

Medizinische Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin

Campus Benjamin Franklin

aus dem Institut für Pathologie

Abteilungsleiter: Professor Dr. med. Harald Stein

**Analyse umgelagerter Immunglobulingene
in Epstein-Barr Virus infizierten B-Lymphozyten
der Infektiösen Mononukleose**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der
medizinischen Doktorwürde
der Charité – Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin

vorgelegt von

Elisabeth Hock

aus Hannover

Referent: Priv.-Doz. Dr. M. Hummel

Korreferent: Prof. Dr. C. Scheibenbogen

Gedruckt mit Genehmigung der Charité - Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin

Promoviert am: 23.06.2006

Für meine Schwester Charlotte Hock

02.03.1969 - 04.09.2003

MEDIZINISCHE FAKULTÄT DER CHARITÉ – UNIVERSITÄTSMEDIZIN
BERLIN..... 1

| | |
|---|-----------|
| 1. EINLEITUNG | 1 |
| 1.1. DIE B-ZELLENTWICKLUNG..... | 1 |
| 1.2. DIE INFEKTIOSE MONONUKLEOSE..... | 5 |
| 1.3. DAS EPSTEIN-BARR VIRUS..... | 6 |
| 1.3.1 DIE ENTDECKUNG DES EPSTEIN-BARR VIRUS..... | 6 |
| 1.3.2. MOLEKULARE EIGENSCHAFTEN DES EPSTEIN-BARR VIRUS | 6 |
| 1.3.2.1. MOLEKULARPATHOLOGISCHE MECHANISMEN WÄHREND DER PRIMÄRINFEKTION MIT DEM EPSTEIN-BARR VIRUS | 7 |
| 1.3.2.2. LATENTE VERSUS LYTISCHE INFEKTION | 8 |
| 1.3.3. IDENTIFIZIERUNG DER PRIMÄREN ZIELZELLE DES EPSTEIN-BARR VIRUS | 9 |
| 2. MATERIAL UND METHODEN | 12 |
| 2.1. GEWEBE | 12 |
| 2.2. IMMUNHISTOLOGIE..... | 12 |
| 2.2.1. PRINZIP | 12 |
| 2.2.2. DURCHFÜHRUNG DER EINFACHEN IMMUNHISTOLOGIE..... | 15 |
| 2.2.3. DOPPELFÄRBUNGEN | 16 |
| 2.2.4. FLUORESCENZ-DOPPELMARKIERUNG | 16 |
| 2.3. IN SITU-HYBRIDISIERUNG..... | 17 |
| 2.3.1. PRINZIP | 17 |
| 2.3.2. DURCHFÜHRUNG..... | 18 |
| 2.4. EINZELZELLANALYSE..... | 19 |
| 2.4.1. PRINZIP | 19 |
| 2.4.2. DURCHFÜHRUNG..... | 19 |
| 2.5. POLYMERASEKETTENREAKTION..... | 21 |
| 2.5.1. PRINZIP | 21 |
| 2.5.2. DURCHFÜHRUNG..... | 21 |
| 2.6. SEQUENZIERUNG | 23 |
| 2.7. SEQUENZAUSWERTUNG..... | 23 |
| 3. ERGEBNISSE | 26 |
| 3.1. DETEKTION EPSTEIN-BARR VIRUS INFIZIERTER ZELLEN..... | 26 |
| 3.2. ISOLIERUNG, AMPLIFIKATION UND SEQUENZIERUNG VON EPSTEIN-BARR VIRUS INFIZIERTEN EINZELZELLEN | 29 |
| 3.3. KONTROLLEN | 29 |
| 3.4. VH FAMILIENBENUTZUNG IN EPSTEIN-BARR VIRUS INFIZIERTEN B-ZELLEN | 31 |
| 3.5. SOMATISCHE MUTATIONEN IN EPSTEIN-BARR VIRUS INFIZIERTEN B-ZELLEN..... | 31 |
| 3.6. KODIERUNGSKAPAZITÄT UND ANTIGENSELEKTION IN EPSTEIN-BARR VIRUS INFIZIERTEN B-ZELLEN | 33 |
| 3.7. KLONALITÄT DER EINZELZELLEN..... | 35 |
| 4. DISKUSSION | 40 |
| 4.1. ISOLIERUNG UND AMPLIFIKATION DES IMMUNGLOBULINSCHWERKETTENGENS VON EPSTEIN- BARR VIRUS INFIZIERTEN ZELLEN IN DER INFEKTIOSEN MONONUKLEOSE | 41 |
| 4.2. IDENTIFIKATION VON EPSTEIN-BARR VIRUS POSITIVEN ZELLKLONEN..... | 41 |
| 4.3. NACHWEIS SOMATISCHER MUTATIONEN..... | 42 |
| 4.4. ANALYSE DER SOMATISCHEN MUTATIONEN UND DER ANTIGENSELEKTION:..... | 47 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 4.5. | KONKLUSION DER HIER ANGESTELLTEN UNTERSUCHUNGEN: | 50 |
| 5. | ZUSAMMENFASSUNG | 51 |
| 6. | QUELLENVERZEICHNIS | 52 |
| 7. | ANHANG | 58 |
| 7.1. | GERÄTE | 58 |
| 7.2. | LÖSUNGEN | 58 |
| 7.2.1 | REAGENZIEN FÜR DIE IMMUNHISTOLOGIE | 58 |
| 7.2.2. | REAGENZIEN FÜR DIE IN SITU-HYBRIDISIERUNG..... | 59 |
| 7.2.3. | REAGENZIEN FÜR DIE MIKROMANIPULATION, PCR UND SEQUENZIERUNG..... | 60 |
| 7.3. | ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS | 61 |
| 8. | DANKSAGUNG | 63 |
| 9. | LEBENS LAUF | 64 |