

Alexander Wirzbach
Dr. sc. hum.

Untersuchungen zum Genexpressionsprofil humaner Monozyten sowie unreifer und reifer dendritischer Zellen

Geboren am 14.02.1974 in Hannover
Reifeprüfung am 17.06.1993
Studiengang der Fachrichtung Biologie vom WS 1993 bis WS 1998
Vordiplom am 22.09.1995 an der Universität Münster
Diplom am 13.11.1998 an der Universität Münster

Promotionsfach: Immunologie
Doktorvater: Prof. Dr. med. Michael. D. Kramer

In der vorliegenden Arbeit wurden zunächst mRNA Expressionsanalysen in Monozyten und daraus *in vitro* generierten unreifen (iDC) und reifen (mDC) dendritischen Zellen durchgeführt. Dazu wurden in *gene chip* Experimenten jeweils zwei Zellpopulationen miteinander verglichen. Für iDCs weisen die gewonnenen Daten auf eine hohe Konzentration von mRNAs hin, die für Aquaporine (AQP-1 und 7) und andere Membrankanäle kodieren. Dagegen zeigt sich in mDCs eine erhöhte Expression von Proteasom-Komponenten (P58, HC2 und 8) sowie Zytoskelettproteinen (z.B. schwere und leichte Ketten des Myosin, Tropomyosin). Gleichzeitig nimmt die mRNA Konzentration für α - und β -Aktin ab. In einem nächsten Schritt wurden die 20 am stärksten regulierten Gene aus jedem der drei *chip* Experimente zur Validierung ihrer Expressionsprofile per Echtzeit RT-PCR analysiert. Als Ergebnis konnten sechs neue potentielle Monozytenmarker (Endoglin, Glutamin-Synthetase, Superoxid Dismutase 2, alpha-1-Antitrypsin, Matrixmetalloproteinase Inhibitor 1 und ein lysosomales Membran Protein) identifiziert werden, die in DCs abreguliert sind. Desweiteren wurde ein erst seit kurzem bekannter mDC-Marker bestätigt (Fascin). Die Übereinstimmung zwischen *gene chip* und RT-PCR-Daten lag durchschnittlich bei 55 % (50 - 65 %), was im Rahmen der beschriebenen Fehlerquote für cDNA-chips liegt. Unter den per RT-PCR in ihrem differentiellen Expressionsmuster bestätigten Genen waren solche stark repräsentiert, deren Proteinen eine Funktion bei der (Ein-)Wanderung in die extrazelluläre Matrix beigemessen wird. So traf dies bei dem Vergleich von Monozyten und iDCs auf 20 %, beim Vergleich von iDCs und mDCs auf 10 % und im Monozyten:mDC-Ansatz auf 25 % der jeweils am stärksten regulierten Gene zu. Die überwiegende Mehrzahl der Gene war dabei in DCs abreguliert. Weiterhin wurde mittels Echtzeit RT-PCR untersucht, ob die *in vitro* gewonnenen Expressionsmuster mit der Expression *in vivo* korrelieren. Bei einem Vergleich von aus Depletionsansätzen gewonnenen Monozyten und *ex vivo* isolierten iDCs wiesen die Gene für Endoglin, die Superoxid Dismutase 2 und die Glutamin Synthetase eine zur *in vitro* Situation deutlich stärkere Expression in Monozyten auf. Zusätzlich konnte mit dem KIAA0435 ein in iDCs nur *in vivo* aufreguliertes Gen (Faktor > 30) identifiziert werden. Es weist eine starke Homologie zum murinen Pecanex Gen auf, für das bislang nur eine Funktion in der Neuronalentwicklung bei *Drosophila* beschrieben ist. Damit zeigte sich in insgesamt 4 von 21 Fällen (ca. 20 %) eine Diskrepanz zwischen *ex vivo* und *in vitro* Expressionsmustern. Für die untersuchten Proteine alpha-1-Antitrypsin, Endoglin und Matrixmetalloproteinase Inhibitor 1 konnten die mRNA Expressionsprofile bestätigt werden. ELISA bzw. FACS Messungen ergaben eine im Vergleich zu DCs deutlich höhere Proteinkonzentration in Monozyten. Zusammengefaßt erweitern die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit den gegenwärtigen Wissensstand zum Genexpressionsprofil von Monozyten, unreifen sowie reifen dendritischen Zellen. Durch die Ergänzung des zur Zeit verfügbaren Markerrepertoires bilden sie die Grundlage für deren Prüfung und Anwendung in experimentellen Zellvakzinierungsansätzen.