

Myriam Grüner

Dr.sc.hum.

## **Das humane Papillomvirus Typ 16 E5-Protein moduliert die HLA-I-Oberflächenexpression durch einen Calnexin-abhängigen Mechanismus**

Geboren am 29.08.1972 in Neustadt an der Weinstraße

Diplom der Fachrichtung Biotechnologie am 03.08.2000 an der Fachhochschule Mannheim

Promotionsfach: DKFZ (Deutsches Krebsforschungszentrum)

Doktorvater: Prof. Dr. Ángel Alonso

Das humanpathogene Papillomvirus Typ 16 ist ein kleines nicht-lytisches DNA-Virus, das hauptsächlich für die Entwicklung von Zervixkarzinomen, die zweithäufigste Krebsart bei Frauen, verantwortlich gemacht wird. HPV kodiert für zwei späte („late“, L) Strukturproteine und für sechs frühe („early“, E) Funktionsproteine. Dabei ist das frühe E5-Protein, aufgrund seines stark ausgeprägten hydrophoben Charakters, das einzige HPV16-Protein, das mit Membranen der Wirtszelle assoziiert ist. Dieses 83 Aminosäuren lange Protein wird für die Reduktion der HLA-I-Expression an der Zelloberfläche verantwortlich gemacht.

Das Ziel dieser Arbeit war, den bis heute noch unbekanntem molekularen Mechanismus, der diesem Effekt unterliegt, näher zu untersuchen und weiter aufzuklären. Es wurde gezeigt, dass das HPV16-E5-Protein in Calnexin-exprimierenden Zellen die HLA-I-Oberflächenexpression reduziert, nicht aber in Calnexin-defizienten Zellen. In Immunpräzipitationen wurde Calnexin als Interaktionspartner des HPV16-E5-Proteins kopräzipitiert. Diese Assoziation ist von der ersten hydrophoben Domäne des E5-Proteins abhängig. Die generierte E5-Mutante M1, in der die erste putative transmembrane Domäne derart modifiziert wurde, dass ihre Neigung sich zu einer Helix zu formen, verhindert wurde, zeigte eine wesentlich schwächere Kopräzipitation von Calnexin. Zusätzlich wurde gezeigt, dass die Expression der Mutante M1 weit weniger die Anzahl der HLA-I-Moleküle an der Zelloberfläche reduziert, als das nicht-mutierte HPV16-E5-Protein. Weiter wurde durch Koimmunpräzipitationen nachgewiesen, dass E5, Calnexin und die schwere Kette des HLA-I-Moleküls einen Dreierkomplex formen. Dieser Komplex wird vermittelt durch die erste putative transmembrane Domäne des HPV16-E5-Proteins. Die Ergebnisse deuten damit auf eine E5-vermittelte Reduktion der HLA-I-Oberflächenexpression, die abhängig ist von einer Interaktion zwischen dem Virusproteins E5

und Calnexin. Diese Bindung wird über die erste putative transmembrane Domäne seitens E5 gewährleistet. Zusammenfassend kann gefolgert werden, dass der nachgewiesene Dreier-Komplex aus HPV16-E5, Calnexin und HLA-I dafür verantwortlich ist, dass HLA-I-Moleküle im ER/GA zurückgehalten und nicht an der Zelloberfläche präsentiert werden.