

## Nukleoprotein-Dynamik steuert den Infektionsbeginn von Adenoviren

# Dynamische Veränderung der Adenovirus-DNA-Verpackung führt zur Aktivierung

GERNOT LÄNGST<sup>1</sup>, HARALD WODRICH<sup>2</sup>

<sup>1</sup> BIOCHEMIE, UNIVERSITÄT REGENSBURG

<sup>2</sup> MFP CNRS UMR 5234, UNIVERSITÄT BORDEAUX, FRANKREICH

**Human adenoviruses are tools for gene therapy and vaccination. The viral DNA genome is compacted by protein VII inside the capsid. We show that decompaction of the viral genome and acquisition of host nucleosomes at early promoters enables efficient viral transcriptional activation. Decompaction starts upon maturation, directed by a DNA sequence code, pre-arranging the genome for capsid release and rapid transcriptional activation, highlighting an exceptional example of evolutionary adaptation.**

DOI: 10.1007/s12268-026-2727-6  
© The Author(s) 2026

■ Adenoviren sind nicht-umhüllte DNA-Viren, die ihren Replikationszyklus im Zellkern nicht-teilender Wirtszellen durchlaufen. Sie verursachen ein breites Spektrum an Erkrankungen, darunter Atemwegsinfektio-

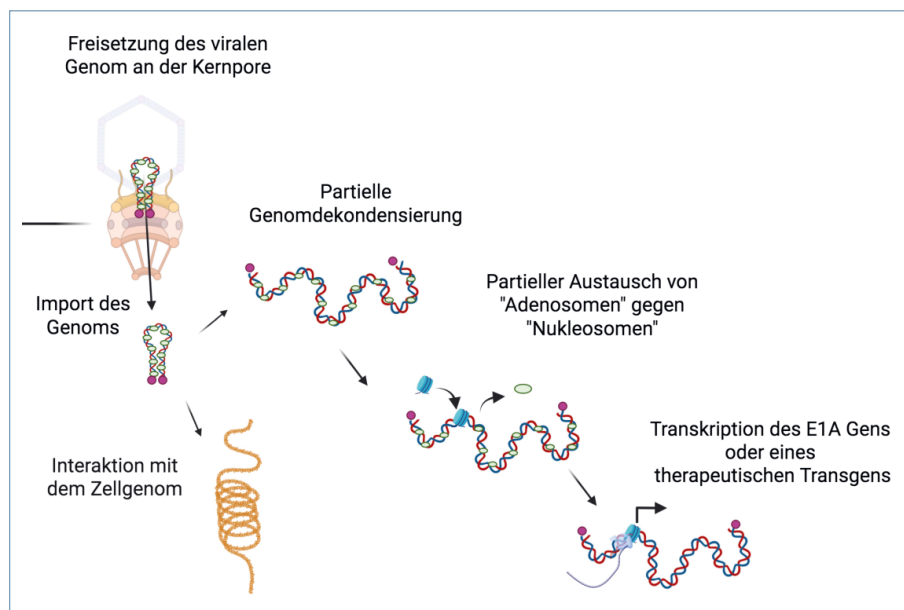
nen, Bindehautentzündung und gastrointestinale Symptome, letztere insbesondere bei Kindern. Während Infektionen bei immun-kompetenten Personen meist selbstlimittierend verlaufen, können sie bei immun-

supprimierten Patientinnen und Patienten schwere bis lebensbedrohliche Verläufe annehmen. Therapeutische Optionen sind bislang begrenzt und spezifische antivirale Strategien stehen nur eingeschränkt zur Verfügung.

Paradoxerweise ist die hohe Effizienz der Infektion als Pathogen bei vergleichsweise geringer Pathogenität genau die Eigenschaft, welche Adenoviren zu vielseitig einsetzbaren Vektoren in der Gentherapie, der onkolytischen Therapie und der Impfstoffentwicklung gemacht haben. Eine besondere Bedeutung erlangten adenovirale Vektoren jüngst im Rahmen der weltweiten Impfkampagnen gegen SARS-CoV-2 während der COVID-19-Pandemie.

Dieses Spannungsfeld zwischen Pathogenität und biotechnologischer Nutzbarkeit ist nur vor dem Hintergrund unserer detaillierten Kenntnisse der zugrunde liegenden strukturellen und zellbiologischen Mechanismen verständlich. Eine zentrale Frage lautet: Wie gelingt es einem ikosaedrischen Viruspartikel, sein Genom präzise in den Zellkern einzuschleusen und dort innerhalb kürzester Zeit eine koordinierte Genexpression zu initiieren – sei es, um den Replikationszyklus zu starten oder um ein therapeutisches Gen zu exprimieren?

Strukturell bestehen Adenoviren aus einem etwa 90 Nanometer großen ikosaedrischen Kapsid, das ein lineares, doppelsträngiges DNA-Genom von rund 36 Kilobasen umschließt. Dieses Genom ist an beiden Enden kovalent mit einem terminalen Protein (TP) verbunden und wird im Inneren des Viruspartikels durch mehrere hundert Kopien des viralen Proteins VII zu einer stark kondensierten Struktur organisiert. Diese Struktur erhöht nicht nur die Stabilität außerhalb der Zelle, sondern schafft zugleich die Voraussetzung für einen kontrollierten Transport und eine rasche transkriptionelle Aktivierung im Zellkern der neu infizierten



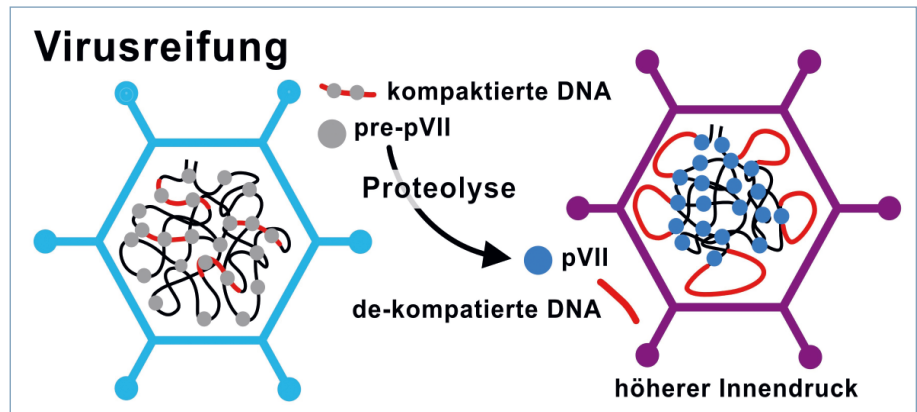
▲ **Abb. 1:** Schematische Darstellung des Imports des viralen Genoms in den Zellkern und die darauffolgende Reorganisation des Genoms.

Zelle. Hierzu wird das Kapsid während der Aufnahme in die Zelle schrittweise destabilisiert und zum Zellkern transportiert.

Beim Andocken an die Kernpore zerfällt dann das Kapsid vollständig und das freigesetzte, mit Protein VII kondensierte Genom wird in den Nukleus importiert. Im Zellkern angekommen, muss sich diese virale Transportform des Genoms an das zelluläre Genom anlagern, partiell de-kompaktieren und die Transkription des frühen viralen Gens E1A ermöglichen. Die virale Genexpression erfolgt bemerkenswert rasch nach der Infektion, wobei das E1A-Gen ein multifunktionales Protein bildet, das auch ein zentraler Aktivator des viralen Genexpressionsprogramms ist. Während die wichtige Rolle des E1A-Proteins für die virale Genexpression sowie für die Umwandlung der Transportform des Genoms in eine transkriptionell aktive Form bereits seit einiger Zeit bekannt ist, fehlen uns Informationen darüber, wie sich die Verpackung und Struktur des viralen Genoms sich in diesem Prozess verändert und wie Faktoren der Wirtszelle mit dem eintreffenden Genom interagieren. In unseren jüngsten Arbeiten haben wir die eben genannten Prozesse mithilfe einer Kombination aus Bildgebungs- und Genomikmethoden mit hoher Auflösung analysiert [1, 2].

### Chromatin

Im Gegensatz zur viralen DNA misst die DNA-Länge des menschlichen Genoms zwei Meter und muss in einem Zellkern mit einem 200.000 mal kleineren Durchmesser untergebracht werden. Hierzu muss die hohe negative Ladung der DNA neutralisiert und das relativ starre DNA-Molekül durch Spiralisierung gleichzeitig kompaktiert werden. Die kompakte und verpackte Form der DNA wird als Chromatin bezeichnet, wobei die DNA um molekulare Spulen gewickelt ist, die aus positiv geladenen Histon-Proteinen bestehen. Vier verschiedene Histone lagern sich zu einem oktameren Partikel zusammen, das so beschaffen ist, dass sich 147 Basenpaare (bp) DNA in etwa zwei engen Schleifen darum wickeln. Der entstehende DNA-Proteinkomplex wird als Nukleosomen-Kern bezeichnet. Die einzelnen Nukleosomen-Kerne sind wie die Perlen auf einer Kette nebeneinander aufgereiht, zwischen den einzelnen Nukleosomen-Kernen liegt ein kurzer DNA-Abschnitt als Abstandshalter (DNA-Linker). Der Nukleosomen-Kern mit dem DNA-Linker, der etwa 30 bis 70 bp lang ist, wird als Nukleosom bezeichnet.



▲ **Abb. 2:** Schematische Darstellung der Prozessierung des Adenoviren-Chromatins im Viruspartikel. Durch proteolytische Spaltung des pre-PVII-Proteins zu PVII wird die Verpackung reorganisiert und es entstehen Genombereiche, die eine geringere DNA-Kompaktierung aufweisen. Die de-kompaktierte DNA erhöht den Innendruck im Virus [6] und ermöglicht eine schnellere Transkription.

Das circa drei Milliarden Basenpaare lange, humane Genom wird von etwa 30 Millionen Nukleosomen gebunden, die die DNA-Länge um den Faktor 7 kompaktieren.

Nach der Bildung der Nukleosomenkette ist eine weitere Kompaktierung des Chromatins notwendig, um das Erbmaterial im Zellkern unterzubringen. Nach der klassischen Lehrbuchdarstellung faltet oder wickelt sich die Nukleosomenkette in mehrere hierarchisch übergeordnete Strukturen, die die DNA weiter verkürzen. Die Nukleosomenkette faltet oder spiralisiert sich in eine 30 Nanometer (nm) lange Faser (Durchmesser der im Elektronenmikroskop sichtbaren Struktur). Diese 30-nm-Faser wiederum organisiert sich in eine 100-nm-Faser, die zusätzlich noch weitere Überstrukturen bilden kann und letztendlich das im Lichtmikroskop sichtbare mitotische Chromosom bildet. Ob diese hierarchische und systematische Organisationsform in der Zelle existiert, ist mehr als fraglich. Hochoflösende elektronenmikroskopische und lichtmikroskopische Experimente widersprechen diesem Modell und zeigen, dass die Kompaktierung durch ein ungeordnetes Aneinanderlagern der Nukleosomen erfolgt [3, 4]. Genomweite Analysen der DNA-Zugänglichkeit mittels DNA-hydrolysierender Enzyme (MNase-Seq) zeigen zusätzlich eine spezifische Positionierung der Nukleosomen an regulatorischen DNA-Elementen sowie eine lokale Destabilisierung einzelner Nukleosomen an z. B. aktiven Enhancern und Promotoren von Genen [5]. Die spezifische Position und Stabilität dieser Nukleosomen bestimmt darüber, ob DNA-sequenzspezifisch bindende Transkriptions-

regulatoren an die genomische DNA binden können und somit z. B. die Transkription aktivieren.

### Organisation des viralen Chromatins

Das Prinzip einer perlenkettenartigen Verpackung der DNA findet sich bis zu einem gewissen Grad auch in der Organisation des viralen Genoms wieder. Mehrere hundert Kopien des Proteins VII bilden dabei zusammen mit der viralen DNA Nukleosomen-ähnliche Strukturen, die Adenosomen. Diese besetzen das virale Genom in unregelmäßigen Abständen und gewährleisten so eine kompakte, hochstrukturierte Organisation des Genoms innerhalb des Kapsids.

Mittels der quantitativen Analyse der DNA-Zugänglichkeit durch MNase-Seq konnten wir die Positionen dieser Adenosomen erstmals kartieren und zeigen, dass sie trotz ihrer scheinbar unregelmäßigen Verteilung sehr präzise Positionen auf dem Genom einnehmen, die zwischen verschiedenen Viruspartikeln identisch sind. Anders als zelluläre Nukleosomen schützt jedes Adenosom dabei etwa 70 bp des Genoms. Darüber hinaus konnten wir durch die Analyse der zugrunde liegenden Sequenzen belegen, dass die Positionierung der Adenosomen einem spezifischen Dinukleotid-Wiederholungsmuster der viralen DNA-Sequenz mit einer Periodizität von ~5,4 bp folgt. Dies deutet auf eine evolutionäre Optimierung des Virusgenoms für eine Optimierung seiner Verpackung hin.

Unsere Analyse zeigte somit, dass sich die Organisation des viralen Chromatins deutlich von der Chromatinorganisation der Wirtszelle unterscheidet. Die zentrale Frage

war daher, wie ein derart unterschiedlich organisiertes Chromatin dennoch von der zellulären Maschinerie transkribiert werden kann.

### Adenoviren kapern die Verpackung des Wirts

Mithilfe von Mikroskopie bestimmten wir zunächst die Dynamik dieses Prozesses, indem wir einzelne importierte virale Genome direkt nachwiesen. Dies erfolgte über den Nachweis des Genom-gebundenen Proteins VII und der Detektion von E1A-RNA mittels *in situ*-Hybridisierung nach Aktivierung des Gens im Zellkern. Diese Analyse zeigte, dass der Import der viralen Genome in den Zellkern sehr schnell erfolgt und bereits etwa eine Stunde nach der Infektion abgeschlossen ist. Die Aktivierung der Transkription des E1A-Gens setzt dagegen deutlich verzögert ein und beginnt erst zwei bis vier Stunden nach der Infektion.

Um zu verstehen, wie sich die eingehenden Genome in dieser Zeit verändern, nutzten wir parallel unsere quantitative MNase-Seq-Methode, die es erlaubt, Veränderungen der viralen Chromatinstruktur mit Basenpaarauflösung zu verfolgen. Diese Analyse zeigte zwei zentrale Ergebnisse. Erstens öffnet sich das virale Chromatin gezielt in den Regionen, die frühe virale Gene codieren, etwa im Bereich des E1A-Gens, das sich an den Enden des viralen Genoms befindet. Noch wichtiger ist jedoch, dass an den Transkriptions-Startstellen dieser frühen Gene, insbesondere des E1A-Gens, die viralen Protein-VII-Adenosomen selektiv entfernt und durch zelluläre Nukleosomen ersetzt werden (**Abb. 1**).

Erst dieser Austausch der viralen Verpackungsproteine gegen humane Histone ermöglicht das Auslesen der viralen DNA durch die zelluläre Transkriptionsmaschine. Dieser Prozess beginnt etwa eine Stunde nach dem Import der viralen DNA in den Zellkern.

### Verpackung des Genoms reift im Viruspartikel

In einer nachfolgenden Studie konnten wir zeigen, dass sich bereits im Virus die Verpackung des Genoms dynamisch ändert und für die Aktivierung im menschlichen Wirt vorbereitet wird [1]. Zu Beginn ist die virale DNA extrem kompakt verpackt, wird aber durch eine spezifische Spaltung des Ver-

packungsproteins VII in fünf definierten Regionen des Genoms aufgelockert (**Abb. 2**). Diese Lockerung erfüllt zwei Aufgaben: Zum einen entsteht durch die Entspannung der DNA ein starker Innendruck im Virus, der es erlaubt, wie oben erwähnt, das Kapsid zu destabilisieren und die Virushülle zu öffnen, wenn das Virus in die Zelle eindringt [6]. Zum anderen liegen einige dieser aufgelockerten DNA-Stellen in den Bereichen der frühen Gene, die als erste aktiviert werden. Die fünf Regionen werden ebenfalls, wie die Positionierung der Adenosomen, durch spezifische DNA-Codes bestimmt. Sie weisen einen besonders niedrigen GC-Gehalt auf, der die Bindungseigenschaften des gespaltenen Protein VII beeinflusst und die DNA-Verpackung auflockert.

Die Reifung des Viruspartikels stellt somit sicher, dass das eingebrachte virale Genom unmittelbar und effizient von der zellulären Transkriptionsmaschinerie genutzt werden kann. Unsere Ergebnisse zeigen zudem, dass die dynamische Organisation des viralen Chromatins in der DNA codiert und mit den Mechanismen der zellulären Chromatinorganisation vollständig kompatibel ist. Damit liefert unsere Arbeit ein weiteres Beispiel für die bemerkenswerte Fähigkeit viraler Evolution, sich präzise an die molekularen Prozesse der Wirtszelle anzupassen.

Das Verständnis dieser dynamischen Reorganisation liefert grundlegende Einblicke in die Mechanismen der viralen Genaktivierung in infizierten Zellen und ermöglicht so potenziell neue therapeutische Ansätze zur Unterdrückung der viralen Genexpression. Gleichzeitig kann dieses

Wissen dazu beitragen, optimierte adenovirale Vektoren zu entwickeln, die künftig als sicherere und präzisere Vakzine oder Genterapeutika eingesetzt werden könnten. Zwei nur scheinbar gegensätzliche medizinische Anwendungsfelder, die auch in Zukunft eine zentrale Rolle spielen werden. ■

### Literatur

- [1] Baumgart C, Holzinger S, Schwartz U et al. (2025) Adenovirus maturation establishes the transcription competent packaging of its genome. *EMBO Rep* 26: 5589–5611
- [2] Schwartz U, Komatsu T, Huber C et al. (2023) Changes in adenoviral chromatin organization precede early gene activation upon infection. *EMBO J* 42: EMBJ2023114162
- [3] Ou HD, Phan S, Deerinck TJ et al. (2017) ChromEMT: Visualizing 3D chromatin structure and compaction in interphase and mitotic cells. *Science* 357: eaag0025
- [4] Maeshima K, Ide S, Babokhov M (2019) Dynamic chromatin organization without the 30-nm fiber. *Curr Opin Cell Biol* 58: 95–104
- [5] Schwartz U, Németh A, Diermeier S et al. (2018) Characterizing the nuclease accessibility of DNA in human cells to map higher order structures of chromatin. *Nucleic Acids Res* 47: 1239–1254
- [6] Ortega-Esteban A, Condezo GN, Pérez-Berná AJ et al. (2015) Mechanics of Viral Chromatin Reveals the Pressurization of Human Adenovirus. *ACS Nano* 9: 10826–10833

**Funding:** Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.  
**Open Access:** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

### Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Gernot Längst  
 Chromatin Dynamics and Applied Epigenetics  
 Universität Regensburg  
 Universitätsstraße 31  
 D-93053 Regensburg  
 gernot.laengst@ur.de  
 www.laengstlab.com

### AUTOREN



#### Harald Wodrich

Studium der Biologie an der Universität Hamburg. Promotion am Leibniz Institut für Virology in Hamburg. **2000–2004** PostDoc am Scripps Research Institut in La Jolla, USA. **2005–2008** Rekrutierung als Charge de Recherche (INSERM) am Institut de Génétique Moléculaire de Montpellier, Frankreich. Seit **2008** Directeur de Recherche (INSERM) und Gruppenleiter am Laboratoire Microbiologie Fondamentale et Pathogénéicité der Universität Bordeaux, Frankreich.



#### Gernot Längst

Studium der Biologie an der TU Darmstadt. Promotion am Deutschen Krebsforschungszentrum (DFKZ), Heidelberg, im Labor von Prof. Dr. I. Grummt. **1998–2001** PostDoc am EMBL, Heidelberg. **2001–2005** Gruppenleiter an der LMU München. Seit **2006** Professor für Biochemie an der Universität Regensburg.