



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Fakultät für Klinische Medizin Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Vergleich der NS3-Proteaseaktivität der Genotypen 1a und 1b des
Hepatitis C Virus**

Autor: Pamela Strein
Einrichtung: Abteilung Molekulare Pharmakologie, Boehringer
Doktorvater: Prof. Dr. P. Scigalla

Das Genom des Hepatitis C Virus kodiert für ein Polyprotein, das neben drei Strukturproteinen fünf Nichtstrukturproteine beinhaltet, darunter auch die NS3-Protease und deren Kofaktor, 4A. Diese Protease schneidet zwischen den einzelnen Nichtstrukturproteinen. Erst durch die Prozessierung entstehen die aktiven, reifen Proteine, die für den Lebenszyklus des Virus essentiell sind.

Aufgrund unterschiedlicher Nukleotidsequenzen wird das Hepatitis C Virus in sechs Genotypen unterteilt. Dieser Klassifikation in Genotypen wird klinische Bedeutung beigemessen, gibt es doch in der Literatur zahlreiche Hinweise dafür, daß die einzelnen Genotypen bezüglich klinischer Merkmale, beispielsweise Pathogenität und Ansprechbarkeit auf Interferon- α , differieren. Der Infektion mit dem Genotyp 1b wird im allgemeinen eine besondere Rolle zugeschrieben, sie gilt als besonders aggressiv und therapierefraktär.

Eine Begründung für das Verhalten des Genotyp 1b gibt es bisher noch nicht. Dieser Arbeit liegt die Theorie zugrunde, daß eine höhere NS3-Proteaseaktivität des Genotyp 1b dessen klinische Merkmale erklären könnte. Daher sollte die enzymatische Aktivität der NS3-Protease des Genotyp 1b mit der des Genotyp 1a verglichen werden. Im Zuge neuer Therapiestrategien in Form von NS3/4A-Proteasehemmern ist dieser Ansatzpunkt von besonderem Interesse.

Im verwendeten *in vitro* Assaysystem wurden die drei Schnittstellen der NS3-Protease im HCV-Genom am Übergang von NS4A/4B, NS4B/5A und NS5A/5B als doppelsträngige Oligonukleotide so in den Leserahmen der β -Galaktosidase eingefügt, daß die enzymatische Aktivität der β -Galaktosidase erhalten werden konnte, diese jedoch nach Spaltung durch die NS3-Protease ihre enzymatische Aktivität verlor. Somit war die enzymatische Aktivität der β -Galaktosidase, die sehr sensitiv bestimmt werden konnte, ein Maß für die proteolytische Aktivität der NS3-Protease.

Durch Vergleich der β -Galaktosidaseaktivitäten, die nach Transfektion gleicher Mengen der Protease des Genotyp 1a und 1b gemessen wurden, zeigte sich durchweg der Trend, daß die Protease des Genotyp 1b das Substrat je nach betrachteter Schnittstelle 1,5- bis 11mal effektiver schnitt als die des Genotyp 1a. Dies galt sowohl für die drei als Monomer getesteten Schnittstellen (NS4A/4B, NS4B/5A, NS5A/5B) als auch für eine als Dimer getestete Schnittstelle (NS5A/5B). Des weiteren bestätigten die Transfektionsexperimente die bereits für das Virus bekannte Tatsache, daß die individuellen Schnittstellen durch die NS3-Protease verschieden gut geschnitten werden. Dabei ergab sich die Reihenfolge NS5A/5B>NS4A/4B>NS4B/5A, was als Hinweis auf die Übertragbarkeit der gewonnenen Daten auf die Situation *in vivo* gewertet werden kann.

Die in dieser Arbeit gewonnenen Daten lieferten erstmals Hinweise darauf, daß die gegenüber dem Genotyp 1a höhere Pathogenität und Therapieresistenz des Genotyp 1b durch dessen höhere Aktivität der NS3/4A-Protease erklärbar sein könnte. Andere Ursachen, wie z.B. weitere Virusproteine oder die nichttranslatierten Regionen, wurden nicht untersucht und können deshalb nicht ausgeschlossen werden.