

Bedeutung von N-Glycanen

im V1- und V2- Bereich des HIV-1 Hüllproteins gp120 für die Infektiosität und Neutralisierbarkeit von HIV-1

Tobias Wolk

Für HIV-1 gibt es Hinweise, dass die Funktion der N-Glycane auf dem hochglykosylierten Hüllprotein gp120 in der Maskierung immundominanter Epitope liegt, die Ziel neutralisierender Antikörper sein könnten. Die Maskierung derartiger neutralisierender Domänen könnte das Virus in die Lage versetzen, sich vor einer humoralen Immunantwort zu schützen und könnte für die Beherrschbarkeit des entsprechenden Virus durch das Immunsystem von Relevanz sein. Die Maskierung des gp120 durch Zuckerstrukturen könnte zudem einen Einfluss auf die Bindungsfähigkeit des Virus an seinen Hauptrezeptor CD4 oder einen seiner Korezeptoren (CXCR-4; CCR-5) haben.

Das Hüllprotein gp120 von HIV-1 ist ein hochgradig glycosyliertes Protein mit 24 möglichen NxS- or NxT Bindungsstellen für eine N- Glycosylierung. Sechs der insgesamt 24 Bindungsstellen sind innerhalb der beiden variablen loops des Proteins, des V1 und V2 loop, lokalisiert. Es ist bekannt, dass die Zucker innerhalb dieser beiden Bereiche im Immundefizienzvirus der Halbweltaffen (SIV), eine dramatische Rolle bei der Resistenz gegen neutralisierende Antikörper spielen. Für HIV-1 ist gezeigt worden, dass der V1/V2loop wichtige modulierende Eigenschaften für die Interaktion des Virus mit seinen Korezeptoren und dessen Zucker innerhalb dieser Rolle eine entscheidende Funktion für die funktionelle Integrität des gesamten Proteins spielen.

Um die Funktion der N-Glycane in den V1/V2 loops von gp120 zu erhellen, wurde eine Reihe von sechzehn verschiedenen HIV-1 Viren (Stamm pNL4-3) konstruiert, die sich im Muster ihrer V1 und V2 loop Glycosylierung unterscheiden. Synthetische Oligonucleotide wurden dazu in eine NL4-3 env Genkassette kloniert, um Viren mit mutierten N-Glycosylierungsstellen zu erhalten. Die Aminosäure N (Asn) innerhalb des Erkennungsmotives wurde jeweils durch die Aminosäure Q (Gln) ersetzt. Mit den

rekombinanten proviralen Plasmiden wurden HeLa-P4 Zellen transfiziert und die viralen Überstände für die Infektion von U87/CXCR4 Indikatorzellen verwendet.

Der Verlust von zwei oder drei N-Glycanen im C-Terminus der V1/V2loops führt zu signifikanten Effekten in der viralen Replikationsfähigkeit, indem diese Viren zu niedrigen Titern wachsen und stark abgeschwächte TCID₅₀ (tissue culture infectious dosis)- Werte aufweisen, während ein Verlust der N-terminalen Zucker das Virus schnellere Replikationsfähigkeiten aufweisen lässt. Ein Verlust der N-terminalen N-Glycane hingegen macht das Virus sensibler gegen eine Neutralisierung mit humanen Seren und einer Reihe von monoklonalen Antikörpern.

Die V1 und V2loop N-Glycane des HIV-1 scheinen somit sowohl eine essentielle Rolle für die Funktionalität des gesamten Virus zu spielen, als auch einen Einfluss auf die Pathogenität des Virus durch die Maskierung neutralisierender Epitope zu haben, was für das Überleben des Virus in vivo von grosser Bedeutung ist.