

Huiling Guo

Dr. med.

Verification of novel interaction partners of human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncoproteins

Fach/Einrichtung: Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ)

Doktorvater: Prof. Dr. Frank Rösl

Persistierende Infektionen mit humanen Hochrisiko-Papillomviren – wobei HPV16 der häufigste onkogene Typ ist – können zur Entwicklung bösartiger Mund-Rachen- und anogenitaler Tumoren führen, die z. B. für 99 % der Gebärmutterhalskarzinome und 33 % der oropharyngealen Plattenepithelkarzinome verantwortlich sind. Die zwei wichtigsten viralen Onkogene *E6* und *E7* der Hochrisiko-HPVs sind hauptsächlich für die Krebsentstehung verantwortlich, indem sie zu einer Anhäufung von genetischen Veränderungen durch eine höhere Zellteilungsrate, chromosomale Instabilität und Hemmung der Apoptose führen. Trotz des relativ kleinen Genoms von HPVs werden kritische Funktionen und Signalwege u.a. durch Interaktionen zwischen Wirts- und Virusproteinen erreicht. Daher ist ein Untersuchen der Interaktionen zwischen Wirts- und Virusproteinen von entscheidender Bedeutung für das Verständnis von HPV-assoziierten Krankheiten und ihrer Rolle bei der Zelltransformation.

In einer vorausgegangenen Studie (Yang 2019) wurden mögliche neue Interaktionspartner von HPV16 E6 und E7 Onkoproteinen durch enzymatische Biotinylierung (BioID) identifiziert, eine Methode, die alle Proteine in unmittelbarer Nachbarschaft zu einem Zielprotein markiert. Sechs potenzielle neue Interaktionspartner, AIMP1, AIMP2, DTX3L, FUBP1, PARP9 und ZFP36L1, wurden für weitere Experimente in dieser Studie ausgewählt. Zunächst wurden die Expression, die Proteinlevel und die Proteininstabilität der sechs Kandidatenproteine in verschiedenen HPV16-positiven und HPV-negativen Zelllinien untersucht. In den HPV16-positiven SiHa-Zellen zeigten AIMP1 und ZFP36L1 nach ektopischer Expression in Abwesenheit des Proteasom-Inhibitors MG132 eine gewisse, jedoch letztlich nicht reproduzierbare Instabilität. Diese Instabilität könnte durch die viralen Onkoproteine entstehen, aber Co-Expressions- und siRNA-Knockdown-Experimente mit HPV16 E6/E7 zeigten keine eindeutigen Veränderungen der Proteinlevel der Kandidaten, weder endogen, noch nach ihrer ektopischen Expression.

Von den sechs ausgewählten neuen Interaktionspartnern waren AIMP1, AIMP2, DTX3L und PARP9 mit E7 in der BioID angereichert, während FUBP1 und ZFP36L1 mit E6 angereichert waren. Zur Überprüfung der vorhergesagten Virus-Wirt Protein-Interaktion wurden Co-Immunopräzipitationen (Co-IP) in NOKs und U2OS-Zellen durchgeführt. HPV16 E6 wurde nach ektoptischer Expression in U2OS mit vier Kandidaten, AIMP1, AIMP2, ZFP36L1, PARP9 isoliert, was auf eine mögliche Bindung und Interaktion hindeutet.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass aufgrund der Diskordanz zwischen BioID- und Co-IP-Daten hinsichtlich der Interaktion von AIMP1, AIMP2, FUBP1 und PARP9 mit E6/E7, an dieser Stelle keine weitere Aussage bezüglich einer möglichen Bindung getroffen werden kann. Für ZFP36L1 hingegen, ein mRNA-bindendes Protein, das an der posttranskriptionellen Regulierung der Genexpression beteiligt ist, bestätigt die Co-IP die Ergebnisse der BioID, was diesen Kandidaten zu einem potenziellen neuen Interaktionspartner von HPV16 E6 macht. In Verbindung mit der möglichen Destabilisierung von ZFP36L1 in SiHa-Zellen ist ZFP36L1 besonders vielversprechend für weitere Experimente zur HPV-induzierten Karzinogenese.