

Nadja Hartmann, geb. Grund  
Dr. sc. hum.

**Analyse lentiviraler Integrationsstellen nach alkylierender Chemotherapie in humanen hämatopoietischen Vorläuferzellen und die Auswirkungen des integrierten Virus auf die Expression flankierender Gene**

Geboren am 08.06.1982 in Speyer  
Diplom der Fachrichtung Biologie am 18.01.2006 an der Technischen Universität  
Kaiserslautern

Promotionsfach: Innere Medizin  
Doktorvater: Prof. Dr. med. S. Frühauf

Myelotoxizität ist eine der Hauptnebenwirkungen bei chemotherapeutischen Behandlungen von Tumoren, wodurch eine Dosisanpassung der verwendeten Chemotherapeutika notwendig wird. Durch den Transfer von Resistenzgenen in hämatopoietische Stamm- und Vorläuferzellen können diese geschützt und die applizierte Dosis der Chemotherapeutika gesteigert werden. Nach Insertionmutagenesen durch retrovirale Gentherapie bei mehreren Patienten der zwei X-SCID-Studien und der X-CGD-Studie wurden verstärkt Untersuchungen zur Ermittlung von Sicherheitsaspekten der retroviralen Gentherapie durchgeführt. In dieser Arbeit sollte untersucht werden, ob ein lentiviraler SIN-Vektor mit  $MGMT^{P140K}$  als Transgen in humanen CD34<sup>+</sup>-Zellen unter BCNU-Therapie den gestellten Sicherheitsanforderungen gerecht wird.

Im ersten Teil der Arbeit wurde untersucht, ob CD34<sup>+</sup>-Zellen mit individuellen Integrationsstellen durch die BCNU-Therapie selektiert werden und es dadurch zu einer Verschiebung des Integrationsmusters gegenüber einer unbehandelten Gruppe kommt. Hierfür wurden keine Anzeichen gefunden. In allen durchgeführten Analysen (Analyse der chromosomalen Verteilung, der getroffenen Gene/Tumorgene, der genomischen Elemente, der Verteilung einzelner Klone, der Expressions der getroffenen Gene) konnte kein signifikanter Unterschied in den Integrationsfrequenzen zwischen unbehandelten und BCNU-behandelten CD34<sup>+</sup>-Zellen gefunden werden.

Der zweite Teil der Arbeit befasste sich mit der Ermittlung des Potentials des viralen Vektors, die Expression getroffener bzw. flankierende Gene zu deregulieren. Diese Untersuchung wurde auf Einzelzellbasis mittels quantitativer Real-time-PCR durchgeführt. Es konnte festgestellt werden, dass keine der untersuchten Gene vektorinduziert dereguliert wurden.

Diese Ergebnisse erlauben die Schlussfolgerung, dass für künftige präklinische und klinische Studien zur Chemoprotektion von humanen CD34<sup>+</sup>-Zellen das hier verwendete Vektorsystem ein nützliches System darstellt, jedoch die Sicherheit in weiteren *In-vivo*-Studien unter Einbeziehung der Transplantation von genetisch modifizierten humanen Zellen ausführlich evaluiert werden muss.