

Manuel Barreto Miranda
Dr. med.

Der DNA Polymerase Genlocus des Cercopithecine Herpesvirus 1 ist eine ideale Zielstruktur für den raschen und spezifischen Nachweis einer Virusinfektion mittels PCR

Geboren am 03.08.1976 in Pforzheim
Staatsexamen am 04.12.2003 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Hygiene
Doktorvater: Prof. Dr. med. Gholamreza Darai

Herpesviren haben aufgrund ihrer weiten Verbreitung innerhalb der Wirbeltiere und wegen der großen Anzahl der von ihnen ausgelösten Krankheiten bei Mensch und Tier eine enorme Bedeutung. Von den über hundert Mitgliedern der Familie *Herpesviridae* hat neben den Humanen Herpesviren 1 bis 8 das *Cercopithecine Herpesvirus 1* (CeHV-1) eine besondere Bedeutung.

Es ist das einzige Herpesvirus, das nicht zu den Humanen Herpesviren gehört, aber für Menschen hochpathogen und für Krankheitsfälle verantwortlich ist, die mit hoher Wahrscheinlichkeit tödlich verlaufen. Das CeHV-1, das auch als B-virus oder monkey B-Virus oder Herpesvirus simiae bekannt ist, ist ein Mitglied der Unterfamilie der Alphaherpesvirinae. Sein natürlicher Wirt sind Affen der Gattung *Maccaca*. Da die Durchseuchung von in Gefangenschaft gehaltenen Affenpopulationen ca. 80% beträgt, stellt das Virus eine ständige Bedrohung für die Menschen dar, die häufig in Kontakt mit den Affen kommen. Bei Verdacht auf eine Virusübertragung ist eine schnelle und spezifische Diagnostik wichtig, um eine gezielte Therapie einleiten zu können. Im Rahmen der vorliegenden Dissertation sollte versucht werden, eine diagnostische Strategie zu entwickeln, mit der ein schneller und spezifischer Virusnachweis mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) möglich ist. Um mehr genetische Information über das CeHV-1 zu gewinnen wurde das DNA-Polymerase-Gen des Virus mit Hilfe einer PCR-Strategie amplifiziert, bei der Primer aus hochkonservierten Regionen des Gens eingesetzt wurden und die erhaltenen Amplifikate durch DNA-Sequenzierung analysiert. Die computergestützte Analyse der so gewonnenen Nukleotidsequenz und der daraus abgeleiteten Aminosäuresequenz zeigte eine hohe Homologie zu denen der Humanen Herpesviren 1 und 2. Die abgeleitete Aminosäuresequenz weist die Motive und Signaturen auf, die typisch für die B-Familie der DPOLs sind. Um herauszufinden, welche Regionen des Polymerasegens für die PCR am besten geeignet sind, wurde eine vergleichende Analyse der DNA Sequenzen der DPOL-Loci von CeHV-1 mit denen anderer Herpesviren durchgeführt. Ein zusätzlicher Vergleich wurde mit ausgewählten Abschnitten der Gene der Humanen Herpesviren 1 und 2 (HHV-1 und HHV-2) durchgeführt. Mit dieser Strategie wurden zwölf Bereiche identifiziert aus denen PCR Primer abgeleitet werden konnten. Diese Primer wurden in den verschiedenen Kombinationen in PCR Experimenten mit der DNA von CeHV-1, HHV-1 und HHV-2 eingesetzt, um die Primerkombinationen zu ermitteln, mit denen sich CeHV-1-Genom spezifisch nachweisen läßt. Es stellte sich heraus, dass sechs der zwölf Primerkombinationen in der Lage waren das CeHV-1 Genom ohne Kreuzreaktion mit dem Genom von HHV-1 und/oder HHV-2 zu detektieren. Die Spezifität der einzelnen amplifizierten DNA-Fragmente wurde durch DNA-Sequenzanalyse bestätigt. Die Ergebnisse dieser Experimente zeigen, dass das DNA-Polymerasegen eine ideale Zielstruktur für einen spezifische PCR-Nachweis des CeHV-1 ist. Damit stehen PCR-Primer für einen schnellen, präzisen und spezifischen Virusnachweis *in vivo* und *in vitro* zur Verfügung, der routinemäßig in allen Labors mit PCR-Einrichtungen genutzt werden kann.