

Frank Anton Giordano
Dr. med.

Neue Strategien zur Analyse retroviraler Integrationsstellen am Beispiel einer klinischen Suizidtherapiestudie

Geboren am 11.03.1980 in Speyer
Staatsexamen am 18.12.2007 an der Universität Heidelberg

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

Die mittels retroviraler Gentherapie erzielten Erfolge, insbesondere im Rahmen der Studien zur Korrektur des X-chromosomalen Immundefizienzsyndroms (SCID-X1), wurden von Nebenwirkungen überschattet. Durch die Integration eines Gentherapievektors in ein Onkogen wurde dieses überaktiviert, worauf bei drei Patienten eine akute Leukämie ausbrach. Das erstmalige Auftreten dieser so genannten *Insertionsmutagenese* in einer klinischen Studie erforderte, mehr über die Integrationsorte der Gentherapievektoren herauszufinden und diese so detailliert wie möglich zu charakterisieren.

In dieser Arbeit wurden retrovirale Integrationen in T-Lymphozyten aus einer klinischen Studie vor und nach Transplantation analysiert. Im Vergleich mit einem Set aus 1.431 Zufallsintegrationen konnte gezeigt werden, dass der retrovirale Vektor signifikant häufiger als erwartet auf Chromosom 19 integriert. 50 % aller Integrationen wurden in Genen gefunden, fast zweimal mehr als erwartet. Auch konnte eine signifikante Integrationspräferenz für Transkriptionsstarts von Genen und CpG-Inseln gezeigt werden. Mit Hilfe des neuen Programms *ExpressMiner* wurden Gene, in denen sich Integrationen fanden oder diesen benachbart waren, in funktionelle Gruppen eingeteilt. Hier konnte erstmals gezeigt werden, dass die vom Vektor getroffenen Gene sowohl vor- als auch nach Transplantation überzufällig häufig Signalkaskade-Proteine, Nukleinsäure-bindende Proteine (NBP) und Translations-Regulatoren kodieren. Die in dieser Arbeit vorgestellten Ergebnisse weisen darauf hin, dass es *in vivo* keine nennenswerten Selektionsprozesse bezüglich der Integrationsorte in T-Lymphozyten gibt. Dies könnte bedeuten, dass man zukünftig von *In-vitro*-Material vor Transplantation auf die *In-vivo*-Verteilung der Integrationen schließen könnte.

Unter Verwendung der Daten aus der klinischen Studie konnte diese Arbeit auch die Entwicklung und Validierung der Analyseprogramme *IntegrationSeq* und *IntegrationMap* zeigen. Beide Programme erlauben eine automatisierte Prozessierung von Gentherapievektor-Integrationen und zeigten im Vergleich mit konventioneller Analysemethoden eine höhere Sensitivität bei gleicher Spezifität. Somit sind zukünftig Hochdurchsatz-Analysen von viralen Integrationen und ein besseres Verständnis der viralen Integration möglich.