

İnsan İmmünyetmezlik Virüsü

Prof. Dr. Şemsettin USTAÇELEBİ

Bugüne kadar hiçbir infeksiyon etkeni son 15 yıldır retrovirüsler kadar araştırmacıların ilgisini çekmemiştir. Bunun esas nedeni bu grup virüslerin önemli insan ve hayvan patojeni olmaları, konak ile ilişkilerinin, özellikle hedef hücrelerinin özgül olması ve replikasyon şekilleridir. Virion içerisinde "reverse transcriptase (RT)" enzimi içermeleri nedeniyle bu virüslere "retrovirüs" adı verilerek "Retroviridae" ailesinde sınıflandırılmışlardır. Retrovirüsler genom yapı ve ilişkilerinden ziyade patojenitelerine göre üç alt ailede sınıflandırılmışlardır. Retrovirüs ailesinde bulunan genus ve iyi bilinen suşlar Tablo 1'de verilmiştir. Son zamanlarda izole edilen balık ve eklembacaklı retrovirüsleri bu listeye ilave edilmemişlerdir.

Retrovirüsler virion yapılarına (A'dan D tipi partiküllere), kullandıkları hücre reseptörlerine, endojen (provirüs) veya ekzojen olmalarına, onkogenlerinin varlığına ve diğer patojenik özelliklerine göre de daha ileri sınıflandırmaya alınmışlardır. A tipi partiküller B tipi virüs partiküllerinin çift membran içeren öncül partikülleridir. B tipi partiküller olgun virionda ekzantrik nükleokapsid içerirler. C tipi partiküller, C harfi şeklinde santral olarak lokalize nükleokapsid özyapı içerirler. D tipi partiküllerde nükleokapsid özyapı silindirik şekildedir.

İnsan immünyetmezlik virüsü (HIV) "lentivirüs" genusunda yer almaktadır. Bu genus içerisinde birçok nörolojik ve immünolojik hastalıklara neden olan kompleks ekzojen virüsler mevcuttur. Ancak lentivirüs genusunda yer alan virüsler direkt olarak hiçbir malign hastalığa neden olmazlar. Bu ailenin prototip üyeleri arasında yavaş (slow) virüslerden visna, equine infeksiyöz anemi virüsü ve caprine artrit ensefalit virüsü yer alır. Daha sonradan izole edilen Simian immünyetmezlik virüsü (SIV) ve bunlardan çok farklı olan Feline ve Bovine immünyetmezlik virüsleri (FIV ve BIV) bu grupta yer almaktadır.

İNSAN İMMÜNYETMEZLİK VİRÜSÜ (HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS: HIV)

Daha önceden sağlıklı olan genç erişkinler arasında 1980'li yılların başlarında

Tablo 1. Retrovirüs Genuslar

Genus	Bilinen Suşlar
Avian-Lökosis-Sarkoma	Rous sarkoma virüsü (RSV) Avian miyeloblastozis virüsü (AMV) Avian eritrobastozis virüsü (AEV) Avian miyelositomatozis virüsü (MC) 29 Rous-associated virüsü (RAV) 1-50
Mammalian C-tipi	Moloney Murine lösemi virüsü (Mo-MLV) Harvey Murine sarkoma virüsü (Ha-MSV) Abelson Murine lösemi virüsü (A-MuIV) AKR-MuLV Feline lösemi virüsü (FeLV) Simian sarkoma virüsü (SSV) Retiküloendotelyozis virüsü (REV) Spleen nekrozis virüsü (SNV)
B-tipi Virüsler	Mouse mammary tümör virüsü (MMTV)
D-tipi Virüsler	Mason-Pfizer monkey virüsü (MPMV)
HTLV-BLV Grubu	İnsan T-hücre lösemi (lenfotrofik) virüsleri (HTLV)-1 ve 2
Lentivirüs	İnsan immünyetmezlik virüsü (HIV)-1 ve 2 Simian immünyetmezlik virüsü (SIV) Feline immünyetmezlik virüsü (FIV) Bovine immünyetmezlik virüsü (BIV) Visna-Maedi virüsü Caprine artrit ensefalit virüsü (CAEV) Equine infeksiyöz anemi virüsü (EIAV)
Spumavirüs	Simian foamy virüsü (SFV) İnsan foamy virüsü (HFV) veya insan spuma retrovirüsü (HSRV) Feline syncytium-forming virüsü (FSFV)

Pneumocystis carinii pnömonisi ve Kaposi sarkomu görülme sıklığında bir artış kaydedilmiştir. Önce Kuzey Amerika'da görülen bu olguların daha sonra yapılan çalışmalarla Afrika ve Haiti'deki varlığı da ortaya çıkarılmıştır. Bu hastalarda görülen immün sistemin baskılanmasına neden olan etken 1983 yılının başında iki ayrı grup tarafın-

dan tarif edildi. Pastör Enstitüsü, Fransa'dan L. Montagnier ve Chicago, ABD'den R. Gallo AIDS (Acquired Immune Deficiency Syndrome)'e "kazanılmış bağışıklık yetmezlik sendromu" neden olan etkenin bir insan retrovirüsü olduğunu açıkladılar. Pastör Enstitüsü'nden araştırmacılar lenfadenopatili eşcinsel bir erkekten etken virüsü izole ettiler ve buna LAV (Lymphadenopathy Associated Virus) adı verildi. Bu virüsün daha sonra bilinen insan retrovirüslerinden farklı olduğu saptandı. HIV'de diğer insan retrovirüsleri gibi T lenfositlerine afinite göstermekteydi ve bu nedenle de bu grup virüsler "insan T lenfotropik virüsleri, (HTLV)" olarak adlandırılmaktaydı. HTLV-1 insan erişkin T hücre lösemisinden, HTLV-2 ise "hairy" hücre lösemisinden sorumlu retrovirüslerdi. İnsan immünyetmezlik virüsü (HIV)'de önceleri HTLV-3- diğer retrovirüslerden T lenfosit hücre kültürlerinde kısa sürede ve yüksek titrede üremesi, farklı sitopatik etki oluşturması, onkojenik özellik taşıması ve farklı antijenik ve moleküler özellik göstermesi ile ayrılmaktadır.

1986 yılında Uluslararası Virüs Taksonomi Komitesi AIDS etkeni olan bu virüsün insan immünyetmezlik virüsü (Human Immunodeficiency Virus = HIV) olarak adlandırılmasını kararlaştırmıştır. Aynı yıl Batı Afrika'da seropozitif asemptomatik bireylerden yeni bir subtip HIV izole edildi ve buna HIV tip 2 adı verildi. Daha sonra HIV-2'nin Avrupa, Brezilya ve Hindistan'da da görülmeye başlandığı rapor edildi.

HIV-1 ve HIV-2'nin birçok biyolojik karakterlerinin ortak olmasına rağmen, HIV-2, HIV-1'e göre seksüel yolla 3 defa ve vertikal yolla da 10 defa daha az geçme olasılığına sahiptir. HIV-2 immün sistemi baskılayarak AIDS oluşturmasına rağmen infekte bireylerde rastlanan serbest virüs miktarı (viral load) HIV-1'de saptanan miktardan oldukça azdır. Bunlara ilaveten HIV-2, HIV-1'den serolojik ve moleküler yapı olarak da kolaylıkla ayrılabilir. Her iki alt tip arasında viral özyapı (core) ve polimeraz proteinleri çapraz reaksiyon gösterirler.

VİRAL GENOM YAPI ve ORGANİZASYONU

HIV infeksiyöz virion yapısı birbirinin aynısı olan 9.2 kilobaz (kb) büyüklüğünde pozitif polariteli iki adet tek iplikli RNA içerir. İnfeksiyonun erken dönemlerinde virion RNA yapısı revers transkriptaz tarafından linear çift iplikli DNA haline çevrilir ve her iki ucunda "long terminal repeat (LTRs)"ler yer alır (Şekil 1). Bu linear viral DNA hücre genomuna integre olarak "provirüs" yapısını oluşturur. Böylece HIV'in iki formu mevcuttur. Hücre dışında tek iplikli RNA yapısı, hücre içerisinde çift iplikli DNA (provirüs) yapısıdır. Genomik viral RNA, proviral DNA'dan hücrenel RNA polimeraz II yardımı ile sentez edilir. Bu sentezden sonra genomik RNA 5' ucunda ve 3' poli-A kuyruğunda "cap" yapısı içerir.

Tablo 2'de HIV genlerinin adları, kodladıkları proteinler ve fonksiyonları verilmiştir. HIV'de *gag* geni virion kapsid proteinlerinin öncülerini (precursor), *pol* geni birçok virion enzimlerinin öncülerini [proteaz (PR), revers transkriptaz, RNase H ve integrase (IN)] ve *env* geni zarf glikoproteinlerinin öncülerini sentezlerler. Transkrip-

Tablo 2. HIV-1 ve HIV-2'nin Genleri ve Kodladıkları Proteinler

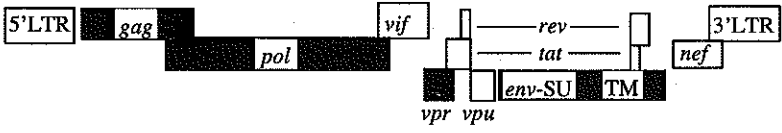
Gen	Protein	Fonksiyon
<i>gag</i>	p55	Virion özyapı proteinleri olan MA (p17), CA (p24), NC (p9) ve p7'nin öncül poliproteini. Virion nükleokapsidinde yer alır.
<i>pol</i>	p160	Virion enzimleri olan PR (p10), RT ve RNase H (p51/66) ve IN (p32)'nin öncül poliproteini. Virion nükleokapsidi içinde yer alır.
<i>vif</i>	p23	Viral infektivite faktörü. Hücre sitoplazmasında yer alır.
<i>vpx</i>	p16	Virion proteini, fonksiyonu bilinmiyor. Virionda yer alır.
<i>vpr</i>	p15	Virion proteini, fonksiyonu bilinmiyor. Virionda yer alır.
<i>tat</i>	p14	Transkripsiyon transaktivatörü. Hücre çekirdeğinde yer alır.
<i>rev</i>	p19	Posttranskripsiyonel transaktivatör. Hücre çekirdeğinde yer alır.
<i>vpu</i>	p16	Virüs salınımında rol oynar. İntegral hücre membran proteini.
<i>env</i>	gp160	Zarf glikoproteininin öncül yapısı. SU (gp120): CD4 reseptörüne bağlanma TM (gp41): Membran füzyonu Viral zarfta yer alır.
<i>nef</i>	p27	T hücre aktivasyonu, virion infektivitesini etkiler. Hücre sitoplazması ve plazma membranında yer alır.

siyon transaktivatörü (*tat*) ve viral ekspresyon regülatörü (*rev*) birbiri ile çalışan ekzonlar tarafından kodlanırlar. Her ikisi de virion yapısına girmeyen küçük proteinler olmakla birlikte virüs replikasyonunda önemli görev yaparlar. Bunlar dışında hem HIV hem de SIV'in replikasyonu için gerekli olmayan bazı genler mevcuttur. Bunlar "accessory" veya "auxiliary" genler olarak bilinirler. Bu genler HIV-1'de *vif*, *vpr*, *vpu* ve *nef*, HIV-2 ve SIV'de *vif*, *vpx*, *vpr* ve *nef* genleridir. Bunlardan *vpr* ve *vpx* virion içerisinde yapısal olarak yer almakla beraber, *vif*, *vpu* ve *nef* proteinleri virion içerisinde yapısal olarak yer almazlar. HIV-1, HIV-2 ve SIV genomik organizasyonu Şekil 1'de verilmiştir.

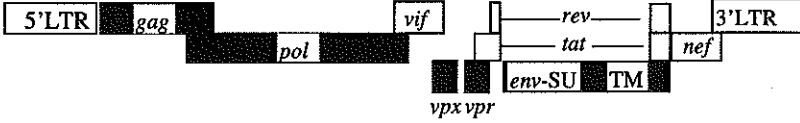
HIV VIRİON YAPISI

HIV virionunun yapı modeli yüksek rezolüsyon elektron mikroskopik incelemeler, virion komponentlerinin biyokimyasal ve immünokimyasal analizleri ile şekillendirilmiştir. Bu yöntemlerle infekte hücrelerden çıkan hücre dışı HIV-1 ve HIV-2 partiküllerinin morfolojik yapıları ve komponent içerikleri çok benzerlik göstermektedir. HIV-1 ve HIV-2 virionları sferik yapıda olup ortalama 110 nm büyüklüğündedir. Dondurma külahlı şeklindeki silindirik yapıda olan özyapıyı lipid membran veya zarf çevrelemektedir (Şekil 2). Virionun tümü sferik yapı görünümünde olmakla beraber nükleokapsid yapısı 100 nm büyüklüğünde ikozahedral yapı özelliği taşımaktadır. Viral

HIV-1



HIV-2/SIV



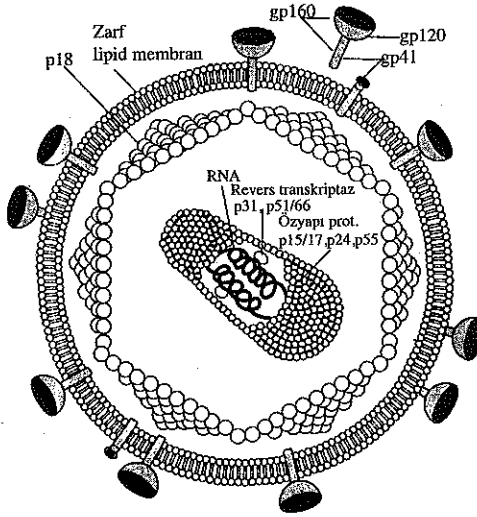
Şekil 1. HIV-1, HIV-2/SIV Genom Organizasyonu.

Linear çift iplikli DNA şekilleri HIV-1, HIV-2 ve SIV'de benzer yapı gösterir. Yapısal genler olan *gag*, *pol* ve *env* koyu siyah renkte gösterilmiştir. Düzenleyici genler (*tat* ve *rev*) ayrıca "nonessential" genler (*nef*, *vif*, *vpu*, *vpx* ve *vpr*) her üç virüste de gösterilmiştir. *vpu* yalnız HIV-1'de bulunurken *vpx* yalnız HIV-2'de ve bazı SIV suşlarında mevcuttur. *vpr* ise HIV-1, HIV-2 ve SIV tarafından kodlanır.

zarf ve elektron dens nükleokapsid arasındaki mesafe paranükleoid bölge, özyapı kabuğu veya lateral cisimcik olarak adlandırılmaktadır. Olgun HIV virion nükleokapsidi, *gag* öncül proteininden proteolitik olarak ayrılmış proteinlerle bağlantılı iki molekül tek iplikli viral RNA genomu içerir.

Virionda bulunan matrix proteini (MA), majör kapsid proteini (NC), *gag* gen ürünleri olarak bilinirler. MA, zarf ile nükleokapsid arasında yer almakta, CA, 5 nm kalınlığında olan majör kapsid tabakasını oluşturmakta ve NC ise viral RNA'yı sıkı bir şekilde çevrelemektedir. Genomik tek iplikli viral RNA'ların 5' uçları birbiri ile hidrojen bağları ile ilişkili haldedir. Ayrıca NC proteini de iki viral RNA genomunu birbirine birleştirmektedir. Genomik RNA ipliklerinin 5' ucunda transfer RNA lys yer alır ki, bu t-RNA'lar revers transkriptaz tarafından negatif iplik DNA sentezinin başlaması için bir primer görevi yapar. Özellikle *pol* geni tarafından sentez edilen öncül proteinden viral enzimler oluşturulur. Bu enzimler PR, RT ve IN olup virion içerisine paket edilirler. Revers transkriptaz heterodimer bir yapı içerir ve p51 ve p55 alt ünitelerinden oluşur. Revers transkriptaz ayrıca replikasyon sırasında oluşan RNA:DNA hibridindeki RNA'ya özgül ribonükleaz aktivitesi (RNase H) içerir. HIV-1'de *vpr* ve HIV-2'de *vpx* viral nükleokapsidle ilişkili küçük proteinler olup, bu proteinlerin diğer nükleokapsid yapıları ile tam ilişkileri bilinmemektedir.

HIV partikülünün membranında veya zarfında 72 adet çıkıntı (peplomer) yer alır. Virionun en büyük moleküler ağırlığına sahip bu çıkıntılarının her biri 9-10 nm uzunluğunda olup ovoid distal uçları 14-15 nm'dir. Bu çıkıntılarının herbirinin 7-8 nm'lik kısmı membran içerisine gömülmüştür (Şekil 2). Zarf glikoproteini (*env gp*) olarak bilinen bu yapılar iki kısımdan oluşur; yüzeyde bulunan gp120 (surface = SU) ve



Şekil 2. İnsan İmmünyetmezlik Virüsü.

Gen ürünü	Protein
gp120	Zarf glikoproteini
gp41	Transmembran glikoproteini
p24, p55	Özyapı (core) proteinleri
p31, p51/66	Revers transkriptaz, proteaz RNase H

membran içerisinde bulunan gp41 (transmembrane = TM) heterodimerleridir. Yüze-
de yer alan gp120 (SU) oldukça glikozillenmiş bir yapı içerir. Bu yapının yaklaşık 50
kd bölümü protein, 70 kd bölümü karbonhidrat yan gruplarından oluşmaktadır. Bu ya-
pı hücre yüzeyindeki reseptörlerle birleşmedeki tanıma rolünü üstlenmektedir. Yani
HIV-1 ve HIV-2'nin T lenfositleri üzerinde yer alan CD4 antijeni ile özgül olarak bir-
leşirler. Bu kademe ise virüsün hücreyi infekte etmesindeki ilk basamaktır.

HIV-1'in zarf yapısı incelendiğinde fosfolipid profilinin hücre plazma membran-
dan farklı olduğu görülmektedir. Viral zarfın kolesterol ve fosfolipid içeriği molar
oranda infekte hücre membranından 2.5 misli daha fazladır.

HIV'in konak hücreden tomurcuklanma ile olgunlaşması sırasında zarf yapısına
bazı hücre proteinleri de aldığı biyokimyasal ve immünokimyasal analizlerle bel-
irlenmiştir. Bu hücre proteinleri arasında β_2 -mikroglobulin, insan lenfosit DR antije-
ninin alfa ve beta zincirleri (MHC II), cyclophilinler ve az miktarlarda diğer protei-
nler yer alır. Hücre zarf yapısına birleşen bu proteinlerin viral replikasyonda veya pato-
genizde ne kadar rol oynadıkları henüz tam olarak bilinmemektedir.

VİRİON PROTEİNLERİ

Kapsid (core = özyapı) Proteinleri

HIV'de viral kapsidin fonksiyonu genomik RNA'yı paketlemek, virüs replikasyonu sırasında kapsidin soyulmasında ve muhtemelen viral replikasyonun erken dönemlerinde rol almaktır. Virüs tarafından kodlanan PR, *gag* gen ürünü olan öncül protein p55'i parçalayarak olgun kapsidde yer alan MA (p17), CA (p24), p2, NC (p7), p1 ve p6'yı oluştururlar. Bu proteinler olgun virüsün morfogenezinde rol oynarlar.

Olgun MA (matrix proteini) 130 aminoasit içerir. Moleküler ağırlığı 17-18 k'dır ve virion nükleokapsid ve zarf arasındaki matriksde yer alır. Genetik çalışmalar MA'nın viral infeksiyonun ilk kademelerinde özellikle virion ile hedef hücrenin füzyonunda rol oynadığını ortaya koymaktadır.

CA (kapsid proteini) *gag* poliproteininin orta kısmının PR tarafından parçalanması sonucunda ortaya çıkar ve 240 aminoasit içerir. Moleküler ağırlığı 24-27 k olup, yüksek hidrofob özelliğe sahiptir ve kapsid yapısının temel elemanıdır.

CA domaininde çalışmayan mutasyonları olan birçok *gag* mutantının birbirini komplemente ederek infeksiyöz virionun olgunlaşmasında rol oynadığı gösterilmiştir. CA'nın olgun virion oluşmasında rol oynamasının açıkça gösterilmesine karşın virüs replikasyonun ilk kademelerinde oynadığı rol henüz açıklık kazanmamıştır.

gag poliproteininin C terminal bölümünün proteaz tarafından parçalanması moleküler ağırlığı 7-9 k olan ve 70 aminoasitten oluşan NC'nin ortaya çıkmasını sağlar. Bu bazik, hidrofilik protein nükleokapsid içerisinde genomik viral RNA'ya bağlanır. Her NC molekülünün 4-6 nükleokapsid çevrelediği tahmin edilmektedir. NC'nin en önemli görevi olgun virüs yapımı sırasında viral RNA'yı nükleokapsid içerisine paketlenmesinde yardımcı olmasıdır. NC geninde nokta veya delesyon mutasyonu olan mutant virüslerle yapılan çalışmalar bu mutantların içerisinde viral RNA olmayan kapsidlerin oluşumuna neden olduğunu göstermiştir. Bu bulgular NC'nin viral RNA paketlemesi ve tüm virionun olgunlaşmasındaki önemli rolünü vurgulamaktadır.

Viral Enzimler

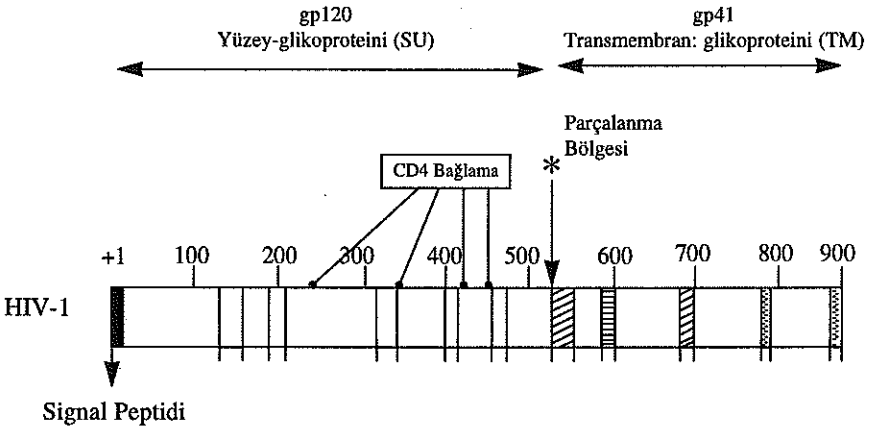
HIV'in hücreden olgunlaşması sırasında *gag-pol* poliproteininin p160 *gag-pol* proteolitik parçalanması sonucunda PR, RT (ve RNase H) ve IN enzimleri oluşturulur.

PR'nin olgun şekli 99 aminoasit büyüklüğünde (10 k)'dir. Yapılan genetik çalışmalar PR'nin viral replikasyonu için önemli olduğunu ortaya koymuştur. HIV-1, HIV-2 ve SIV proteazları kristalleştirilmiş ve yüksek rezolüsyon elektron dansite haritaları elde edilmiştir. Bu sonuçlara göre her üç retrovirüs proteazları benzer yapısal özellikler taşımaktadır. Yapılan çalışmalar retroviral proteazın birden fazla parçalanma bölgesine özgüllük taşımaktadır.

RNA'ya bağımlı DNA polimeraz aktivitesi taşıyan revers transkriptaz (RT), RNA ve DNA'dan DNA sentezleme fonksiyonu taşır. Revers transkripsiyon sırasında olu-

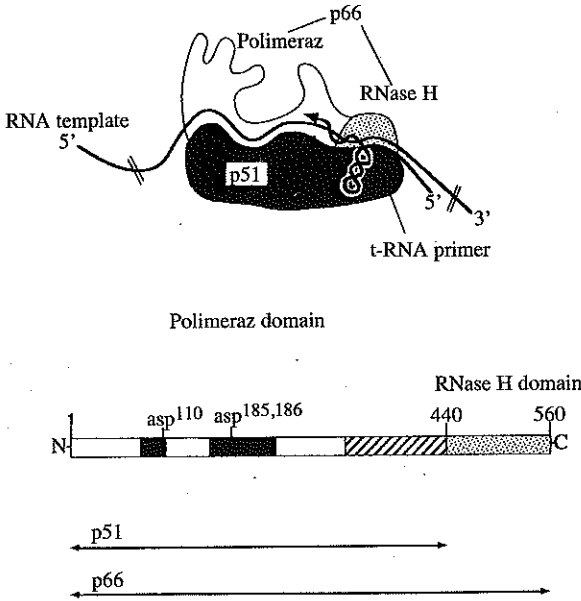
şan RNA:DNA hibridindeki RNA'nın parçalanması RNase H enzimatik fonksiyonu ile gerçekleştirilir. Böylece sentez edilen DNA çıplak bir şekilde diğer DNA iplikçığının komplementer olarak sentezine hazırlanır. RT geninde özgül mutasyonları olan HIV-1 klonları ile yapılan çalışmalar, RT ve RNase aktivitelerinin viral replikasyon için mutlak gerekli olduğunu ortaya koymuştur. RT, viral PR tarafından *gag-pol* öncül poliproteininden parçalanarak p66 homodimerini oluşturur. Ayrıca bir p66 C terminus bölgesi bunu takiben parçalanarak bir heterodimer oluşturulur (Şekil 3). Buna göre p51 ve p66'nın N terminusu aynıdır. p51 ve p66 alt ünitelerinin baş ve kuyruk kısmı bir heterodimer oluşturacak konfigürasyonda birleşmişlerdir. RT'nin domainleri heterodimerde sağ eli taklit edecek şekilde yer alır. Tıpkı bu yapı parmaklar, avuç içi ve baş parmak şeklinde organize olmuştur (Şekil 4). RT'nin katalitik bölgesi p66 alt ünitenin avuç içindeki tyr 183-met 184-aspartat 185-aspartat 186 kısmında yer alır (Şekil 4). Bu bölge hem retrovirüs RT'sinde ve diğer DNA polimerazlarda çok iyi konserve edilmiştir. Ayrıca asp 110 bölgesi de katalitik aktivite için gerekli olup aktif bölge rolü oynar.

Revers transkriptaz enzimi retrovirüsler arasında farklılıklar oluşmasını sağlar. Revers transkripsiyon sırasında yanlış nükleotidlerin yani komplementer olmayan nükleotidlerin nükleik asit içerisine birleştirilmesi tek baz mutasyonlarına yol açmaktadır. Bu mutasyonlar hem antijenik olarak farklı varyantların oluşmasına, hem de revers transkriptazı hedef alan antiviral ilaçlara olan rezistansın oluşmasına yol açmaktadır.



Şekil 3. HIV-1'in env gp'deki Fonksiyonel Domini.

N terminal bölgede bulunan signal peptidi gp160'ın ribozomlarda sentezini yönlendirir. Hücre içi proteaz env gp'nin biyogenezi sırasında bu sinyal peptidi ortadan kaldırır. Hücrenel proteaz ayrıca bu polipeptidi parçalayarak gp120 (su alt ünitesi) ve gp41 (TM alt ünitesi)'i ayırır. Ayrıca gp120'nin CD4'e bağlama bölgesi gösterilmiştir.



Şekil 4. RT Domainleri.

gag-pol öncül proteininden viral proteaz ile parçalanarak p66 lomodimerini oluşturur. Daha sonra bir p66 ült ünitesi C terminal bölgesinden kesilerek p66/p51 heteromerini oluşturur. Şekilde parmaklar, baş parmak ve avuç içi şeklinde polimerazın aktif bölgeleri gösterilmektedir.

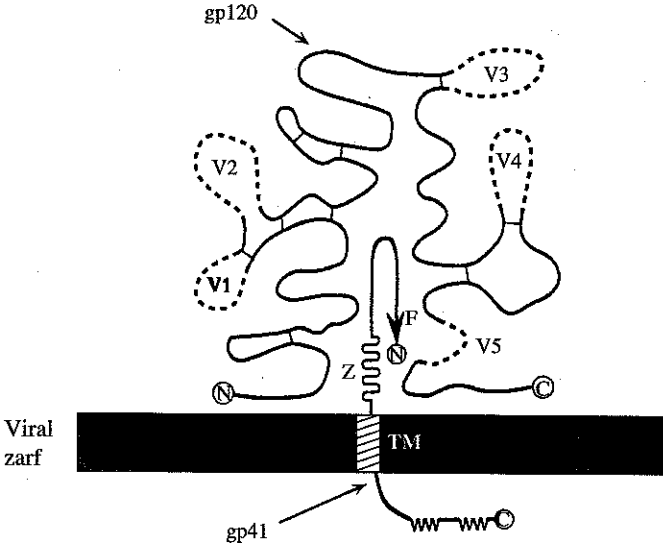
İntegraz (IN) enzimi viral DNA'nın parçalanması ve yeniden birleştirilmesinde aktif olarak görev almaktadır. Böylece IN çift iplikli proviral DNA'nın konak hücre genomuna birleştirilmesini (integrasyonunu) sağlar. HIV *gag-pol* öncül proteininin C terminus bölgesinden PR ile parçalandığında 32 kd ağırlığında IN meydana gelir. Yapılan genetik çalışmalarla IN polipeptidinin virüs replikasyonu için gerekli olduğu saptanmıştır.

Zarf Glikoproteinleri

HIV partikülünün yüzeyinde bulunan zarf glikoproteini (*env gp*), T lenfositlerinde, monositlerde, makrofajlarda ve dendritik hücrelerde bulunan CD4 reseptörlerine bağlanırlar. Bu bağlanma sonucunda *env gp* viral ve hücrel membranlar arasında füzyona neden olarak virüsün hücre içerisine alınmasını sağlar. Bunlara ilaveten viral glikoprotein hücrelerde sinsitya ve buna bağlı olarak dev hücre oluşumunu sağlar. Ayrıca *env gp* infekte konakta antiviral immün cevabın oluşmasındaki en önemli yapıdır.

HIV-1'de parçalanmış viral transkript hem *vpu* hem de *env gp*'nin öncül proteinini kodlar. Bu iki sistronlu viral m-RNA viral replikasyonun geç döneminde sentez edilir ve ekspresyonu viral *rev* geninin posttranskripsiyonel fonksiyonuna bağlıdır.

HIV *env* geni 850-880 aminoasit büyüklüğünde bir protein kodlar ve bu proteinin sentezi sırasında meydana gelen glikozillenme infekte hücrelerde saptanan en büyük zarf proteini olan gp160'ın oluşmasını sağlar. Hücre içerisinde gp160'ın parçalanması 550 aminoasit uzunluğunda N terminal alt ünitesi (gp120) ve 350 aminoasit uzunluğunda C terminal alt ünitesi (gp41) oluşumuna neden olur (Şekil 4). Yüksek derecede glikozillenmiş olan ve viral zarfın dış yüzünde yer alan hidrofilik protein gp120 aynı zamanda yüzey glikoprotein üniti (SU) olarak da bilinir. gp41, transmembran glikoproteini (TM) olarak bilinmekle beraber hidrofobik özellik taşır. Aynı zamanda gp41 tip 1 integral membran proteini olarak da bilinmektedir. Olgun HIV yapısında *env* gp, gp120 ve gp41'in nonkovalan bağlarla birarada tutulan bir heterodimeridir. HIV'de bulunan gp120 yapısındaki aminoasit dizilişi çok detaylı bir şekilde çalışılmış ve 18 sistein sıralanışı saptanmıştır. Sistein sıralanması gp120'de yüksek derecede konserve edilmiş durumdadır. Bu sistein yapıları arasında oluşan disülfid bağları gp120 yapısında ve fonksiyonunda oldukça kritik rol oynamaktadır. Sisteinler arasındaki disülfid bağları 5 adet değişken (variable) domain (V1, V2, V3, V4 ve V5) oluşturmaktadır (Şekil 5). HIV-1 gp120'nin CD4 reseptörü ile birleşen bölgeleri üzerinde oldukça geniş genetik biyokimyasal ve immünokimyasal çalışmalar yapılmıştır. Zarf (*env*) geninde oluşturulan bölgeye özgül mutasyonlar, gp120'nin değişik bölgelerinde CD4 reseptörüne bağlanmak için çok kısıtlı sayıda konserve bölgenin mevcut olduğunu ortaya koymuştur. Özellikle çalışmalar gp120'de bulunan V3 bölgesinde (loop) yo-



Şekil 5. HIV-1 *env* gp'nin (gp120 ve gp41) Katlanmış Yapısı.

Loopları oluşturan bölgeler içindeki çizgiler disülfid bağlarını göstermektedir. Buna göre 9 disülfid bağı ve bunların oluşturduğu domainler (V1-5) görülmektedir.

ğunlaşmıştır. V3 epitopu 36 aminoasitten oluşmakta ve değişken bölgeyi temsil etmektedir. V3 epitopu en önemli nötraliz edici determinant olmakla beraber aynı zamanda B hücresi T yardımcı hücresi ve CD8-sitotoksik T hücresi epitoplarını da içermektedir. Özellikle V3 epitopu aşı çalışmaları için oldukça geniş araştırmalara konu olmaktadır.

Transmembran domaini olan gp41, glikozilasyon için 4 önemli bölge ve 3 sistein aminoasiti içermektedir.

gp41'in N terminal bölgesi 20 aminoasitten oluşan hidrofobik yapıya sahip bir özellik taşır. Özellikle bir kısım füzyon peptidi olarak bilinir ve virüsün hücre içerisine girişinde viral zarf ile konak hücre membranı arasında füzyon yapma özelliğine sahiptir. Diğer bir hidrofobik domain virion ve konak hücre membranının füzyon için iyice birleşmesini sağlamaktadır.

HIV-1 ve HIV-2 gp41 TM alt üniteleri arasında yakın bir homoloji mevcuttur ve aynı yapısal özellikleri taşırlar.

Diğer Viral Gen Ürünleri

HIV-1 virüsünün diğer genleri arasında *vif*, *vpr*, *vpu* ve *nef*, HIV-2'nin ise *vif*, *vpx* ve/veya *vpr* ve *nef* yer alır. Ayrıca transaktivatör genler olarak bilinen *tat* ve *rev* de mevcuttur. *vpr* ve *vpx* virion içerisine birleşmektedir. Bazı araştırmacılar *vif*, *vpu* ve *nef* i virion içerisinde saptamalarına rağmen çok az miktarlarda virion içerisinde yer aldıkları düşünülmektedir.

Hemen hemen bütün lentivirüsler *vif* genini kodlamaktadır. HIV-1, 193 aminoasitlik ORF bölgesinden sentez ettiği *vif* 23-27 k ağırlığındadır ve sitoplazmik membranda yer alır. Yapılan son çalışmalar bazı T hücre kültürlerinde *vif* geninin replikasyon için gerekli olduğunu ortaya koymuştur.

HIV-1 sadece *vpr* geni içermekle beraber HIV-2 hem *vpr* hem de *vpx* içermektedir. Yapılan aminoasit dizisi çalışmaları *vpr* ve *vpx*'in homolog olduklarını göstermektedir. *vpr* 15 kd ağırlığında bir virion proteindir. *vpr* geninde mutasyonu olan HIV-1 mutantları daha düşük titrelerde üremektedir.

İnfekte hücrelerde *vpr* sitoplazmik membran ve nükleusda lokalize olmakta ve olgun virüs partikülünde de nükleokapsidde yer almaktadır. *vpr*'nin viral ve hücresel gen ekspresyonunda düzenleyici rol oynadığı zannedilmektedir.

vpx 14-16 kd ağırlığında bir protein olup "rev-dependent" transkriptten infeksiyonun geç döneminde sentez edilmektedir. Olgun virionda *vpx* majör *gag* proteini olan CA ile eşit miktarda bulunmaktadır. HIV-2 virüsünün *vpx* mutantlarının, mutant olmayan virüsler gibi hücre kültürlerinde replike oldukları saptanmıştır. Yapılan floresan antikor çalışmaları *vpx*'in infekte hücre kültürlerinin plazma membran iç kısmında lokalize olduğunu göstermiştir. Yapılan diğer bazı çalışmalar özellikle T lenfositlerinde ve makrofajlarda replikasyon için *vpx* geninin gerekli olduğunu vurgulamaktadır.

vpu 16 kd ağırlığında 80 aminoasit içeren bir protein olup HIV-2 ve diğer lentivirüslerde bulunmamaktadır. *vpu*'nun N terminal bölgesindeki 27 aminoasitlik bölgesi hidrofobik, diğer kısmı hidrofilitiktir. *vpu*'nun integral bir membran proteini olduğunu göstermiştir. *vpu* geninde mutasyonu olan virüsler CD4+T hücrelerinde replike olmakla beraber bunların hücre dışına salınımı oldukça azalmaktadır.

HIV-1 *nef* gen ürünü 206 aminoasit içermektedir. *nef* 1. aminoasiti metionin ile başlamakta ve 2. aminoasit olgun virionda "glycine myristylated (G2Myr)" şeklinde yer almaktadır. *nef* in 15 ve 80. pozisyonlarında bulunan treoninler protein kinaz C tarafından fosforile edilmişlerdir. *nef* in amino terminal bölgesine yakın kısmı bazik aminoasitlerle zenginleştirilmiştir. *nef* in 55, 142 ve 206 pozisyonlarında bulunan sisteinler intramoleküler disülfid bağlarını oluşturmaktadır.

Ayrıca iki bölge asidik aminoasitlerden (aspartik ve glutamik asit) zenginleştirilmiştir. *nef* in fonksiyonları arasında virion infektivitesinin artırılması, T hücrelerinin aktivasyonu, CD4 sentezi kontrolü, hücre serin-kinaz ile ilişkisi gibi özellikler yer alır. Ayrıca *nef* in viral infektivitede önemli rol oynadığı gösterilmiştir.

HIV REPLİKASYONU

HIV'in replikasyon siklusu erken ve geç dönem olarak iki kısma ayrılır. Her dönemde viral nükleik asit ve proteinler konak hücre faktörleri ile ilişki halindedir. Virüs replikasyonunda virionun hücre reseptörlerine bağlanması ile erken dönem başlar ve provirüsün oluşumunu takiben hücre genomuna integre olması ile devam eder. HIV'in *env* gp'si hücre yüzeyindeki CD4 reseptörüne bağlandıktan sonra viral ve hücreli membranlar füzyon yolu ile kaynaşır. Bunun sonucunda nükleokapsid hücre sitoplazmasına bırakılır. Viral enzimler olan revers transkriptaz (ve Rnase H) ve integrase (IN), soyulmamış nükleokapsid içerisinde kalır. Revers transkripsiyon sonucunda linear çift iplikli DNA sentez edilerek konak hücre çekirdeğine taşınır. Bu linear DNA (provirüs) IN tarafından kovalan bağlarla konak hücre DNA'sına integre edilir.

Replikasyonun geç döneminde integre proviral DNA kalıp olarak kullanılarak transkripsiyon başlar ve viral m-RNA'lar ve progeni RNA sentez edilirler. Replikasyon progeni virionların hücreden olgunlaşması ile sonuçlanır. Provirüsde bulunan 5'LTR, RNA polimeraz II tarafından viral transkripsiyonun başlamasını kontrol eden hücreli faktörleri içeren "cis-acting" bölgesini kodlar. Provirüsde bulunan 3'LTR ise bütün viral transkriptlerin prosesi (poladenilasyon) için gerekli sinyalleri içermektedir.

Viral replikasyon kademelerini aşağıdaki şekilde sıralamak mümkündür:

1. Virüsün Hücre Reseptörüne Tutunması ve Adsorbsiyonu: HIV'in hücreye tutunması ve adsorbsiyonu virüsün *env* gp'sini gp120 ile T yardımcı lenfosit ve makrofajların yüzeyinde bulunan hücreli glikoprotein (55 kd) CD4 antijeni arasında meydana gelir. Hücre yüzeyinde bulunan glikoprotein CD4, hem virüsün hücreye bağlanmasına, hem de *env* gp'nin konformasyonel değişikliğe uğramasına ve böylece füzyon yolu ile virüsün hücre içerisine girmesine yardımcı olur. CD4 reseptörüne karşı olan

monoklonal antikorların virüsün hücreye tutunması ve adsorbsiyonuna mani olduğu gösterilmiştir. CD4 reseptörü immünglobulin süper gen ailesi içerisinde yer alır. Esas fonksiyonu antijen ve sınıf II MHC-bağımlı ilişki ile T hücre aktivasyonunun başlatılmasıdır.

2. Virüsün Hücre İçerisine Girişi: HIV-1'in konak hücre içerisine girişi pH'ya bağımlı bir olay olup, virüsün çoğalması için kullanılan T hücrelerinin amonyum klorid ile muamelesi infeksiyonu bloke etmektedir. Bu da virüsün hücre içerisine reseptör aracılığı ile oluşan endositozis ile girdiğini vurgulamaktadır.

Elektron mikroskopik çalışmalar virüs ile konak hücre arasında oluşan füzyon mekanizmasının girişte rol oynadığını göstermiştir. Ayrıca virüsün hücre içerisine girişte hücre yüzeyinde bulunan proteazında rolü vardır. Normalde *env* gp virion zarfında dimerik formdadır. Nonkovalan protein-protein ilişkisi gp120 ve gp41 arasında mevcuttur. Füzyon sırasında *env* gp'nin gp120 alt ünitesi CD4 reseptörüne bağlanır ve konak hücre plazma membranındaki proteaz tutunmadan sonra gp120'deki V3 loopunu tanıır. gp 120'de meydana gelen proteolitik parçalanmadan sonra *env* gp'de konformasyonel bir değişiklik oluşur. Bu değişiklik sonucunda gp41 füzyon proteininin N terminal bölgesi konak hücre membranı ile temasa geçer ve viral zarf ile hücre membranı arasında oluşan füzyon domaini birleşmeye neden olur.

3. Revers Transkripsiyonla Oluşan Viral DNA Sentezi: Revers transkriptaz (RT) henüz saptanamayan bir sinyal tarafından aktive edilmektedir. RT, DNA sentezini sitoplazmada genomik RNA templateine bağlı t-RNA lys primerinden başlatır. İlk DNA iplikçığı RT tarafından viral RNA genomun 5' bölgesine doğru sentez edilir (negatif iplik DNA). Bunu takiben p51/p66 heterodimerinde bulunan RNase H aktivitesi ile RNA:DNA hibridindeki RNA parçalanır. Pozitif iplikçik DNA'nın sentezi için HIV iki primer kullanmaktadır. Bunlardan birincisi 3' LTR bölgesindeki U3 domaininde bulunan polipürin track (PPT) diğeri ise *pol* geni sonunda yer alan santral PPT (cPPT)'dir. Pozitif iplik DNA sentezinden sonra çift iplikli DNA (provirus) sentezi tamamlanmış olur. Linear çift iplikli DNA, çembersel DNA haline (cDNA) dönüştürülür.

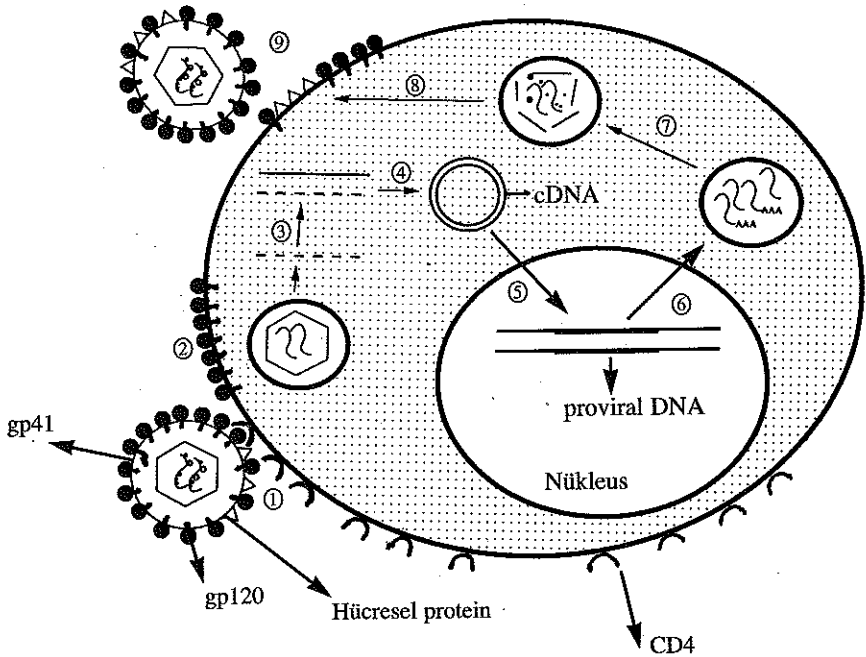
4. Viral DNA'nın İntegrasyonu: Proviral HIV-1 DNA'nın konak hücre genomuna integrasyonu için integrase (IN) enzimi gereklidir. HIV-1'in IN mutantları konak hücre genomuna integre olamazlar ve herhangi bir infeksiyöz virüs sentezi gerçekleşmez. Viral integrasyon için başlama noktası sitoplazmada viral nükleokapsid içinde bulunan linear çift iplikli DNA (provirus)'dir.

İntegrasyon kompleksinin çekirdek içerisine translokasyonu MA proteini ve/veya vpr tarafından gerçekleştirilir. HIV-1'in insan genomunda bulunan L1 ve alu tekrarlayan elementlerinin yanına integre olduğu saptanmıştır. DNA'nın kesilmesi ve integras tarafından integrasyon sonucunda proviral DNA kovalent bağlarla hücre genomuna bağlanır.

5. Viral m-RNA, Genomik RNA Transkripsiyonu ve Protein Sentezi: Viral m-RNA ve genomik RNA integre olmuş proviral DNA'dan sentez edilir. Viral m-RNA ve genomik RNA sentezinin miktarı HIV düzenleyici (regülatör) genleri olan *tat*, *rev*, *nef* ve *vpr* ekspresyonuna bağlıdır. Viral proteinler polisistronik ve parçalanmış m-RNA'lardan sentez edilirler. Viral RNA hücre membranına yakın bir bölgede kapsid içerisine paketlenir. *gag* ve *gag-pol* poliproteinleri hücre sitoplazmik membranında proteaz tarafından yüzeye birleştirilecek şekilde monte edilirler.

6. Tüm Virüs Partikülü Oluşumu, Tomurcuklanma ve Salınım: Özellikle *env* gp olan gp120 ve gp41 hücre membranına monte edildikten sonra tomurcuklanma işlemi başlar. Tomurcuklanma sırasında hücre yüzeyinde bulunan bazı konak hücre antijenleride viral zarfta yer alır. Bu son kademede viral *vif* gen ürününün önemli rol oynadığı saptanmıştır.

HIV'in konak hücredeki replikasyon kademeleri Şekil 6'da özetlenmiştir.



Şekil 6. HIV Replikasyon Siklusunu.

1 ile 5'nci kademelerde viral genom RNA ve DNA viral özyapı proteinleri ile beraber bulunurlar. Çift iplikli DNA (cDNA) kovalan veya nonkovalan bağlar içerebilir. Daha sonra viral DNA kromozoma integre olur. 1. Tutunma, adsorbsiyon ve füzyon 2. Kapsidin soyulması ve nükleokapsidin girişi 3. Revers transkripsiyon 4. cDNA sentezi 5. İntegrasyon 6. m-RNA ve genomik RNA sentezi 7. Translasyon 8. Özyapı oluşumu 9. Son olgunlaşma ve salınım.

KAYNAKLAR

1. Arthur LO, Bess JW, Sowder RC, Benveniste RE, Mann DL, Chermann J, Henderson LE. Cellular proteins bound to immunodeficiency viruses; implications for pathogenesis and vaccines. *Science* 1992;258:1935-8.
2. Barker E, Barnett SW. Human Immunodeficiency virus. *Manual of Clinical Microbiology* (Eds. Murray, et al). Sixth Ed. ASM Press, Washington DC 1995;1098-114.
3. Franke EK, Juan HEH, Bossolt KL, Goff SP, Luban J. Specificity and sequence requirements for interaction between various retroviral gag proteins. *J Virol* 1994;68:5300-5.
4. Gallo RC, Montagnier L. AIDS in 1988. *Sci Am* 1988;259:41-8.
5. Galder Blom HR. Assembly and morphology of HIV: potential effect of structure on viral function. *AIDS* 1991;5:617-38.
6. Karpel RL, Henderson LE, Oroszlans. Interactions of retroviral structural proteins with single-stranded nucleic acids. *J Biol Chem* 1987;262:4961-7.
7. Katz RA, Skalka AM. The retroviral enzymes. *Annu Rev Biochem* 1994;63:133-73.
8. Luciw PA. Human Immunodeficiency Viruses and their replication. *Fields Virology* (Eds BN Fields, et al.) Lippincott-Raven publishers, Philadelphia, 1881-1933.
9. Rabson AB, Martin MA. Molecular organization of the AIDS retrovirus. *Cell* 1985;40:477-80.
10. Schwartz S, Felber BK, Paviakis GN. Mechanism of translation of monocistronic and multicistronic human immunodeficiency virus type 1 m-RNAs. *Mol Cell Biol* 1992;12:207-19.
11. Stine GJ. *Acquired Immune Deficiency syndrome*. Prentice Hall. New Jersey, 1993.
12. Tanrıöver B, Tuncer S. Human Immunodeficiency virus and its genetics. *Tr J of Biology* 1997;21:505-17.
13. Tristen M, Marshallc, Karpas A, Patrik J, Hill F. Origin of vpx in lentiviruses. *Nature* 1990;347:341-2.
14. Whitcomb JM, Hughes SM. Retroviral reverse transcription and integration: progress and problems. *Annu Rev Cell Biol* 1992;8:275-306.
15. Varmus H. Retroviruses. *Science* 1988;259:41-8.