bis hin zu den Details der einzelnen Moleküle... [Er] kann sehen, wie ein extremer Parasit unter Verwendung der allereinfachsten fundamentalen Aspekte biologischen Verhaltens arbeitet." Wir hatten dieses Zitat erweitert, so dass es nun die "Details aller einzelnen Atome" einschloss. Aber unser Ergebnis war auch enttäuschend, weil die komplizierte Spezifität der Struktur zeigte, dass eine riesige Menge von Arbeit nötig sein würde, um zu verstehen, wie sogar die einfachsten der *menschlichen* RNA Viren ihre Hüllen organisieren, und wie diese Viren in die Zellen eintreten und ihre Hüllen abstreifen. Durch die atomare Strukturanalyse des menschlicher Rhinovirus machte Michael Rossmann 1984 zusammen mit seinen Mitarbeitern den ersten wirklich wichtigen Schritt in diese Richtung. Er wird zweifellos diese Geschichte in seinem Vortrag erzählen, aber ein Aspekt seines Ergebnisses sollte hier bereits erwähnt werden. Die atomare Struktur des humanen Rhinovirus zeigte eine überraschende Ähnlichkeit zu der des TBSV (eine Ähnlichkeit, die, glaube ich, Michael Rossmann teilweise erwartet hatte – seine Eingebung in solchen Dingen war bemerkenswert – aber die für mich völlig unerwartet war). Eine wichtige Konsequenz war die Vereinigung der Biologie von Pflanzen- und Tierviren, und die Verbindung der noch jungen Biologie der RNA Pflanzenviren mit der etwas weiter entwickelten Molekularbiologie von Poliovirus, Rhinovirus und ihren Verwandten.

Was sind die Anwendungen für menschliche Krankheiten? Michael Rossmann wird Ihnen wahrscheinlich von therapeutischen Strategien berichten, die auf der Kenntnis der Virusstruktur beruhen und das Verhindern der Virusbindung an die Zelle oder des Zelleintritts eines Virus zum Ziel haben. Viruspartikel und ihre Oberflächenproteine bewerkstelligen dramatische Konformationsänderungen, um ihre Rolle als Lieferanten zu erfüllen und eine Infektion zu erreichen. Die bemerkenswerten Bewegungen der Fusionsproteine in Viren mit Membranhülle, wie zum Beispiel Influenzavirus oder HIV-1, sichtbar gemacht durch die kristallographischen Arbeiten meines Kollegen Don Wiley, sind nennenswerte Beispiele hierfür. Konformationsänderungen in Proteinen sind gute Ansatzpunkte für inhibitorische Verbindungen mit medizinischer Anwendung, weil einfache Liganden selektiv den einen oder anderen Zustand einer Einheit, die mehrere mögliche Zustände hat, stabilisieren können. Das Verständnis einer Struktur ist weiterhin eine Grundlage für das Design von besseren Impfstoffen. Ich möchte Ihnen hierfür ein neueres Beispiel aus unseren eigenen Arbeiten geben. Vor drei Jahren hat Xiaojiang Chen, welcher damals ein post-doktoraler Mitarbeiter in unserem Labor war, die Struktur des äußeren Hüllproteins (bekannt als L1) des menschlichen Papillomavirus (HPV) vom Typ 16 bestimmt. Dieser Virus erhöht die Entwicklung von menschlichem Gebärmutterhalskrebs. Ein wirksamer Impfstoff gegen HPV-16 könnte helfen, diese weltweit zweithäufigste Krebsart bei Frauen zu reduzieren oder zu eliminieren. Sehr zu unserer Überraschung fanden wir, dass unsere Form des HPV16 L1 unter den verwendeten Kristallisationsbedingungen ein exzellenter Kandidat für einen Impfstoff ist. Wir haben eine Zusammenarbeit begonnen mit dem Ziel, diese Möglichkeit zu untersuchen. Unser Interesse am Zusammenbau und an der Stabilität dieses Virus – die fundamentalen Fragen, die die Grundlage unserer Forschung waren – und die biochemischen Modifikationen, die zu zufriedenstellenden Kristallen führten, haben hier zu Entdeckungen geführt, die direkte Relevanz für die Entwicklung von Impfstoffen haben. Ich könnte sagen, dass der Zufall uns zu dieser Entdeckung geführt hat – aber ich glaube nicht, dass es Zufall war. Ehrlich hat, schon lange bevor man wusste, dass Antikörper Proteine sind, erkannt, dass Struktur und Konformation essentiell für spezifische Antigenität sind. Je mehr wir über diese Dinge lernen, desto besser können wir eine kontrollierte Entwicklung von Impfstoffen planen und durchführen.

Abschliessend möchte ich mich bei den zahlreichen Mitarbeitern und Kollegen bedanken, die diese Forschungsergebnisse ermöglicht haben. Auch danke ich Ihnen allen dafür, dass Sie mit uns die Erinnerung an die außergewöhnlichen Leben und Arbeiten von Paul Ehrlich und Ludwig Darmstädter wachhalten.