

5. Zusammenfassung

Das Lymphozytäre Choriomeningitisvirus (LCMV) infiziert ein sehr breites Spektrum von Zelllinien verschiedener Spezies über die Bindung seines Hüllproteins GP-1 an den Rezeptor alpha-Dystroglykan auf der Zelloberfläche. Die Hüllproteine von LCMV GP-1/-2 werden sehr effizient in die Virushülle vom murinen Leukämieviren (MLV) eingebaut. Es entstehen sogenannte MLV(LCMV GP)-Pseudotypen. Virale Vektoren, die sich von MLV ableiten, und ein LCMV GP Hüllprotein tragen haben mehrere Vorteile gegenüber herkömmlichen retroviralen Vektoren. Diese sind Stabilität, hohe Titer und keine Zelltoxizität für Verpackungslinien und Zielzellen.

In der vorliegenden Arbeit wurde der Zelltropismus dieser MLV(LCMV GP) Pseudotypen und des LCM Wildvirus sowie die Expression des LCMV-Rezeptors auf verschiedenen Zielzellen näher analysiert. Für die Gentherapie wichtige humane Zelltypen, wie T-Lymphozyten (Jurkat) und primäre CD34+ Stammzellen waren sowohl gegenüber der Infektion mit LCMV als auch für die Transduktion mit dem MLV(LCMV)-Pseudotyp resistent. Andere Zellen wie die humane hämatopoetische Vorläuferzelllinie K562 hatten eine mittlere Infizierbarkeit, während Fibroblasten und epitheliale Zellen hochgradig empfänglich für LCMV waren. Da die Infizierbarkeit der verschiedenen Zelllinien mit dem MLV (LCMV GP) Pseudotyp eng mit der Infizierbarkeit durch das LCM Wildvirus korrelierte, nahmen wir an, dass der Rezeptor vermittelte Eintritt in die Zielzelle ein limitierender Faktor in einigen Zellarten ist. Daher wurde die Expression des Rezeptors mittels Virus-Bindungsanalysen, Westernblot und RT-PCR auf den verschiedenen Zelllinien untersucht. Es konnte ein enger Zusammenhang zwischen der Infizierbarkeit der untersuchten Zelllinien und der Expression des Rezeptors gefunden werden. Für Jurkat konnte insbesondere gezeigt werden, dass auch die LCMV Rezeptor mRNA deutlich vermindert ist.

Das zweite Ziel der Promotion war die Klonierung des LCMV Rezeptors mittels Expressions-Klonierung in Jurkat-Zellen, die weitestgehend gegenüber der LCMV-Infektion resistent sind. Dieses gelang im ersten Versuch wegen dem hohen Hintergrund (0,05 % der Jurkat waren infizierbar) und dem niedrigen Titer der retroviralen cDNA Bank nicht. Da im Verlauf dieses Versuches der Rezeptor von LCMV von einer anderen Gruppe kloniert werden konnte, wurde dieser Ansatz nicht weiter verfolgt.