

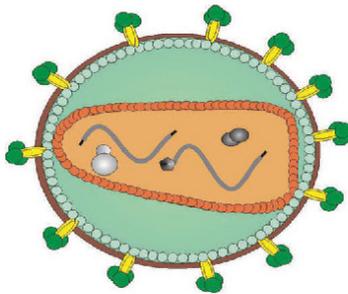


Kai Lieder (Autor)

Interface-Peptide der viralen Protease von HIV-1 als gentherapeutisch einsetzbare antivirale Substanzen

Kai Lieder

**Interface-Peptide der viralen Protease von HIV-1
als gentherapeutisch einsetzbare
antivirale Substanzen**



Cuvillier Verlag Göttingen

<https://cuvillier.de/de/shop/publications/3410>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen,
Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: info@cuvillier.de, Website: <https://cuvillier.de>

1. Einleitung

AIDS ist auch im 21. Jahrhundert eine ernste Bedrohung für die Menschheit. Nach Daten der UNAIDS lebten 2001 40 Millionen Menschen mit HIV oder zeigten AIDS Symptome. Allein im Jahr 2001 starben 3 Millionen Menschen an den Folgen der HIV-Infektion und 5 Millionen infizierten sich mit HIV-1. Über 95 % der Infizierten leben in den sogenannten Entwicklungsländern.

1.1 HIV/AIDS: Ursache und Wirkung

1981 wurden bei klinischen Untersuchungen junger, homosexueller Männer Häufungen sonst seltener Krankheitserscheinungen festgestellt. Diese waren der erste Hinweis auf eine neue, bis dahin unbekannte Krankheit. Die Erkrankten litten unter opportunistischen Infektionen, wie zum Beispiel Lungenentzündungen, ausgelöst durch *Pneumocystis carinii* (Gottlieb et al., 1981) oder an Infektionen verursacht durch Erreger aus dem *Mycobacterium avium*-Komplex (Zakowski et al., 1982; Greene et al., 1982). Häufig zeigte sich auch ein Gefäßtumor der Haut, der Kaposi-Tumor (Friedmann-Kien, 1981). Diese Erkrankung war bei jungen Menschen sonst recht selten. Die untersuchten jungen Männer zeigten einen starken Verlust an CD4⁺ T-Helferzellen. Aufgrund dieses Verlustes hatten sie keine dauerhaft effiziente antivirale Immunabwehr mehr (Gottlieb et al., 1981; Masur et al., 1981; Siegal et al., 1981; Ammann et al., 1983). Dieses Krankheitsbild wurde 1982 vom "Centers for Disease Control" (CDC, USA) als AIDS (acquired immunodeficiency syndrom) bezeichnet. Nicht nur Homosexuelle litten an der erworbenen Immunschwäche (AIDS), sondern auch Empfänger von Bluttransfusionen und Blutpräparaten, Spritzen benutzende Drogenabhängige und Neugeborene von Müttern mit AIDS (CDC, 1982a, b, c, d). 1983 wurden erste experimentelle Beweise für einen Zusammenhang zwischen einer Retrovirusinfektion und AIDS veröffentlicht. Am Pariser Pasteur Institut war es gelungen, ein neues Retrovirus zu isolieren, welches als LAV (lymphadenopathy-associated virus) bezeichnet wurde (Barre-Sinoussi et al., 1983). 1984 isolierten Wissenschaftler am NIH (National Institutes of Health) ein zytopathisch, T-Zell lymphotropes Virus aus AIDS-Patienten und Gesunden, die später an AIDS erkrankten (Gallo et al., 1984). Dieses Virus wurde als HTLV-III (human

T-lymphotropic virus type III) bezeichnet. Zur gleichen Zeit isolierten Wissenschaftler in San Francisco ein Retrovirus aus AIDS-Patienten, dem sie den Namen „AIDS-associated retrovirus“ (ARV) gaben (Levy et al., 1984).

Nukleotidsequenz-Analysen von HTLV-III, LAV and ARV zeigten eine große Übereinstimmung zwischen den Isolaten, die demnach unabhängige Isolate des gleichen Virus waren (Wain-Hobson et al., 1985; Hahn et al., 1984; Ratner et al., 1985; Sanchez-Pescador et al., 1985). Vom International Committee of Viral Taxonomy wurden sie als „human immunodeficiency virus“ (HIV) zusammengefasst (Coffin et al., 1986).

1986 wurde in West-Afrika ein weiteres humanes Immundefizienzvirus isoliert (Clavel et al., 1986). Das Isolat unterschied sich sowohl in der serologischen Reaktivität als auch in der Genomstruktur (Clavel et al., 1986a) von HIV-1 und wurde HIV-2 genannt. HIV-1 und HIV-2 verursachen ein vergleichbares Spektrum an Erkrankungen, jedoch ist der Zeitraum von der Infektion bis zur Ausbildung des Krankheitsbildes AIDS bei einer Infektion mit HIV-2 deutlich länger (Dufort et al., 1988; Pepin et al., 1991).

1.2 Genomstruktur und Morphologie von HIV-1

Das HIV-1 Genom weist drei offene Leserahmen auf: *gag*, *pol* und *env*. Der *gag*-Leserahmen kodiert für das 55 kDa Vorläuferprotein (Gag: group-specific antigen) aus dem die Hauptstrukturproteine des Virus prozessiert werden: Matrixprotein (MA), Kapsidprotein (CA), Nukleokapsidprotein (NC) und Protein p6 (Gowda et al., 1989; Kaplan et al., 1991). Der Leserahmen *pol* kodiert für die viruseigenen Enzyme: Protease (PR), Reverse Transkriptase (RT), RNase H und Integrase (IN) und wird als Gag-Pol exprimiert. Für die Translation von Gag und Gag-Pol wird die gleiche mRNA verwendet. Diese mRNA umfasst die R-Region im 5'-LTR und das gesamte Virusgenom (Modrow, 1997). Das Gag-Protein wird an freien Ribosomen im Zytosol von dieser mRNA translatiert bis zum Stopp-Codon nach dem p6. In dem Teil, der für das NC des Gag-Polyproteins kodiert, befindet sich eine uridinreiche Sequenzfolge in der mRNA. In ca. 5-10 % der Translationsereignisse erfolgt in diesem Bereich ein ribosomaler Leserasterschub von -1. Durch diese Verschiebung wird statt p6 nun im "neuen" Leseraster das Transframeprotein p6* translatiert an dessen Ende es kein Stopp-Codon gibt. Die mRNA wird weiter translatiert und es kommt zur Expression des Gag-Pol-Fusionsproteins, dass neben den Strukturproteinen MA, CA und NC, im Pol-

Vorläuferprotein die viralen Enzyme Protease, Reverse Transkriptase und Integrase enthält (Modrow, 1997). Durch *env* wird das Vorläuferprotein gp160 der viralen Hüllproteine gp41 (TM, Transmembranprotein) und gp120 (SU, Oberflächenprotein) kodiert (Abb. 1).

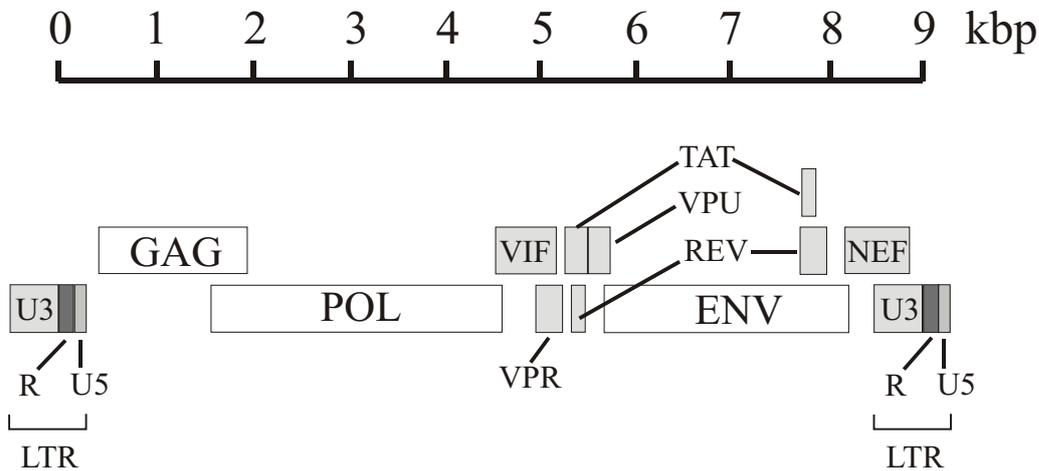


Abb. 1 Genomaufbau von HIV-1

Darstellung des proviralen Genoms mit flankierenden Enden. Die verschiedenen Exons für ein Protein sind durch Striche miteinander verbunden. U3: U3-Region, R: R-Region, U5: U5-Region, LTR: long terminal repeat, GAG: group-specific antigen, POL: polymerase, VIF: virion infectivity factor, VPR: viral protein R, REV: regulator of expression of virus proteins, ENV: envelope, TAT: transactivator of transcription, VPU: viral protein U, NEF: negativ factor

HIV-1 gehört zur Gruppe der komplexen Retroviren und kodiert noch für sechs weitere regulatorische Proteine. Die Genprodukte von *rev* (regulator of expression of virus proteins) und *tat* (transactivator of transcription) übernehmen regulatorische Aufgaben (Cullen, 1992), *nef* (negativ factor) und *vpu* (viral protein U) haben einen Einfluss auf die Expression des CD4-Rezeptors der Wirtszelle (Chen et al., 1996). Das Produkt von *vif* (virion infectivity factor) ist wichtig für die Ausbildung infektiöser Viren (Borman et al., 1995). Am Transport der viralen DNA vom Zytoplasma in den Nukleus ruhender Zellen ist das *vpr* (viral protein R) kodierte Protein als Bestandteil des Präintegrationskomplexes (PIC: preintegration complex) beteiligt (Heinzinger et al., 1994).

Retroviren besitzen als einzige Viren ein diploides Genom. Dieses (+)Strang-RNA-Genom dient nicht gleich nach einer Infektion als mRNA, sondern erst in der späten Phase der Virusvermehrung. Die ca. 9000 Nukleotide umfassende RNA weist die typischen Merkmale einer eukaryotischen mRNA auf. Sie trägt am 5'-Ende einen 7-Methylguanosinrest, eine

sogenannte „Kappe“ (cap). Dieser Rest ist über eine Triphosphatbrücke mit der 5'-OH-Gruppe des nachfolgenden Nukleotids verknüpft. Am 3'-Ende weist die virale mRNA einen poly(A)-Schwanz auf, eine Abfolge von etwa 200 Adenylatresten. Charakteristisch für das retrovirale RNA-Genom sind die R- und U₅-Region sowie die Primerbindungsstelle am 5'-Ende und die U₃- und R-Region am 3'-Ende. Dieses RNA-Genom wird durch die virale Reverse Transkriptase zum ds-DNA-Molekül umgeschrieben, in den Zellkern transportiert und mittels Integrase in das Wirtszellgenom integriert. Die provirale Form dient dann als Matrize für die Bildung neuer (+)Strang RNA-Genome, die in die sich neubildenden Viren eingeschlossen werden.

1.3 Viraler Replikationszyklus

Beim Austritt aus der Wirtszelle schnürt sich das unreife Virus durch Knospung mit einem Teil der Zytoplasmamembran der Wirtszelle ab. In diese sind virale Glykoproteine (gp41) als transmembrane Proteine eingelagert, die über eine Region von ca. 20-25 hydrophoben Aminosäuren in der Membran verankert sind (Coffin, 1996). Mit dem außerhalb der Membran gelegenen Teil des gp 41 ist ein externes virales Glykoprotein (gp120) durch nicht kovalente Bindungen assoziiert. Neben den viralen Proteinen enthält die Membran auch zelluläre Proteine (Gelderblom et al., 1987).

Im Inneren sind die Gag-Vorläuferproteine Gag und Gag-Pol radial mit den N-Termini an die Innenseite der Hüllmembran gelagert. Die C-Termini zeigen ins Innere des Viruspartikels (Wilk et al., 2001). Es kommt zur autokatalytischen Prozessierung der viralen Proteasemonomere aus dem Gag-Pol-Vorläuferprotein. Das enzymatisch aktive Proteasehomodimer prozessiert die Gag und Gag-Pol Vorläuferproteine (Kaplan et al., 1994). Durch die Freisetzung der viralen Strukturproteine und Enzyme bildet sich ein reifes, infektiöses Virus. Die reifen infektiösen Viruspartikel haben einen Durchmesser von 100 nm bis 300 nm (Abb. 2) (Wilk et al., 1999).