

Achim Richard Nestel  
Dr. med.

## **Transkriptionelle Kontrolle des CD28-Gens, ein ungewöhnlicher Funktionsverlust in CD28-negativen T-Zellen**

Geboren am 10.04.1971 in Frankfurt am Main

Reifeprüfung am 26.5.1990 in Ingelheim am Rhein

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1992 bis WS 1999

Physikum am 30.03.1994 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr in Heidelberg (Universitätsaugenklinik), Paris (Hôpital Necker), Edinburgh (RIE)

Staatsexamen am 30.11.1999 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. J. J. Goronzy

Altersabhängige Veränderungen in T-Zellpopulationen führen zu Fehlfunktionen des Immunsystems. Vorangegangene Studien lassen vermuten, dass ein ungewöhnlicher CD4+CD28<sup>null</sup>-Phänotyp (= CD28-negative T-Zelle) Ausdruck eines alternden oder chronisch-aktivierten Immunsystems ist und mit immunologischer Fehlfunktion im Sinne von Autoaggression einhergeht. CD28-Negativität zeigte sich hierbei als ein essentielles Merkmal der autoaggressiven T-Zellen. Die regulatorischen Funktionsabläufe der physiologischen Expression von CD28 sowie der Grund für CD28-Negativität waren bisher unbekannt. Ziel der vorliegenden Arbeit war es deshalb, die transkriptionelle Koordination des CD28-Gens und mögliche Ursachen für CD28-Negativität näher zu bestimmen.

Durch Reporter-gen-Tests der ersten 600 Basenpaare (bp) der 5' untranslatierten Region (5'UTR) des CD28-Gens wurde dem proximalen 400-bp-Fragment die Funktion des **Minimalpromotors** zugeordnet. Hierdurch wurden erstmals die minimalen strukturellen Voraussetzungen für die Transkription des CD28-Gens gefunden und definiert.

In den hier durchgeführten Transfektionen von CD28-negativen T-Zellen (= CD4+CD28<sup>null</sup>-Phänotyp) zeigte sich ein ungewöhnlicher **Funktionsverlust des gefundenen Minimalpromotors**. Hierdurch lieferte die vorliegende Arbeit erstmals Beweise dafür, dass eine transkriptionelle Blockade innerhalb der Promotorregion des CD28-Gens für CD28-Negativität mitverantwortlich sein muss.

Die Transfektionen unter Mitogenexposition zeigten, dass sich innerhalb des gefundenen Minimalpromotors cis-regulatorische Elemente befinden, die an der **Selbstrückkopplung** (*feedback-control*) des CD28-Gens beteiligt sind. Dieser Mechanismus erklärt die physiologische Herunterregulation des CD28-Gens nach Aktivierung (*activation induced down-regulation*).

Zur Durchführung der Experimente musste ein neuartiger Reporter-gen-Vektor aus Standardplasmiden hergestellt werden, anhand dessen sich Expressionsaktivitäten von Genen ohne Substratreaktion direkt flusszytometrisch bestimmen lassen. Weiterhin wurden strukturelle Erkenntnisse über das CD28-Gen gewonnen: Der CD28-Minimalpromotor befindet sich im menschlichen Genom auf einem etwa 2.5 kb langen *HindIII*-Fragment. Zudem wurden stromabwärts des ersten Exons bisher nicht beschriebene Restriktionsschnittstellen für *HindIII* und *BglII* entdeckt. Stromaufwärts des ersten Exons wurde je eine *ScaI*-, *BglII*- und *HindIII*-Schnittstelle gefunden. Diese strukturellen Informationen werden künftige Klonierungsversuche von Fragmenten der CD28-5'UTR erleichtern. Sie können auf diese Weise die Identifizierung der übrigen Komponenten, die in der Gen-Kontrollregion des CD28-Gens wirksam sind, beschleunigen.