

# Inhaltsverzeichnis

<b>1 Virale Erkankungen</b>	<b>2</b>
<b>2 Influenza</b>	<b>2</b>
2.1 Influenza A . . . . .	2
2.2 Influenza B . . . . .	3
2.3 Nachweismethoden von Influenz . . . . .	3
<b>3 Amplifikation</b>	<b>3</b>
3.1 Polymerase chain reaktion . . . . .	3
3.2 Isothermale Amplifikation . . . . .	3
3.2.1 Lamp loop mediated isothermal Amplifikation . . . . .	3
3.2.2 NasBA nucleic acid sequence-based amplification . . . . .	3
3.2.3 RCA rolling circle Amplifikation . . . . .	3
3.2.4 HDA helicase dependent amplifikation . . . . .	3
3.2.5 NEAR nicking enzyme amplifikation reaction . . . . .	3
3.2.6 RPA rekombinase polymerase Amplifikation . . . . .	3
<b>Ziel der Arbeit</b>	<b>3</b>

# 1 Virale Erkankungen

## 2 Influenza

### 2.1 Influenza A

Das zur Virusfamilie der Orthomyxoviren gehörige Influenza A Virus ist ein behülltes, einzelsträngiges RNA Virus. Die genomische RNA, welche in negativer Strang-Orientierung, also entgegen der 5'-3' Leserichtung der Ribosomen vorliegt ist in 8 unterschiedlich große Abschnitte unterteilt (siehe Abbildung ??). Das ca. 13.500 bp große, segmentierte Genom codiert dabei für mindestens 17 Proteine, wobei die 3' und 5' Regionen keine codogenen Bereiche enthalten, sondern komplementär zueinander sind. Dadurch bilden sie über eine kurze Distanz einen Doppelstrang aus, welcher als Signalsequenz bei Transkription dient (Modrow et al. 2010; Chen et al. 2018). Von den 17 codierten Proteinen zählen 10 als Essentiell Wichtig, während der Rest als Accessoire-Proteine zählt (Vasin et al. 2014). Zu den essentiellen Proteinen zählen die Neuraminidase (NA), welche im Verlauf der Infektion für die Freisetzung der Viruspartikel verantwortlich ist, das Hämagglutinin (HA), welches bei der Infektion der Zelle eine Rolle spielt, das Matrixproteinen (M1), das Membranprotein (M2), außerdem die Nichtstrukturproteine NS1 und NS2, das Nukleoprotein (NP), sowie die 3 Untereinheiten PA, PB1 und PB2 der RNA-Polymerase (Luo 2011; Krammer et al. 2018). Die Accessoire-Proteine sind dabei auf alternativen offenen Leserahmen (engl.: *open reading frame*, ORF) codiert. Diese erlauben es Viren eine größere Protein-Vielfalt auf engem genomischen Raum, durch die "mehrfachverwendung" einer Nukleotid-Sequenz, zu exprimieren. Diese alternativen ORF entstehen dabei durch verschiedene molekularbiologische Mechanismen, wie *frame shifting* bei welchem das Ribosom bei der Translation eine Base überspringt und somit den Leseramen ändert, *readthrough* bei dem das Ribosom ein Stopp-codon überspringt, oder *internal Ribosom Entry* wobei das Ribosom an ein internes Start-Codon durch eine sogenannte IRES (engl.: *internal ribosomal entry site*) rekrutiert wird, sowie einige weitere (Firth and Brierley 2012). Zu den Accessoire-Proteinen zählen unter anderem das 2012 entdeckte Nichtstruktur Protein 3 (Selman et al. 2012), das von M2 abstammende M42 (Wise et al. 2012) und die dem PA zugehörigen Proteine PA-X, PA-N155 und PA-N182 (Jagger et al. 2012; Muramoto et al. 2013).

Die RNA-abhängige RNA Polymerase des Influenza A Virus besteht wie in Abbildung @ref(fig:...) gezeigt aus den 3 Untereinheiten PA, PB1 und PB2, wobei die Gensequenz für PA auf dem Segment 3, für PB1 auf dem Segment 2 und PB2 auf dem Segment 1 codiert sind (Krammer et al. 2018). Das heterotrimer assoziiert innerhalb des Virus mit den komplementären Sequenzen an den jeweiligen Enden der einzelnen Genom-Segmente. Der restliche Teil der einzelsträngigen RNA wird von oligomeren NP gebunden, welches auf dem Segment 5 codiert ist. Dieser RNA-Protein-Komplex ist in der Literatur als vRNP-Komplex (engl.: *viral ribonucleoprotein*) beschrieben (Krammer et al. 2018; Velthuis and Fodor 2016). Kryo-elektronenmikroskopische Untersuchungen des vRNP-Komplex zeigten eine doppel-helikale Struktur mit einer Schleife am nicht RNA-Polymerase assoziierten Ende. Die Helix-Struktur wird dabei durch eine Assoziation von unterschiedlich polaren oligo-NP-Proteinen stabilisiert (Arranz et al. 2012).

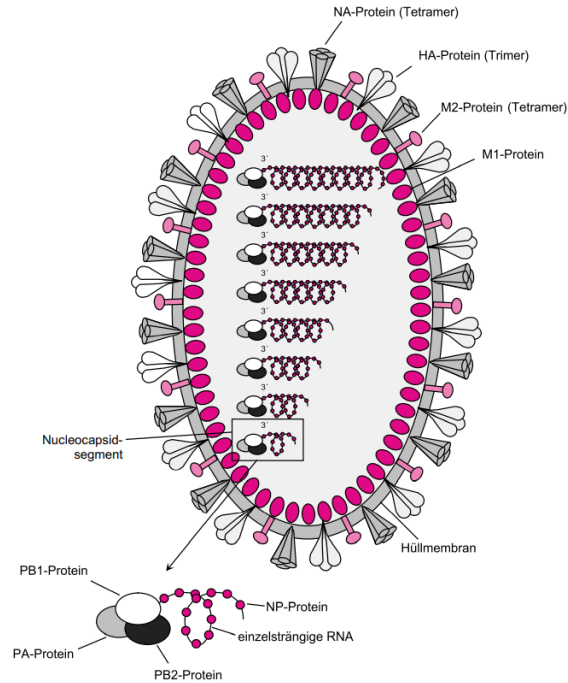


Abbildung 1: **Schematischer Aufbau eines Influenza A Virus:** Schematische Darstellung eines Influenza A Virus mit den Längen der einzelnen Genom-Segmente in Basenpaaren (bp). Modifizierte Abbildung von Modrow et al. (2010).

## 2.2 Influenza B

## 2.3 Nachweismethoden von Influenz

# 3 Amplifikation

## 3.1 Polymerase chain reaktion

## 3.2 Isothermale Amplifikation

### 3.2.1 Lamp loop mediated isothermal Amplifikation

### 3.2.2 NasBA nucleic acid sequence-based amplification

### 3.2.3 RCA rolling circle Amplifikation

### 3.2.4 HDA helicase dependent amplifikation

### 3.2.5 NEAR nicking enzyme amplifikation reaction

### 3.2.6 RPA rekombinase polymerase Amplifikation

## Ziel der Arbeit

Arranz, Rocío, Rocío Coloma, Francisco Javier Chichón, José Javier Conesa, José L. Carrascosa, José M. Valpuesta, Juan Ortín, and Jaime Martín-Benito. 2012. "The Structure of Native Influenza Virion Ribo-

- nucleoproteins.” *Science* 338 (6114): 1634–37. <https://doi.org/10.1126/science.1228172>.
- Chen, Xiaoyong, Shasha Liu, Mohsan Ullah Goraya, Mohamed Maarouf, Shile Huang, and Ji-Long Chen. 2018. “Host Immune Response to Influenza a Virus Infection.” *Frontiers in Immunology* 9 (March). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00320>.
- Firth, Andrew E., and Ian Brierley. 2012. “Non-Canonical Translation in RNA Viruses.” *Journal of General Virology* 93 (7): 1385–1409. <https://doi.org/10.1099/vir.0.042499-0>.
- Jagger, B. W., H. M. Wise, J. C. Kash, K.-A. Walters, N. M. Wills, Y.-L. Xiao, R. L. Dunfee, et al. 2012. “An Overlapping Protein-Coding Region in Influenza a Virus Segment 3 Modulates the Host Response.” *Science* 337 (6091): 199–204. <https://doi.org/10.1126/science.1222213>.
- Krammer, Florian, Gavin J. D. Smith, Ron A. M. Fouchier, Malik Peiris, Katherine Kedzierska, Peter C. Doherty, Peter Palese, et al. 2018. “Influenza.” *Nature Reviews Disease Primers* 4 (1). <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0002-y>.
- Luo, Ming. 2011. “Influenza Virus Entry.” In *Viral Molecular Machines*, 201–21. Springer US. [https://doi.org/10.1007/978-1-4614-0980-9\\_9](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-0980-9_9).
- Modrow, Susanne, Dietrich Falke, Uwe Truyen, and Hermann Schätzl. 2010. *Molekulare Virologie*. Spektrum Akademischer Verlag. <https://doi.org/10.1007/978-3-8274-2241-5>.
- Muramoto, Yukiko, Takeshi Noda, Eiryo Kawakami, Ramesh Akkina, and Yoshihiro Kawaoka. 2013. “Identification of Novel Influenza a Virus Proteins Translated from PA mRNA.” *Journal of Virology* 87 (5): 2455–62. <https://doi.org/10.1128/jvi.02656-12>.
- Selman, Mohammed, Samar K Dankar, Nicole E Forbes, Jian-Jun Jia, and Earl G Brown. 2012. “Adaptive Mutation in Influenza a Virus Non-Structural Gene Is Linked to Host Switching and Induces a Novel Protein by Alternative Splicing.” *Emerging Microbes & Infections* 1 (1): 1–10. <https://doi.org/10.1038/emi.2012.38>.
- Vasin, A. V., O. A. Temkina, V. V. Egorov, S. A. Klotchenko, M. A. Plotnikova, and O. I. Kiselev. 2014. “Molecular Mechanisms Enhancing the Proteome of Influenza a Viruses: An Overview of Recently Discovered Proteins.” *Virus Research* 185 (June): 53–63. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2014.03.015>.
- Velthuis, Aartjan J. W. te, and Ervin Fodor. 2016. “Influenza Virus RNA Polymerase: Insights into the Mechanisms of Viral RNA Synthesis.” *Nature Reviews Microbiology* 14 (8): 479–93. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.87>.
- Wise, Helen M., Edward C. Hutchinson, Brett W. Jagger, Amanda D. Stuart, Zi H. Kang, Nicole Robb, Louis M. Schwartzman, et al. 2012. “Identification of a Novel Splice Variant Form of the Influenza a Virus M2 Ion Channel with an Antigenically Distinct Ectodomain.” Edited by Andrew Pekosz. *PLoS Pathogens* 8 (11): e1002998. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002998>.