

Zusammenfassung

Das E6-Protein des mit dem Zervixkarzinom assoziierten Humanen Papillomavirus (HPV) 16 (16E6) besitzt ein C-terminales PDZ-Bindemotiv, das unter den E6-Proteinen genitaler Hoch-Risiko-HPV-Typen konserviert ist. Über dieses PDZ-Bindemotiv bindet E6 an PDZ-Domänen-haltige Proteine und induziert in der Regel deren proteasomale Degradation. Dies korreliert mit dem onkogenen Potential von 16E6. Im Rahmen der Vorarbeiten wurde eine Interaktion der Protein-Tyrosin-Phosphatase PTPH1 mit dem PDZ-Bindemotiv von 16E6 beobachtet. PTPH1 besitzt Eigenschaften eines Tumorsuppressorproteins. In dieser Arbeit konnte die Interaktion zwischen 16E6 und PTPH1 mittels GST-Pull-Down Experimenten und Ko-Immunopräzipitationen bestätigt werden. *In vitro* und *in vivo* Degradationsassays belegten, dass 16E6 den proteasomalen Abbau von PTPH1 induziert. Hierfür waren sowohl die Interaktion des PDZ-Bindemotivs von 16E6 mit der PDZ-Domäne von PTPH1 als auch die Bindung von 16E6 an die zelluläre Ubiquitin-Ligase E6-AP notwendig. Die Wechselwirkung mit PTPH1 scheint unter den genitalen Hoch-Risiko E6-Proteinen konserviert zu sein, da auch HPV18 E6 an PTPH1 bindet und dessen Degradation vermittelt. HPV-positive, von Zervixkarzinomen abstammende Zelllinien, wiesen geringere Spiegel an endogenem PTPH1 auf, als HPV-negative Zellen, was darauf hindeutet, dass das in diesen Zelllinien exprimierte E6 intrazelluläres PTPH1 degradiert. Entsprechend kam es nach Einführen des HPV16 E2-Proteins, das die Expression von E6 stark reprimiert, in HPV16 positiven SiHa-Zellen zur Erhöhung der endogenen PTPH1-Mengen. Die Degradation von PTPH1 scheint auch für die morphologische Transformation von etablierten Nagerzelllinien durch 16E6 essentiell zu sein. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass die Reduktion des endogenen PTPH1 durch spezifische shRNA zur morphologischen Transformation der C127i-Mausfibroblasten-Zelllinie führte. Mittels eines Substrat-Trapping-Assays konnten drei potentielle Substrate von PTPH1 identifiziert werden. Zwei davon, Plectin-1 und β -Aktin, spielen eine Rolle bei der Ausbildung des Zytoskeletts.

E6-Proteine kutaner Hoch-Risiko HPV-Typen haben ebenfalls onkogenes Potential. So induziert auch das E6-Protein des kutanen HPV8 (8E6) die morphologische Transformation von C127i-Zellen. Obwohl 8E6 kein PDZ-Bindemotiv besitzt, konnte hier eine Interaktion mit PTPH1 festgestellt werden. Die Auswirkung der Interaktion mit 8E6 auf die Funktion von PTPH1 bleibt allerdings offen. 8E6 führte weder zum verstärkten Abbau von PTPH1, noch hatte es einen Einfluss auf die Phosphataseaktivität. 8E6 bindet über seine N-terminale Domäne an PTPH1. Die Mutation des Valins an Position 68, das unter den E6 Proteinen kutaner HPV-Typen konserviert ist, in ein Prolin, das sich an der entsprechenden Position bei genitalen E6 Proteinen befindet, eliminierte weitgehend die Interaktion mit PTPH1. Darüber hinaus verlieh das Prolin an Position 68 8E6 die Fähigkeit, Wachstum von RTS3b-Zellen im Wachstumsfaktor reduzierten Medium zu induzieren. Das Wildtyp 8E6 war dazu nicht in der Lage, im Gegensatz zu 16E6. Entsprechend führte der Austausch des Prolins an Position 59 in 16E6 in ein Valin dazu, dass RTS3b-Zellen im reduzierten Medium nicht wachsen konnten. Diese Daten deuten daraufhin, dass die Aminosäure Valin an Position 68 bei kutanen E6-Proteinen die Interaktion mit PTPH1 vermittelt, während die genitalen Hoch-Risiko E6 Proteine PTPH1 über ihr PDZ-Bindemotiv binden. Das Prolin an entsprechender Position genitaler E6-Proteine hingegen verleiht die Fähigkeit, die Wachstumsfaktor-Abhängigkeit der Zielzellen zu verringern, eine Eigenschaft, die den kutanen E6-Proteinen fehlt.