

Roman Wirtz

Dr. med.

Pseudotypisierung des Felinen Foamy Virus

Geboren am 30.01.1979 in Berlin

Staatsexamen am 20.11.2006 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: DKFZ (Deutsches Krebsforschungszentrum)

Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. M. Löchelt

Thema dieser experimentellen Arbeit war die Pseudotypisierung des Felinen Foamy Virus durch das VSV-G-Protein bzw. durch chimäre Glykoproteine, die auf der Basis des VSV-G und des homologen FFV-Envelope Proteins konstruiert wurden.

Mit den hier vorgestellten Experimenten wurde zum ersten Mal eine Pseudotypisierung von Foamy Viren nachgewiesen, wobei das native VSV-G-Protein zur Transkomplementierung des FFV eingesetzt wurde. Dabei wurde für diese Pseudotypen sowohl die Freisetzung foamyviraler Kapside als auch die Transduktion einer Indikatorzelllinie mit dem Markergen experimentell bestätigt.

Weiterhin wurde gezeigt, dass die Transduktionseffizienz dieses Systems nicht durch Einsatz chimärer Proteine bei der Transkomplementierung erhöht werden kann. Die zu diesem Zweck konstruierten chimären Proteine umfassten, neben der vollständigen Sequenz von VSV-G, definierte Domänen von FFV-Env und beruhten auf aktuellen experimentellen Daten, die die Lokalisation der spezifischen Gag-Interaktionsstellen und die Furin-vermittelte Prozessierungsstelle des FFV-Env beinhalteten.

Durch Deletion des FFV-Bet Proteins wurde gezeigt, dass dieses Protein im vektoriiellen Kontext redundant ist, bzw. dass durch Inhibition der Bet-Expression sogar eine Steigerung der Transduktionstiter resultierte. Die Deletion dieses Proteins bei der Vektorkonstruktion erlaubt daher nicht nur die Applikation größerer DNA-Mengen, sondern auch einen effizienteren Gentransfer. Die bisher durch Pseudotypisierung von Foamy Viren erzielten Transduktionstiter sind jedoch, trotz der erfolgreichen Pseudotypisierung von FFV mit dem VSV-G-Oberflächenprotein, für eine gentherapeutische Anwendung von Foamy Viren bei weitem nicht ausreichend.

Abschließend lässt sich zusammenfassen, dass das hier vorgestellte Vektorsystem zwar nicht bis zur tierexperimentellen Anwendung weiterentwickelt werden konnte, jedoch wesentliche Erkenntnisse für die Etablierung Foamy Virus-basierter Vektoren gewonnen wurden.