

**Einfluß des Humanen-Herpesvirus 6 (HHV-6) auf die
Humane Chimären-Hämatopoese im
Xeno-Transplantatmodell der NOD/SCID Maus**

Dissertationsschrift

zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

dem Fachbereich Chemie, Biologie und Pharmazie

der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Andreas Nitsche

geboren am 19.12.1966 in Berlin

Berlin, im Februar 2001

Tag der Disputation: 24. September 2001

Erster Gutachter: Prof. Dr. Burghardt Wittig

Zweiter Gutachter: Prof. Dr. Eberhard Riedel

Inhaltsverzeichnis

A.	Einleitung	1
I.	Viren.....	2
II.	Die Familie der <i>Herpesviridae</i>	3
III.	Das Humane Herpesvirus 6.....	4
III.1	Varianten	4
III.2	Aufbau der Viruspartikel.....	5
III.3	HHV-6 Effekte auf die Wirtszelle.....	8
III.4	Wechselwirkungen mit anderen Viren.....	8
III.5	Epidemiologie	8
III.6	Klinik und Pathogenese.....	9
III.7	Nachweis von HHV-6	11
III.8	Therapie.....	12
IV.	Die humane Hämatopoese	13
IV.1	Die hämatopoetische Stammzelle	13
V.	Aufgabenstellung	20
B.	Material und Methoden.....	22
I.	Arbeitsmethoden	22
I.1	Nabelschnurblut.....	22
I.2	Zellkultur	23
I.3	Kultivierung von HHV-6.....	25
I.4	Nukleinsäure-Techniken	27
I.5	HHV-6 Nachweismethoden	29
I.6	Versuche am NOD/SCID Mausmodell	37
I.7	Nachweis von Endothelzellen	42
II.	Chemikalien und Reagenzien.....	45
II.1	Puffer	45
II.2	Zellkultur	47
II.3	Sonstiges.....	48
II.4	Nukleinsäure-Techniken	49
II.5	Antikörper-Techniken	50
III.	Geräte und Materialien.....	53
III.1	Zellkultur	53
III.2	Nukleinsäure-Techniken	53
III.3	Antikörper-Techniken	53
C.	Ergebnisse und Auswertung	54
I.	Etablierung sensitiver HHV-6 Nachweisverfahren.....	54
I.1	Nachweis von HHV-6 Proteinen.....	54
I.2	Nachweis von HHV-6 Nukleinsäuren.....	62
II.	Infektiosität und Pathogenität von HHV-6 für die NOD/SCID Maus	66

II.1	Injektion von HHV-6 infizierten Zellen oder zellfreiem HHV-6.....	66
II.2	Versuch der Infektion von NOD/SCID Knochenmarkzellen <i>in vitro</i>	69
III.	Etablierung des Hämatopoese-Modells der NOD/SCID Maus.....	70
III.1	Transplantation von CB-MNC	70
III.2	Transplantation von CB-CD34 ⁺ Zellen.....	77
III.3	Quantitative Echt-Zeit PCR zum Nachweis humaner Zellen in der NOD/SCID Maus	85
IV.	Einfluß von HHV-6 auf die Bildung humaner Zellen in der NOD/SCID Maus.....	91
IV.1	Transplantation von CB-MNC nach Inkubation mit HHV-6.....	91
IV.2	Transplantation von CB-CD34 ⁺ Zellen nach Inkubation mit HHV-6.....	94
V.	Anzucht von Endothelzellen aus CB-CD34 ⁺ Zellen.....	101
V.1	Morphologische Charakterisierung	101
V.2	Immunocytochemische Charakterisierung.....	101
V.3	Nachweis von KDR, vWF und CD31 RNA mittels RT-PCR.....	103
V.4	Einfluß von HHV-6 auf die Endothelzellbildung <i>in vitro</i>	105
V.5	Nachweis von CD31, KDR und vWF RNA in chimären Mäusen	107
D.	Diskussion	109
I.	Etablierung sensitiver Nachweismethoden für HHV-6	109
I.1	Nachweis von HHV-6 Antigenen.....	109
I.2	Nachweis HHV-6 spezifischer Nukleinsäuren.....	111
II.	Infektiosität und Pathogenität von HHV-6 für die NOD/SCID Maus.....	113
III.	Etablierung des Hämatopoese-Modells der NOD/SCID Maus.....	114
III.1	Nachweis humaner Zellen in der NOD/SCID Maus	115
III.2	Transplantation von CB-MNC	116
III.3	Transplantation von CD34 ⁺ Zellen.....	117
III.4	Bildung nicht-hämatopoetischer Zellen in der NOD/SCID Maus	118
IV.	Einfluß von HHV-6 auf die Bildung humaner Zellen in der NOD/SCID Maus.....	119
IV.1	nach Transplantation von CB-MNC.....	119
IV.2	nach Transplantation von CD34 ⁺ Zellen	121
IV.3	Anmerkungen zum NOD/SCID Maus Modell.....	122
V.	Anzucht von Endothelzellen aus CB-CD34 ⁺ Zellen.....	123
E.	Zusammenfassung, Summary.....	124
F.	Literatur	128
G.	Lebenslauf.....	137

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische und elektronenmikroskopische Darstellung eines HHV-6A Virions.....	6
Abbildung 2: Pathogenese von HHV-6.....	9
Abbildung 3: Schematische Darstellung der humanen Hämatopoese.....	14
Abbildung 4: Immundefiziente Mäuse.....	18
Abbildung 5: Schematische Darstellung der Untersuchung des Einflusses von HHV-6 auf die Chimären-Hämatopoese in der NOD/SCID Maus.....	21
Abbildung 6: Prinzip der TaqMan Reaktion.....	33
Abbildung 7: cLSM Aufnahme HHV-6B infizierter CB-MNC nach IFA mit mAb H-AR-2.....	55
Abbildung 8: Profil der Fluoreszenzintensitäten nach IFA mit mAb H-AR-2.....	55
Abbildung 9: cLSM Aufnahmen HHV-6B infizierter CB-MNC nach IFA mit 8 verschiedenen mAb.....	56
Abbildung 10: Profile der Fluoreszenzintensitäten nach IFA mit den mAb H-AR-6, H-IG-20 und gp106.....	57
Abbildung 11: IFA Doppelfärbungen HHV-6B infizierter CB-MNC.....	59
Abbildung 12: APAAP Färbung HHV-6A infizierter HSB-2 Zellen mit mAb H-AR-2.....	59
Abbildung 13: Tyramid Färbung HHV-6A infizierter HSB-2 Zellen mit mAb H-AR-2.....	60
Abbildung 14: Doppelfärbung mit APAAP und TYR Färbung.....	60
Abbildung 15: Lokalisation von Primern und Exonuklease-Sonden zum Nachweis von HHV-6 DNA.....	62
Abbildung 16: Gelelektrophoretische Auftrennung der PCR Produkte der HHV-6 snPCR.....	63
Abbildung 17: Amplifikationskurven und Standardgeraden der HHV-6 TM-PCR.....	64
Abbildung 18: Gelelektrophorese der PCR Produkte der HHV-6 RT-PCR.....	65
Abbildung 19: Anteil HHV-6 DNA positiver Organe im zeitlichen Verlauf nach Injektion HHV-6 infizierter CB-MNC und nach Injektion HHV-6-haltiger Kulturüberstände.....	68
Abbildung 20: APAAP Färbung von Maus-Knochenmarkausstrichen.....	69
Abbildung 21: LTBMK einer NOD/SCID Maus 6d nach Inkubation mit HHV-6B.....	69
Abbildung 22: FACS Analyse von Knochenmark einer CB-MNC transplantierten NOD/SCID Maus.....	71
Abbildung 23: Multilinen-Hämatopoese in Knochenmark, Blut und Milz einer NOD/SCID Maus.....	72
Abbildung 24: POX Färbung von Knochenmarkzellen einer CB-MNC transplantierten NOD/SCID Maus.....	73
Abbildung 25: POX Färbung von Milz-Kryoschnitten einer CB-MNC transplantierten NOD/SCID Maus.....	74
Abbildung 26: POX Färbung von LTBMK einer CB-MNC transplantierten NOD/SCID Maus.....	75
Abbildung 27: Einfluß von hIL-3 und hG-CSF Ko-Transplantaten auf die Bildung humaner Zellen in CB-MNC transplantierten NOD/SCID Mäusen.....	76
Abbildung 28: Vergleich der Bildung humane Zellen im Knochenmark nach Transplantation von CB-MNC, CD34 ⁺ Zellen und Zellen des Durchlaufes der Säulenanreicherung.....	77
Abbildung 29: Einfluß von hIL-3 und hG-CSF nach Transplantation CD34 ⁺ Zellen.....	79
Abbildung 30: POX Färbung von Knochenmark nach Transplantation von CD34 ⁺ Zellen.....	80
Abbildung 31: Anteil humaner Zellen nach POX Färbung von LTBMK.....	81
Abbildung 32: Anteil humaner Zellen nach POX Färbung mit und ohne Passage.....	82
Abbildung 33: Sekundär-Transplantation von NOD/SCID Mäusen.....	83
Abbildung 34: Sekundär-Transplantation mit Rat-IL-3 und Rat-1 Ko-Transplantation.....	84

Abbildung 35: Schematische Darstellung der Primer und Exonuklease-Sonden des HUmu-Tests.....	85
Abbildung 36: Amplifikationskurven von HU-Test und mu-Test.....	86
Abbildung 37: Gelelektrophoretische Auftrennung der PCR Produkte des HUmu-Tests.....	87
Abbildung 38: Standardgeraden für die Quantifizierung humaner und muriner Zellen.....	88
Abbildung 39: Verlauf humaner Zellen im Blut nach Transplantation von CD34 ⁺ Zellen.....	89
Abbildung 40: Vergleich von FACS Analyse und HUmu-Test in Organen.....	90
Abbildung 41: CB-MNC initiierte Bildung humaner Zellen im KM nach Infektion mit HHV-6.....	92
Abbildung 42: CB-MNC initiierte Bildung humaner Zellen in verschiedenen Organen.....	93
Abbildung 43: Viruslast in Organen von NOD/SCID Mäusen nach Transplantation infizierter CB-MNC.....	93
Abbildung 44: Doppelfärbung von chimären Knochenmarkzellen nach Infektion mit HHV-6.....	94
Abbildung 45: CD34 ⁺ Zell initiierte Bildung humaner Zellen im KM der Maus nach Infektion mit HHV-6.....	95
Abbildung 46: CD34 ⁺ Zell initiierte Bildung humaner Zellen im KM der Maus nach Infektion mit HHV-6 12 Tage p.t.....	96
Abbildung 47: Vergleich des Einflusses von HHV-6 auf die CB-MNC und CD34 ⁺ initiierte Hämatopoese in der NOD/SCID Mäuse bei Infektion 3 Tage p.t.....	97
Abbildung 48: Vergleich verschiedener Mock-Infektionen.....	99
Abbildung 49: Anteil humaner Zellen im Knochenmark nach Inkubation mit inaktiviertem HHV-6.....	100
Abbildung 50: POX Färbung von CD34-LTC.....	102
Abbildung 51: Amplifikationskurven von RT-PCR Tests zum Nachweis von CD31, KDR und vWF.....	103
Abbildung 52: Standardgeraden für den quantitativen Nachweis von KDR-, CD31- und vWF-mRNA.....	104
Abbildung 53: IFA Doppelfärbungen von CD34 ⁺ -LTC nach Infektion mit HHV-6B.....	106
Abbildung 54: Quantifizierung von CD31, KDR und vWF RNA in CD34-LTC nach Infektion mit HHV-6.....	107
Abbildung 55: Quantitativer Nachweis von CD31, vWF und KDR mRNA in Knochenmark einer chimären NOD/SCID Maus.....	108

Verwendete Abkürzungen

% (v/v)	Volumenprozent
% (w/v)	Gewichtsprozent
AEC	Aminoethylcarbonat
AFU	antigen forming unit (<i>engl.</i> Antigen-bildende Einheit)
AG	Antigen
bo-TMR	BODIPY-Tetramethyl-Rhodamin
bp	Basenpaare
CB	cord blood (<i>engl.</i> Nabelschnurblut)
CB-MNC	CB-mononuclear cells (<i>engl.</i> Nabelschnurblut Mononukleäre Zellen)
CD	<i>engl.</i> Cluster of Differentiation
CD34-LTC	CD34-Long-Term-Culture (<i>engl.</i> CD34-Langzeit Kulturen)
HCMV	Humanes Cytomegalievirus
CFU	Colony Forming Unit (<i>engl.</i> koloniebildende Einheit)
BFUe	<i>engl.</i> Burst Forming Unit (erythroide Vorläuferzellen)
GEMM	Granulozyten-Erythrozyten-Monozyten-Makrophagen
GM	Granulozyten-Monozyten
cGy	centi-Gray
cLSM	confokales Laser Scanning Mikroskop
ConA	Concanavalin A
CPE	cytopathischer Effekt
C _T	threshold cycle (<i>engl.</i> Schwellenzyklus)
d	Tage(e)
DABCYL	(4-(4'-(Dimethylaminophenylazo)-Benzoessäure)
DAPI	4',6-diamidino-2-Phenylindol
DIC	Digital Interference Contrast (<i>engl.</i> Digitaler Interferenz Kontrast)
DL	Durchlauf
DMSO	Dimethylsulfoxid
dNTP	Desoxy-Nukleosidtriphosphat
ddNTP	Didesoxy-Nukleosidtriphosphat
dsDNA	doppelsträngige DNA
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EM	Elektronen-Mikroskopie
EPO	Erythropoetin
ExpF	Expansionsfaktor humaner Zellen
FACS	Fluorescence Activated Cell Sorting (<i>engl.</i> für Durchflußzytometrie)
FAM	6-Carboxyfluorescein
FITC	Fluoresceinisoithiocyanat
FKS	Fötales Kälberserum
FSC/SSC	Forward Scatter/Side Scatter (<i>engl.</i> Vorwärts-/Seitwärtsstreuung)
g	Erdbeschleunigung
ge	genome equivalents (<i>engl.</i> Genomäquivalente)
GvHD	Graft versus Host Disease (<i>engl.</i> Transplantat-gegen-Wirt Reaktion)
HBLV	Humanes B-Lymphotropes Virus
HEPES	N-2-Hydroxyethylpiperazin-N'-2'-ethansulfonsäure
hG-CSF	humaner Granulozyten-Colony Stimulierender Faktor
hGM-CSF	humaner Granulozyten-Monozyten- Colony Stimulierender Faktor
HHV	Humanes Herpesvirus
hIL-3	humanes Interleukin-3

HIV	Humanes Immundefizienz Virus
hSCF	human stem cell factor (<i>engl.</i> humaner Stammzell Faktor)
HUVEC	Human Umbilical Vein Endothelial Cells (<i>engl.</i> humane Nabelschnur Endothelzellen)
IDDM	Insulin Dependent Diabetes Mellitus (<i>engl.</i> Insulin abhängiger Diabetes Mellitus)
IFA	Immun-Fluoreszenz-Assay
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
i.v.	intravenös
J	Joule
kbp	Kilobasenpaare
kD	Kilodalton
KM	Knochenmark
KÜS	Kulturüberstand
LTBMC	Long-Term Bone Marrow Culture (<i>engl.</i> Langzeit Knochenmark Kultur)
LTC-IC	Long-Term Culture Initiating Cell (<i>engl.</i>)
mAb	monoklonaler Antikörper
MACS	Magnetic Activated Cell Sorting (<i>engl.</i>)
NHZ	nicht-hämatopoetische Zelle
NOD/SCID	Non-Obese-Diabetic/Severe Combined Immunodeficiency (<i>engl.</i>)
PB	Peripheres Blut
PB-MNC	Periphere Blut-mononukleäre Zellen
PBS	Phosphate buffered saline (<i>engl.</i> Phosphat gepufferte Salzlösung)
PCR	Polymerase Chain Reaction (<i>engl.</i> Polymerase Kettenreaktion)
PECAM	Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule, CD31 (<i>engl.</i>)
PHA	Phytohämagglutinin
PHSZ	Pluripotente Hämatopoetische Stammzelle
PMSF	Phenylmethylsulfonsäurefluorid
POX	Peroxidase Reaktion
Prkdc	protein kinase DNA activated catalytic polypeptide (<i>engl.</i>)
p.t.	post transplantationem
RCA	Rezeptor der Komplement-Aktivierung
RT	Raumtemperatur
RT-Reaktion	Reverse Transkriptions-Reaktion
ROX	Carboxy-X-Rhodamine
sekNOD/SCID	sekundär-transplantierte NOD/SCID Maus
SRC	SCID Repopulating Cell (<i>engl.</i> SCID repopulierende Zelle)
TAMRA	5-Carboxy-Tetramethyl-Rhodamin
TBS	Tris buffered saline (<i>engl.</i> Tris gepufferte Salzlösung)
TCID ₅₀	Tissue Culture Infectious Dose ₅₀ (<i>engl.</i>)
TCR	T-Cell Receptor (<i>engl.</i> T-Zell Rezeptor)
TET	Tetrachloro-6-carboxyfluorescein
TNF- α	Tumor Nekrosefaktor- α
UV	Ultraviolettes Licht
VCA	Virus Capsid Antigen (<i>engl.</i> Virus Kapsid Antigen)
VEGF-2R	Vascular Endothelial Growth Factor 2-Rezeptor (<i>engl.</i>)
vWF	von Willebrand Faktor
X-Gal	5-Brom-4-Chlor-3-Indolyl- β -D-galactopyranosid

E. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß von HHV-6 auf die humane Hämatopoese in einem *in vivo* Modell untersucht. Zuerst wurden verschiedene sensitive und spezifische Nachweisverfahren für HHV-6 etabliert. Diese Nachweisverfahren beinhalteten den Nachweis von HHV-6 Proteinen mit monoklonalen Antikörpern, sowie HHV-6 DNA und HHV-6 RNA mit der PCR. Desweiteren wurde ein Echt-Zeit PCR Test zum quantitativen Nachweis von HHV-6 DNA etabliert. Die in dieser Arbeit entwickelten HHV-6 Nachweisverfahren wurden bereits in klinischen Studien evaluiert.

Als Modell zur Untersuchung der humanen Hämatopoese wurde das Xenotransplantat-Modell der NOD/SCID Maus optimiert. Dazu mußte zuerst untersucht werden, ob HHV-6 pathogen für die NOD/SCID Maus ist. Nach Injektion von HHV-6 traten weder Veränderungen des Blutbildes, noch pathologische Veränderungen der Organe auf. Eine anhaltenden Infektion der Mäuse konnte weder auf der Basis des HHV-6 DNA Nachweises, noch des Antigen Nachweises beobachtet werden. Auch *in vitro* war eine Infektion muriner Zellen mit HHV-6 nicht möglich. HHV-6 repliziert dementsprechend nicht in Zellen der NOD/SCID Maus.

Zur Untersuchung eines HHV-6 Einflusses auf die Chimären-Hämatopoese wurde das NOD/SCID Maus Modell bezüglich einer hohen Ausbeute humaner Zellen optimiert. Nach Transplantation von CB-MNC oder CB-CD34⁺ Zellen kam es zur Bildung einer humanen Multiliniien-Hämatopoese in der NOD/SCID Maus. Die Supplementierung mit humanem IL-3 war bei Transplantation von CB-CD34⁺ Zellen mit zunehmendem Reinheitsgrad der Zellen essentieller und führte auch nach Transplantation von CB-MNC zu einer leicht erhöhten Bildung humaner Zellen und einer vermehrten Bildung myeloider Zellen gegenüber lymphoiden Vorläuferzellen. In einigen Versuchen konnten 80%-90% humane Zellen im Knochenmark der Mäuse detektiert werden. Mit Hilfe von LTBMK und Sekundär-Transplantationen konnte gezeigt werden, daß hIL-3 nicht nur zu einer erhöhten Proliferation der Zellen führt, sondern darüber hinaus das repopulierende Potential von PHSZ reduziert. PHSZ aus dem Knochenmark von Mäusen ohne hIL-3 Supplementierung hatten ein deutlich höheres repopulierendes Potential in sekundär-transplantierten Mäusen und LTBMK als hämatopoetische Stammzellen aus dem Knochenmark von Mäusen mit hIL-3 Supplementierung.

Neben der Bildung humaner hämatopoetischer Zellen konnte nach Transplantation von hoch gereinigten CD34⁺ Zellen die Bildung humaner nicht-hämatopoetischer

Zellen beobachtet werden. Offensichtlich enthält die Fraktion der CB-CD34⁺ Zellen auch Vorläuferzellen für Endothel- und Stromazellen. Die Produktion dieser Zellen wurde durch hIL-3 nicht beeinflusst.

Die Infektion von CB-MNC mit HHV-6A resultierte in einer deutlich reduzierten Bildung humaner Zellen, unabhängig davon, ob die Zellen vor oder bereits nach der Transplantation infiziert wurden. Dabei war die Multilinien-Hämatopoese und die Bildung nicht-hämatopoetischer Zellen im Verhältnis zur Menge humaner Zellen nicht beeinträchtigt. HHV-6B hatte keinen Einfluß.

Bei Infektion von CD34⁺ Zellen vor der Transplantation konnte keine reduzierte Bildung humaner Zellen beobachtet werden. Auch bei einer Infektion 3 Tage nach der Transplantation kam es zu keiner reduzierten Produktion humaner Zellen. Erst bei Infektion 12 Tage nach Transplantation zeigte sich der gleiche Effekt für HHV-6A, wie nach Transplantation von CB-MNC. HHV-6B hatte keinen Einfluß.

Offensichtlich sind das "Homing" und die Bildung humaner Zellen aus CD34⁺ Zellen weder direkt noch indirekt durch HHV-6 beeinflusst. HHV-6A susceptible Zellen müssen erst in der Maus gebildet werden. Bei Transplantation von CB-MNC werden diese bereits mit transplantiert.

In einem *in vitro* Ansatz wurde der Einfluß von HHV-6 auf die Differenzierung von CD34⁺ Zellen zu Endothel- und Stromazellen gezeigt. Die HHV-6 Infektion führte zu einem schlechten Auswachsen der Kulturen und damit auch zu einer verminderten Bildung von Endothel- und Stromazellen. Ein spezifischer Effekt auf die Bildung dieser Zellen konnte nicht beobachtet werden. Mit zu diesem Zweck etablierten quantitativen RT-PCR Tests konnte HHV-6B Infektion die reduzierte Transkription der KDR und vWF Gene gezeigt werden. HHV-6A hatte keinen Einfluß.

SUMMARY

Herpesvirus infections are common in childhood and lead to latency in the host. During immunosuppression, for example bone marrow transplantation, reactivation of human herpesvirus 6 (HHV-6) may cause bone marrow failure and may consequently cause the death of the patient. In the present thesis an *in vivo* model of human hematopoiesis, the NOD/SCID mouse, was applied to investigate the influence of HHV-6 on the repopulation and differentiation potential of hematopoietic pluripotent stem cells.

First, sensitive detection assays for HHV-6A and HHV-6B were developed. These assays include the detection of HHV-6 specific proteins using monoclonal antibodies and the amplification of HHV-6 DNA and RNA by PCR. Moreover, a quantitative real-time PCR assay was developed to determine HHV-6 DNA load. These assays were finally evaluated in clinical studies.

To ensure the validity of the mouse model, it had to be demonstrated, that HHV-6 is not pathogenic for NOD/SCID mice. After infection of cell free HHV-6 or HHV-6 infected cord blood mononuclear cells (CB-MNC), no pathological changes or variation in the blood cell count could be observed when compared to control mice. Neither a persistent nor a latent infection could be shown by antigen or DNA detection. Finally, the infection of murine cells *in vitro* was ineffective. These data suggest, that HHV-6 does not replicate in murine cells and is therefore not pathogenic for NOD/SCID mice.

The NOD/SCID mouse model was optimized to obtain maximal engraftment of human cells. The transplantation of CB-MNC or CB-CD34⁺ cells resulted in multi-lineage hematopoiesis in the mouse bone marrow, blood and organs. The supplementation of human IL-3 lead to increased engraftment and production of myeloid cells compared to lymphoid cells. IL-3 supplementation was essential after CD34⁺-cell transplantation. Under optimal conditions engraftment rates of up to 90% of human cells in mouse bone marrow could be obtained. Using long-term bone marrow cultures and repeated transplantations, it could be demonstrated that, in addition to the proliferative effect of IL-3, the repopulating potential of stem cells was reduced. In the absence of IL-3, the stem cells remained in a quiescent state and proliferation could only be induced by stimuli like secondary transplantation or cell passage.

In addition to the production of hematopoietic cells, non-hematopoietic (NHC) cells could be detected in the bone marrow of CD34⁺-cell transplanted mice. Obviously, precursor NHC cells with stromal characteristics were present in the CD34⁺-cell fraction. The formation of NHC was not affected by IL-3 supplementation.

Infection of CB-MNC with HHV-6A resulted in a reduced engraftment. This effect was observed even when infection was performed 12 days post-transplantation. The formation of a multi-lineage hematopoiesis remained unchanged, no single cell type was suppressed by the infection. This reduced engraftment was shown to be coupled to virus replication, since inactivated virus had no effect. However, HHV-6B had no effect on the engraftment.

In CD34⁺-cell transplantation experiments, no effect could be observed with HHV-6A and HHV-6B when infection was performed before or on the first days after transplantation. Only when infection was done at day 12 post-transplantation, was an effect observed as with CB-MNC transplantation..

To investigate whether the formation of NHC can be influenced by HHV-6 *in vitro*, culture conditions were developed to differentiate CD34⁺-cells into NHC. The presence of HHV-6B lead to a decreased growth of NHC in general. Using quantitative real-time RT-PCR assays for endothelial cell-related genes, a reduced expression of the VEGF-2 receptor gene (KDR) and the von Willebrandt factor gene could be shown. HHV-6A had no effect in this setting.

The results presented here lead to the following hypothesis: The homing and engraftment of CD34⁺-cells is not influenced by HHV-6. HHV-6A susceptible cells have to be generated in the mouse by differentiation. Those HHV-6 susceptible cells are already present in the CB-MNC cell population. In these cells HHV-6 can survive and replicate affecting stem cell proliferation.

F. Literatur

1. Asano,Y., Yoshikawa,T., Suga,S., Kobayashi,I., Nakashima,T., Yazaki,T., Kajita,Y., and Ozaki,T. (1994). Clinical features of infants with primary human herpesvirus 6 infection (exanthem subitum, roseola infantum). *Pediatrics* 93, 104-108.
2. Asosingh,K., Renmans,W., Van der,G.K., Foulon,W., Schots,R., Van,R., I, and De Waele,M. (1998). Circulating CD34+ cells in cord blood and mobilized blood have a different profile of adhesion molecules than bone marrow CD34+ cells. *Eur. J. Haematol.* 60, 153-160.
3. Bethge,W., Beck,R., Jahn,G., Mundinger,P., Kanz,L., and Einsele,H. (1999). Successful treatment of human herpesvirus-6 encephalitis after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 24, 1245-1248.
4. Black,J.B., Lopez,C., and Pellett,P.E. (1992). Induction of host cell protein synthesis by human herpesvirus 6. *Virus Res.* 22, 13-23.
5. Blalock,W.L., Weinstein,O.C., Chang,F., Hoyle,P.E., Wang,X.Y., Algate,P.A., Franklin,R.A., Oberhaus,S.M., Steelman,L.S., and McCubrey,J.A. (1999). Signal transduction, cell cycle regulatory, and anti-apoptotic pathways regulated by IL-3 in hematopoietic cells: possible sites for intervention with anti-neoplastic drugs. *Leukemia* 13, 1109-1166.
6. Bosma,M.J. and Carroll,A.M. (1991). The SCID mouse mutant: definition, characterization, and potential uses. *Annu. Rev. Immunol.* 9, 323-350.
7. Brandis,H., Köhler,W., Eggers,H.J., and Pulverer,G. (1994). *Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie*. (Jena, New York: Gustav Fischer Verlag Stuttgart).
8. Braun,D.K., Dominguez,G., and Pellett,P.E. (1997). Human herpesvirus 6. *Clin. Microbiol. Rev.* 10, 521-567.
9. Broxmeyer,H.E. (1995). Questions to be answered regarding umbilical cord blood hematopoietic stem and progenitor cells and their use in-transplantation [see comments]. *Transfusion* 35, 694-702.
10. Burd,E.M., Knox,K.K., and Carrigan,D.R. (1993). Human herpesvirus-6-associated suppression of growth factor-induced macrophage maturation in human bone marrow cultures. *Blood* 81, 1645-1650.
11. Campadelli,F.G., Mirandola,P., and Menotti,L. (1999). Human herpesvirus 6: An emerging pathogen. *Emerg. Infect. Dis.* 5, 353-366.
12. Carrigan,D.R. and Knox,K.K. (1994). Human herpesvirus 6 (HHV-6) isolation from bone marrow: HHV-6-associated bone marrow suppression in bone marrow transplant patients [see comments]. *Blood* 84, 3307-3310.
13. Carrigan,D.R. and Knox,K.K. (1995). Bone marrow suppression by human herpesvirus-6: comparison of the A and B variants of the virus [letter; comment]. *Blood* 86, 835-836.
14. Cashman,J., Bockhold,K., Hogge,D.E., Eaves,A.C., and Eaves,C.J. (1997b). Sustained proliferation, multi-lineage differentiation and maintenance of primitive human haemopoietic cells in NOD/SCID mice transplanted with human cord blood. *Br. J. Haematol.* 98, 1026-1036.
15. Cashman,J.D., Lapidot,T., Wang,J.C., Doedens,M., Shultz,L.D., Lansdorp,P., Dick,J.E., and Eaves,C.J. (1997a). Kinetic evidence of the regeneration of multilineage hematopoiesis from primitive cells in normal human bone marrow transplanted into immunodeficient mice. *Blood* 89, 4307-4316.
16. Chiu,S.S., Cheung,C.Y., Tse,C.Y., and Peiris,M. (1998). Early diagnosis of primary human herpesvirus 6 infection in childhood: serology, polymerase chain reaction, and virus load. *J. Infect. Dis.* 178, 1250-1256.
17. Christianson,S.W., Greiner,D.L., Hesselton,R.A., Leif,J.H., Wagar,E.J., Schweitzer,I.B., Rajan,T.V., Gott,B., Roopenian,D.C., and Shultz,L.D. (1997). Enhanced human CD4+ T cell engraftment in beta2-microglobulin-deficient NOD-scid mice. *J. Immunol.* 158, 3578-3586.

18. Cirone,M., Campadelli,F.G., Foa,T.L., Torrisi,M.R., and Faggioni,A. (1994). Human herpesvirus 6 envelope glycoproteins B and H-L complex are undetectable on the plasma membrane of infected lymphocytes. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 10, 175-179.
19. Cirone,M., Zompetta,C., Angeloni,A., Ablashi,D.V., Salahuddin,S.Z., Pavan,A., Torrisi,M.R., Frati,L., and Faggioni,A. (1992). Infection by human herpesvirus 6 (HHV-6) of human lymphoid T cells occurs through an endocytic pathway. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 8, 2031-2037.
20. Clark,D.A., Ait,K.M., Wheeler,A.C., Kidd,I.M., McLaughlin,J.E., Johnson,M.A., Griffiths,P.D., and Emery,V.C. (1996). Quantification of human herpesvirus 6 in immunocompetent persons and post-mortem tissues from AIDS patients by PCR. *J. Gen. Virol.* 77, 2271-2275.
21. Cohen,S.B., Perez,C., I, Fallen,P., Gluckman,E., and Madrigal,J.A. (1999). Analysis of the cytokine production by cord and adult blood. *Hum. Immunol.* 60, 331-336.
22. Cone,R.W., Huang,M.L., Ashley,R., and Corey,L. (1994). Human herpesvirus 6 DNA in peripheral blood cells and saliva from immunocompetent individuals. *J. Clin. Microbiol.* 32, 2633.
23. Cone,R.W., Huang,M.L., Corey,L., Zeh,J., Ashley,R., and Bowden,R. (1999). Human herpesvirus 6 infections after bone marrow transplantation: clinical and virologic manifestations. *J. Infect. Dis.* 179, 311-318.
24. Cone,R.W., Huang,M.L., Hackman,R.C., and Corey,L. (1996). Coinfection with human herpesvirus 6 variants A and B in lung tissue. *J. Clin. Microbiol.* 34, 877-881.
25. Daibata,M. and Miyoshi,I. (1999). Presence of human herpesvirus 6 DNA in cord blood cells [letter]. *J. Infect. Dis.* 179, 1046-1047.
26. David,S., Boiron,J.M., Dupouy,M., Rice,A., Vianes,I., Duperray,V., and Reiffers,J. (1997). Expansion of blood CD34+ cells: committed precursor expansion does not affect immature hematopoietic progenitors. *J. Hematother.* 6, 151-158.
27. De Bruyn,C., Delforge,A., Lagneaux,L., and Bron,D. (2000). Characterization of CD34+ subsets derived from bone marrow, umbilical cord blood and mobilized peripheral blood after stem cell factor and interleukin 3 stimulation. *Bone Marrow Transplant.* 25, 377-383.
28. de Wynter,E.A., Buck,D., Hart,C., Heywood,R., Coutinho,L.H., Clayton,A., Rafferty,J.A., Burt,D., Guenechea,G., Bueren,J.A., Gagen,D., Fairbairn,L.J., Lord,B.I., and Testa,N.G. (1998). CD34+AC133+ cells isolated from cord blood are highly enriched in long-term culture-initiating cells, NOD/SCID-repopulating cells and dendritic cell progenitors. *Stem Cells* 16, 387-396.
29. de Wynter,E.A., Coutinho,L.H., Pei,X., Marsh,J.C., Hows,J., Luft,T., and Testa,N.G. (1995). Comparison of purity and enrichment of CD34+ cells from bone marrow, umbilical cord and peripheral blood (primed for apheresis) using five separation systems. *Stem Cells Dayt* 13, 524-532.
30. Di Luca,D., Katsafanas,G., Schirmer,E.C., Balachandran,N., and Frenkel,N. (1990). The replication of viral and cellular DNA in human herpesvirus 6-infected cells. *Virology* 175, 199-210.
31. Di Luca,D., Mirandola,P., Ravaioli,T., Bigoni,B., and Cassai,E. (1996). Distribution of HHV-6 variants in human tissues. *Infect. Agents Dis.* 5, 203-214.
32. Di Luca,D., Mirandola,P., Ravaioli,T., Dolcetti,R., Frigatti,A., Bovenzi,P., Sighinolfi,L., Monini,P., and Cassai,E. (1995). Human herpesviruses 6 and 7 in salivary glands and shedding in saliva of healthy and human immunodeficiency virus positive individuals. *J. Med. Virol.* 45, 462-468.
33. Dominguez,G., Dambaugh,T.R., Stamey,F.R., Dewhurst,S., Inoue,N., and Pellett,P.E. (1999). Human herpesvirus 6B genome sequence: coding content and comparison with human herpesvirus 6A. *J. Virol.* 73, 8040-8052.

34. Drobyski,W.R., Dunne,W.M., Burd,E.M., Knox,K.K., Ash,R.C., Horowitz,M.M., Flomenberg,N., and Carrigan,D.R. (1993). Human herpesvirus-6 (HHV-6) infection in allogeneic bone marrow transplant recipients: evidence of a marrow-suppressive role for HHV-6 in vivo. *J. Infect. Dis.* 167, 735-739.
35. Ehlers,B., Borchers,K., Grund,C., Frolich,K., Ludwig,H., and Buhk,H.J. (1999). Detection of new DNA polymerase genes of known and potentially novel herpesviruses by PCR with degenerate and deoxyinosine-substituted primers. *Virus Genes* 18, 211-220.
36. Fairfax,M.R., Schacker,T., Cone,R.W., Collier,A.C., and Corey,L. (1994). Human herpesvirus 6 DNA in blood cells of human immunodeficiency virus-infected men: correlation of high levels with high CD4 cell counts. *J. Infect. Dis.* 169, 1342-1345.
37. Fields,B.N., Knife,D.M., and Howell,P.M. (1996). Virology. In *Fields Virology*, B.N.Fields, D.M.Knife, and P.M.Howell, eds. (Philadelphia: Lippincott-Raven).
38. Flamand,L., Gosselin,J., D'Addario,M., Hiscott,J., Ablashi,D.V., Gallo,R.C., and Menezes,J. (1991). Human herpesvirus 6 induces interleukin-1 beta and tumor necrosis factor alpha, but not interleukin-6, in peripheral blood mononuclear cell cultures. *J. Virol.* 65, 5105-5110.
39. Flamand,L., Gosselin,J., Stefanescu,I., Ablashi,D., and Menezes,J. (1995). Immunosuppressive effect of human herpesvirus 6 on T-cell functions: suppression of interleukin-2 synthesis and cell proliferation [published erratum appears in *Blood* 1995 Jul 1;86(1):418]. *Blood* 85, 1263-1271.
40. Flamand,L., Stefanescu,I., and Menezes,J. (1996). Human herpesvirus-6 enhances natural killer cell cytotoxicity via IL-15. *J. Clin. Invest* 97, 1373-1381.
41. Frenkel,N., Katsafanas,G.C., Wyatt,L.S., Yoshikawa,T., and Asano,Y. (1994). Bone marrow transplant recipients harbor the B variant of human herpesvirus 6. *Bone Marrow Transplant.* 14, 839-843.
42. Frenkel,N., Roffman,E., Schirmer,E.C., Katsafanas,G., Wyatt,L.S., and June,C.H. (1990). Cellular and growth-factor requirements for the replication of human herpesvirus 6 in primary lymphocyte cultures. *Adv. Exp. Med. Biol.* 278, 1-8.
43. Fulop,G.M. and Phillips,R.A. (1990). The scid mutation in mice causes a general defect in DNA repair. *Nature* 347, 479-482.
44. Gluckman,E., Rocha,V., and Chastang,C. (1998). Cord blood banking and transplant in Europe. *Eurocord. Vox Sang.* 74 Suppl 2, 95-101.
45. Goan,S.R., Fichtner,I., Just,U., Karawajew,L., Schultze,W., Krause,K.P., von Harsdorf,S., von Schilling,C., and Herrmann,F. (1995). The severe combined immunodeficient-human peripheral blood stem cell (SCID-huPBSC) mouse: a xenotransplant model for huPBSC-initiated hematopoiesis. *Blood* 86, 89-100.
46. Goan,S.R., Schwarz,K., von Harsdorf,S., von Schilling,C., Fichtner,I., Junghahn,I., Just,U., and Herrmann,F. (1996). Fibroblasts retrovirally transfected with the human IL-3 gene initiate and sustain multilineage human hematopoiesis in SCID mice: comparison of CD34-enriched vs CD34-enriched and in vitro expanded grafts. *Bone Marrow Transplant.* 18, 513-519.
47. Gobbi,A., Stoddart,C.A., Malnati,M.S., Locatelli,G., Santoro,F., Abbey,N.W., Bare,C., Linquist,S., V, Moreno,M.B., Herndier,B.G., Lusso,P., and McCune,J.M. (1999). Human herpesvirus 6 (HHV-6) causes severe thymocyte depletion in SCID-hu Thy/Liv mice. *J. Exp. Med.* 189, 1953-1960.
48. Gompels,U.A., Nicholas,J., Lawrence,G., Jones,M., Thomson,B.J., Martin,M.E., Efstathiou,S., Craxton,M., and Macaulay,H.A. (1995). The DNA sequence of human herpesvirus-6: structure, coding content, and genome evolution. *Virology* 209, 29-51.
49. Goodell,M.A. (1999). Introduction: Focus on hematology. CD34(+) or CD34(-): does it really matter? [comment]. *Blood* 94, 2545-2547.
50. Gothot,A., van der Loo,J.C., Clapp,D.W., and Srour,E.F. (1998). Cell cycle-related changes in repopulating capacity of human mobilized peripheral blood CD34(+) cells in non-obese diabetic/severe combined immune-deficient mice. *Blood* 92, 2641-2649.

51. Greiner,D.L., Hesselton,R.A., and Shultz,L.D. (1998). SCID mouse models of human stem cell engraftment. *Stem Cells* 16, 166-177.
52. Harnett,G.B., Farr,T.J., Pietroboni,G.R., and Bucens,M.R. (1990). Frequent shedding of human herpesvirus 6 in saliva. *J. Med. Virol.* 30, 128-130.
53. Hebart,H., Muller,C., Loffler,J., Jahn,G., and Einsele,H. (1996). Monitoring of CMV infection: a comparison of PCR from whole blood, plasma-PCR, pp65-antigenemia and virus culture in patients after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 17, 861-868.
54. Heid,C.A., Stevens,J., Livak,K.J., and Williams,P.M. (1996). Real time quantitative PCR. *Genome Res.* 6, 986-994.
55. Herzenberg,L.A. and De Rosa,S.C. (2000). Monoclonal antibodies and the FACS: complementary tools for immunobiology and medicine [In Process Citation]. *Immunol. Today* 21, 383-390.
56. Holyoake,T.L., Nicolini,F.E., and Eaves,C.J. (1999). Functional differences between transplantable human hematopoietic stem cells from fetal liver, cord blood, and adult marrow. *Exp. Hematol.* 27, 1418-1427.
57. Ibelgauff, H. COPE Dictionary. Internet URL: <http://copewithcytokines.de> [4].
58. Isegawa,Y., Mukai,T., Nakano,K., Kagawa,M., Chen,J., Mori,Y., Sunagawa,T., Kawanishi,K., Sashihara,J., Hata,A., Zou,P., Kosuge,H., and Yamanishi,K. (1999). Comparison of the complete DNA sequences of human herpesvirus 6 variants A and B. *J. Virol.* 73, 8053-8063.
59. Isomura,H., Yamada,M., Yoshida,M., Tanaka,H., Kitamura,T., Oda,M., Nii,S., and Seino,Y. (1997). Suppressive effects of human herpesvirus 6 on in vitro colony formation of hematopoietic progenitor cells. *J. Med. Virol.* 52, 406-412.
60. Kadakia,M.P., Rybka,W.B., Stewart,J.A., Patton,J.L., Stamey,F.R., Elsayy,M., Pellett,P.E., and Armstrong,J.A. (1996). Human herpesvirus 6: infection and disease following autologous and allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 87, 5341-5354.
61. Kamel,R.S. and Dick,J.E. (1988). Engraftment of immune-deficient mice with human hematopoietic stem cells. *Science* 242, 1706-1709.
62. Kikuta,H., Nakane,A., Lu,H., Taguchi,Y., Minagawa,T., and Matsumoto,S. (1990). Interferon induction by human herpesvirus 6 in human mononuclear cells. *J. Infect. Dis.* 162, 35-38.
63. Knox,K.K. and Carrigan,D.R. (1992). In vitro suppression of bone marrow progenitor cell differentiation by human herpesvirus 6 infection. *J. Infect. Dis.* 165, 925-929.
64. Kollet,O., Peled,A., Byk,T., Ben Hur,H., Greiner,D., Shultz,L., and Lapidot,T. (2000). beta2 microglobulin-deficient (B2m(null)) NOD/SCID mice are excellent recipients for studying human stem cell function. *Blood* 95, 3102-3105.
65. Kreuzer,K.A., Lass,U., Landt,O., Nitsche,A., Laser,J., Ellerbrok,H., Pauli,G., Huhn,D., and Schmidt,C.A. (1999). Highly sensitive and specific fluorescence reverse transcription-PCR assay for the pseudogene-free detection of beta-actin transcripts as quantitative reference. *Clin. Chem.* 45, 297-300.
66. Lagneaux,L., Delforge,A., Snoeck,R., Bosmans,E., Schols,D., De Clereq,E., Stryckmans,P., and Bron,D. (1996). Imbalance in production of cytokines by bone marrow stromal cells following cytomegalovirus infection. *J. Infect. Dis.* 174, 913-919.
67. Lapidot,T., Pflumio,F., Doedens,M., Murdoch,B., Williams,D.E., and Dick,J.E. (1992). Cytokine stimulation of multilineage hematopoiesis from immature human cells engrafted in SCID mice. *Science* 255, 1137-1141.
68. Larochelle,A., Vormoor,J., Hanenberg,H., Wang,J.C., Bhatia,M., Lapidot,T., Moritz,T., Murdoch,B., Xiao,X.L., Kato,I., Williams,D.A., and Dick,J.E. (1996). Identification of primitive human hematopoietic cells capable of repopulating NOD/SCID mouse bone marrow: implications for gene therapy. *Nat. Med.* 2, 1329-1337.
69. Lopez,C. (1993). Human Herpesvirus 6 and 7. B.Roizman, R.J.Whitley, and C.Lopez, eds. (New York: Raven Press).

70. Löffler,F. and Frosch,P. (1998). Berichte der Commission zur Erforschung der Maul- und Klauenseuche bei dem Institut für Infektionskrankheiten in Berlin. Cbl. Bakt. I. Abt. 23, 371-398.
71. Luppi,M., Barozzi,P., Morris,C., Maiorana,A., Garber,R., Bonacorsi,G., Donelli,A., Marasca,R., Tabilio,A., and Torelli,G. (1999). Human herpesvirus 6 latently infects early bone marrow progenitors in vivo. J. Virol. 73, 754-759.
72. Luppi,M., Marasca,R., Barozzi,P., Ferrari,S., Ceccherini,N.L., Batoni,G., Merelli,E., and Torelli,G. (1993). Three cases of human herpesvirus-6 latent infection: integration of viral genome in peripheral blood mononuclear cell DNA. J. Med. Virol. 40, 44-52.
73. Lusso,P., De Maria,A., Malnati,M., Lori,F., DeRocco,S.E., Baseler,M., and Gallo,R.C. (1991a). Induction of CD4 and susceptibility to HIV-1 infection in human CD8+ T lymphocytes by human herpesvirus 6. Nature 349, 533-535.
74. Lusso,P., Malnati,M., De Maria,A., Balotta,C., DeRocco,S.E., Markham,P.D., and Gallo,R.C. (1991b). Productive infection of CD4+ and CD8+ mature human T cell populations and clones by human herpesvirus 6. Transcriptional down-regulation of CD3. J. Immunol. 147, 685-691.
75. Lusso,P., Markham,P.D., DeRocco,S.E., and Gallo,R.C. (1990). In vitro susceptibility of T lymphocytes from chimpanzees (Pan troglodytes) to human herpesvirus 6 (HHV-6): a potential animal model to study the interaction between HHV-6 and human immunodeficiency virus type 1 in vivo. J. Virol. 64, 2751-2758.
76. Lusso,P., Secchiero,P., and Crowley,R.W. (1994). In vitro susceptibility of Macaca nemestrina to human herpesvirus 6: a potential animal model of coinfection with primate immunodeficiency viruses. AIDS Res. Hum. Retroviruses 10, 181-187.
77. Mackay, I. M. Virology Down Under. URL: <http://www.uq.edu.au/vdu/>
78. Mayani,H. and Lansdorp,P.M. (1998). Biology of human umbilical cord blood-derived hematopoietic stem/progenitor cells. Stem Cells 16, 153-165.
79. Mayer,A., Podlech,J., Kurz,S., Steffens,H.P., Maiberger,S., Thalmeier,K., Angele,P., Dreher,L., and Reddehase,M.J. (1997). Bone marrow failure by cytomegalovirus is associated with an in vivo deficiency in the expression of essential stromal hemopoietin genes. J. Virol. 71, 4589-4598.
80. McBride,B., Deniis,M., and Farrar,G.H. (1999). SCID mice in biomedical research. PHLS Microbiology Digest.
81. McCune,J.M., Namikawa,R., Kaneshima,H., Shultz,L.D., Lieberman,M., and Weissman,I.L. (1988). The SCID-hu mouse: murine model for the analysis of human hematolymphoid differentiation and function. Science 241, 1632-1639.
82. McNiece,I.K., Stewart,F.M., Deacon,D.M., Temeles,D.S., Zsebo,K.M., Clark,S.C., and Quesenberry,P.J. (1989). Detection of a human CFC with a high proliferative potential. Blood 74, 609-612.
83. Möbest,D., Goan,S.R., Junghahn,I., Winkler,J., Fichtner,I., Hermann,M., Becker,M., de Lima,H.E., and Henschler,R. (1999). Differential kinetics of primitive hematopoietic cells assayed in vitro and in vivo during serum-free suspension culture of CD34+ blood progenitor cells. Stem Cells 17, 152-161.
84. Modrow,S. and Falke,D. (1997). Molekulare Virologie. (Heidelberg: Spektrum Verlag).
85. Murphy,F.A., Fauquet,C.M., Bishop,D.H.L., Ghabrial,S.A., Jarvis,A.W., Martelli,G.P., Mayo,M.A., and Summers,M.D. (1995). Sixth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV)- Classification and Nomenclature of Viruses., Spriner Verlag, ed. (Wien, New York).
86. Nieda,M., Nicol,A., Denning,K.P., Sweetenham,J., Bradley,B., and Hows,J. (1997). Endothelial cell precursors are normal components of human umbilical cord blood. Br. J. Haematol. 98, 775-777.

87. Nitsche,A., Becker,M., Junghahn,I., Aumann,J., Landt,O., Fichtner,I., Wittig,B., and Siegert,W. (2000c). Quantification Of Human Stem Cell Engraftment In NOD/SCID Mice By Duplex Real-time PCR. *Hematologica* (eingereicht)
88. Nitsche,A., Luka,J., Schmidt,C.A., Mackay,I.M., and Siegert,W. (2000a). Detection of human herpesvirus 6 (HHV-6) antigens in peripheral blood leukocytes of patients undergoing bone marrow transplantation. (Manuskript in Präparation)
89. Nitsche,A., Müller,C.W., Radonic,A., Landt,O., Ellerbrok,H., Pauli,G., and Siegert,W. (2000b). Human Herpesvirus 6A DNA is frequently detected in plasma but only rarely in peripheral blood leukocytes of patients after bone marrow transplantation. *J. Infect. Dis.*(angenommen)
90. Nolta,J.A., Hanley,M.B., and Kohn,D.B. (1994). Sustained human hematopoiesis in immunodeficient mice by cotransplantation of marrow stroma expressing human interleukin-3: analysis of gene transduction of long-lived progenitors. *Blood* 83, 3041-3051.
91. Ogawa,M. (1993). Differentiation and proliferation of hematopoietic stem cells. *Blood* 81, 2844-2853.
92. Ohyashiki,J.H., Abe,K., Ojima,T., Wang,P., Zhou,C.F., Suzuki,A., Ohyashiki,K., and Yamamoto,K. (1999). Quantification of human herpesvirus 6 in healthy volunteers and patients with lymphoproliferative disorders by PCR-ELISA. *Leuk. Res.* 23, 625-630.
93. Osioy,C., Prud'homme,I., Monette,M., and Zou,S. (1998). Detection of human herpesvirus 6 DNA in serum by a microplate PCR-hybridization assay. *J. Clin. Microbiol.* 36, 68-72.
94. Peled,A., Petit,I., Kollet,O., Magid,M., Ponomaryov,T., Byk,T., Nagler,A., Ben Hur,H., Many,A., Shultz,L., Lider,O., Alon,R., Zipori,D., and Lapidot,T. (1999). Dependence of human stem cell engraftment and repopulation of NOD/SCID mice on CXCR4. *Science* 283, 845-848.
95. Pflumio,F., Izac,B., Katz,A., Shultz,L.D., Vainchenker,W., and Coulombel,L. (1996). Phenotype and function of human hematopoietic cells engrafting immune-deficient CB17-severe combined immunodeficiency mice and nonobese diabetic-severe combined immunodeficiency mice after transplantation of human cord blood mononuclear cells. *Blood* 88, 3731-3740.
96. Piacibello,W., Sanavio,F., Severino,A., Dane,A., Gammaitoni,L., Fagioli,F., Perissinotto,E., Cavalloni,G., Kollet,O., Lapidot,T., and Aglietta,M. (1999). Engraftment in nonobese diabetic severe combined immunodeficient mice of human CD34(+) cord blood cells after ex vivo expansion: evidence for the amplification and self-renewal of repopulating stem cells. *Blood* 93, 3736-3749.
97. Rafii,S. (2000). Circulating endothelial precursors: mystery, reality, and promise [comment]. *J. Clin. Invest* 105, 17-19.
98. Robert,C., Aubin,J.T., Visse,B., Fillet,A.M., Huraux,J.M., and Agut,H. (1996). Difference in permissiveness of human fibroblast cells to variants A and B of human herpesvirus-6. *Res. Virol.* 147, 219-225.
99. Roizman,B. (1996). Herpesviridae. In *Fields Virology*, B.N.Fields, D.M.Knife, and P.M.Howell, eds. (Philadelphia: Lippincott-Raven), pp. 2221-2230.
100. Rosenfeld,C.S., Rybka,W.B., Weinbaum,D., Carrigan,D.R., Knox,K.K., Andrews,D.F., and Shadduck,R.K. (1995). Late graft failure due to dual bone marrow infection with variants A and B of human herpesvirus-6. *Exp. Hematol.* 23, 626-629.
101. Ruggieri,L., Heimfeld,S., and Broxmeyer,H.E. (1994). Cytokine-dependent ex vivo expansion of early subsets of CD34+ cord blood myeloid progenitors is enhanced by cord blood plasma, but expansion of the more mature subsets of progenitors is favored. *Blood Cells* 20, 436-454.
102. Sakabe,H., Yahata,N., Kimura,T., Zeng,Z.Z., Minamiguchi,H., Kaneko,H., Mori,K.J., Ohyashiki,K., Ohyashiki,J.H., Toyama,K., Abe,T., and Sonoda,Y. (1998). Human cord blood-derived primitive progenitors are enriched in CD34+c-kit- cells: correlation between long-term culture-initiating cells and telomerase expression. *Leukemia* 12, 728-734.

103. Salahuddin,S.Z., Ablashi,D.V., Markham,P.D., Josephs,S.F., Sturzenegger,S., Kaplan,M., Halligan,G., Biberfeld,P., Wong,S.F., Kramarsky,B., and et,a. (1986). Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders. *Science* 234, 596-601.
104. Santoro,F., Kennedy,P.E., Locatelli,G., Malnati,M.S., Berger,E.A., and Lusso,P. (1999). CD46 Is a Cellular Receptor for Human Herpesvirus 6. *Cell* 99, 817-827.
105. Sato,T., Laver,J.H., and Ogawa,M. (1999). Reversible expression of CD34 by murine hematopoietic stem cells [see comments]. *Blood* 94, 2548-2554.
106. Sautois,B., Fillet,G., and Beguin,Y. (1997). Comparative cytokine production by in vitro stimulated mononucleated cells from cord blood and adult blood. *Exp. Hematol.* 25, 103-108.
107. Schmidt,C.A., Oettle,H., Wilborn,F., Jessen,J., Timm,H., Schwerdtfeger,R., Oertel,J., and Siegert,W. (1994). Demonstration of cytomegalovirus after bone marrow transplantation by polymerase chain reaction, virus culture and antigen detection in buffy coat leukocytes. *Bone Marrow Transplant.* 13, 71-75.
108. Secchiero,P., Carrigan,D.R., Asano,Y., Benedetti,L., Crowley,R.W., Komaroff,A.L., Gallo,R.C., and Lusso,P. (1995). Detection of human herpesvirus 6 in plasma of children with primary infection and immunosuppressed patients by polymerase chain reaction. *J. Infect. Dis.* 171, 273-280.
109. Seya,T. (1995). Human regulator of complement activation (RCA) gene family proteins and their relationship to microbial infection. *Microbiol. Immunol.* 39, 295-305.
110. Shi,Q., Rafii,S., Wu,M.H., Wijelath,E.S., Yu,C., Ishida,A., Fujita,Y., Kothari,S., Mohle,R., Sauvage,L.R., Moore,M.A., Storb,R.F., and Hammond,W.P. (1998). Evidence for circulating bone marrow-derived endothelial cells. *Blood* 92, 362-367.
111. Shultz,L.D., Schweitzer,P.A., Christianson,S.W., Gott,B., Schweitzer,I.B., Tennent,B., McKenna,S., Mobraaten,L., Rajan,T.V., Greiner,D.L., and et,a. (1995). Multiple defects in innate and adaptive immunologic function in NOD/LtSz-scid mice. *J. Immunol.* 154, 180-191.
112. Siczekowski,L., Chandran,B., and Wood,C. (1995). The human immunodeficiency virus tat gene enhances replication of human herpesvirus-6. *Virology* 211, 544-553.
113. Singh,N. and Carrigan,D.R. (1996). Human herpesvirus-6 in transplantation: an emerging pathogen. *Ann. Intern. Med.* 124, 1065-1071.
114. Sloots,T.P., Kapeleris,J.P., Mackay,I.M., Batham,M., and Devine,P.L. (1996). Evaluation of a commercial enzyme-linked immunosorbent assay for detection of serum immunoglobulin G response to human herpesvirus 6. *J. Clin. Microbiol.* 34, 675-679.
115. Steffens,H.P., Podlech,J., Kurz,S., Angele,P., Dreis,D., and Reddehase,M.J. (1998). Cytomegalovirus inhibits the engraftment of donor bone marrow cells by downregulation of hemopoietin gene expression in recipient stroma. *J. Virol.* 72, 5006-5015.
116. Suga,S., Yoshikawa,T., Asano,Y., Kozawa,T., Nakashima,T., Kobayashi,I., Yazaki,T., Yamamoto,H., Kajita,Y., Ozaki,T., and et,a. (1993). Clinical and virological analyses of 21 infants with exanthem subitum (roseola infantum) and central nervous system complications. *Ann. Neurol.* 33, 597-603.
117. Sutherland,H.J., Eaves,C.J., Eaves,A.C., Dragowska,W., and Lansdorp,P.M. (1989). Characterization and partial purification of human marrow cells capable of initiating long-term hematopoiesis in vitro. *Blood* 74, 1563-1570.
118. Torelli,G., Barozzi,P., Marasca,R., Cocconcelli,P., Merelli,E., Ceccherini,N.L., Ferrari,S., and Luppi,M. (1995). Targeted integration of human herpesvirus 6 in the p arm of chromosome 17 of human peripheral blood mononuclear cells in vivo. *J. Med. Virol.* 46, 178-188.
119. Torrisi,M.R., Gentile,M., Cardinali,G., Cirone,M., Zompetta,C., Lotti,L.V., Frati,L., and Faggioni,A. (1999). Intracellular transport and maturation pathway of human herpesvirus 6. *Virology* 257, 460-471.
120. Tsujimura,A., Shida,K., Kitamura,M., Nomura,M., Takeda,J., Tanaka,H., Matsumoto,M., Matsumiya,K., Okuyama,A., Nishimune,Y., Okabe,M., and Seya,T. (1998). Molecular cloning

- of a murine homologue of membrane cofactor protein (CD46): preferential expression in testicular germ cells. *Biochem. J.* 330, 163-168.
121. van der Loo, J.C., Hanenberg, H., Cooper, R.J., Luo, F.Y., Lazaridis, E.N., and Williams, D.A. (1998). Nonobese diabetic/severe combined immunodeficiency (NOD/SCID) mouse as a model system to study the engraftment and mobilization of human peripheral blood stem cells. *Blood* 92, 2556-2570.
122. van Kuppeveld, F.J., Johansson, K.E., Galama, J.M., Kissing, J., Bolske, G., van der Logt, J.T., and Melchers, W.J. (1994). Detection of mycoplasma contamination in cell cultures by a mycoplasma group-specific PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 149-152.
123. Vormoor, J., Lapidot, T., Pflumio, F., Risdon, G., Patterson, B., Broxmeyer, H.E., and Dick, J.E. (1994). Immature human cord blood progenitors engraft and proliferate to high levels in severe combined immunodeficient mice. *Blood* 83, 2489-2497.
124. Wang, J.C., Doedens, M., and Dick, J.E. (1997). Primitive human hematopoietic cells are enriched in cord blood compared with adult bone marrow or mobilized peripheral blood as measured by the quantitative in vivo SCID-repopulating cell assay. *Blood* 89, 3919-3924.
125. Wilborn, F., Brinkmann, V., Schmidt, C.A., Neipel, F., Gelderblom, H., and Siegert, W. (1994b). Herpesvirus type 6 in patients undergoing bone marrow transplantation: serologic features and detection by polymerase chain reaction. *Blood* 83, 3052-3058.
126. Wilborn, F., Schmidt, C.A., Brinkmann, V., Jendroska, K., Oettle, H., and Siegert, W. (1994a). A potential role for human herpesvirus type 6 in nervous system disease. *J. Neuroimmunol.* 49, 213-214.
127. Wu, C.A. and Shanley, J.D. (1998). Chronic infection of human umbilical vein endothelial cells by human herpesvirus-6. *J. Gen. Virol.* 79, 1247-1256.
128. Wyatt, L.S., Balachandran, N., and Frenkel, N. (1990). Variations in the replication and antigenic properties of human herpesvirus 6 strains. *J. Infect. Dis.* 162, 852-857.
129. Yamada, K., Nonaka, K., Hanafusa, T., Miyazaki, A., Toyoshima, H., and Tarui, S. (1982). Preventive and therapeutic effects of large-dose nicotinamide injections on diabetes associated with insulinitis. An observation in nonobese diabetic (NOD) mice. *Diabetes* 31, 749-753.
130. Yasukawa, M., Hasegawa, A., Sakai, I., Ohminami, H., Arai, J., Kaneko, S., Yakushijin, Y., Maeyama, K., Nakashima, H., Arakaki, R., and Fujita, S. (1999a). Down-regulation of CXCR4 by human herpesvirus 6 (HHV-6) and HHV-7. *J. Immunol.* 162, 5417-5422.
131. Yasukawa, M., Ohminami, H., Sada, E., Yakushijin, Y., Kaneko, M., Yanagisawa, K., Kohno, H., Bando, S., and Fujita, S. (1999b). Latent infection and reactivation of human herpesvirus 6 in two novel myeloid cell lines. *Blood* 93, 991-999.
132. Yin, A.H., Miraglia, S., Zanjani, E.D., Almeida, P.G., Ogawa, M., Leary, A.G., Olweus, J., Kearney, J., and Buck, D.W. (1997). AC133, a novel marker for human hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood* 90, 5002-5012.
133. Yoshida, M., Yamada, M., Chatterjee, S., Lakeman, F., Nii, S., and Whitley, R.J. (1996). A method for detection of HHV-6 antigens and its use for evaluating antiviral drugs. *J. Virol. Methods* 58, 137-143.

An dieser Stelle danke ich

.....Herrn Prof. Burghardt Wittig für die Betreuung dieser Arbeit und dafür, daß er sie vor dem Fachbereich Chemie, Biologie und Pharmazie der Freien Universität Berlin vertritt.

.....Herrn Prof. Eberhard Riedel für die Begutachtung dieser Arbeit.

.....Herrn Prof. Wolfgang Siegert, in dessen Labor ich die Arbeit anfertigen konnte. Durch die Freude, die ihm die Forschung bereitet, bin ich auch in schlechten Zeiten immer sehr motiviert worden. Außerdem danke ich ihm für das Vertrauen, das er bei der Betreuung seiner Doktoranden in mich gesetzt hat.

.....Frau Dr. Sylvia Goan, Frau Dr. Ilse Junghahn und Frau Jutta Aumann, die mich in das Mausmodell und dessen Analytik eingewiesen haben. Ohne sie wäre diese Arbeit nicht durchführbar gewesen.

.....Frau Dr. Iduna Fichtner für die Unterstützung in allen Fragen bezüglich der NOD/SCID Maus, sowie

.....Frau Margit Lemm und Frau Marion Becker, für die Haltung der Mäuse.

.....Dr. Heinz Ellerbrok für die Einführung in die Echt-Zeit PCR und Dr. Hans Gelderblom sowie Prof. Georg Pauli für eine immer offene Tür bei virologischen Fragestellungen.

.....den Hebammen des St. Joseph-Krankenhauses Berlin für die freundliche Hilfe bei der Sammlung des Nabelschnurblutes.

.....Manuel Schmidt für die nette Zusammenarbeit.

.....Ian Mackay, ich hatte eine lehrreiche und aufregende Zeit in seinem Labor.

.....den Kollegen Nina Steuer, Jessika Fleischmann, Theresa Clauss, Christian Müller, Ron Philipps und Kai Klima für die angenehme Labor-Atmosphäre und die immer mal nötige helfende Hand.

.....Dr. Stefan Biel für den lebenden Beweis dafür, daß Arbeit und Freundschaft nicht nur zusammen funktionieren, sondern richtig Spaß machen können.

.....meinen Kollegen Delia Barz und Aleksandar Radoniæ dafür, daß sie mir so oft den Rücken freigehalten haben, damit ich mich " um meinen Kram " kümmern kann.

.....meinen Eltern und meiner Schwester für die andauernde Unterstützung und das Vertrauen, daß ich immer das Richtige tun werde.

.....Beate, dafür, daß sie mich während der letzten Jahre auch dann wiedererkannt hat, wenn ich mal nicht vor dem Computer saß.

Veröffentlichungen

- Kingreen,D., Nitsche,A., Beyer,J., and Siegert,W. (1997). Herpes simplex infection of the jejunum occurring in the early post-transplantation period. *Bone Marrow Transplant.* 20, 989-991.
- Kreuzer,K.A., Lass,U., Landt,O., Nitsche,A., Laser,J., Ellerbrok,H., Pauli,G., Huhn,D., and Schmidt,C.A. (1999). Highly sensitive and specific fluorescence reverse transcription-PCR assay for the pseudogene-free detection of beta-actin transcripts as quantitative reference. *Clin. Chem.* 45, 297-300.
- Landt,O. and Nitsche,A. (1999). Selection of Hybridization Probe Sequences for Use with the LightCycler. *Boehringer Technical Notes.*
- Nitsche,A., Steuer,N., Schmidt,C.A., Landt,O., and Siegert,W. (1999). Different real-time PCR formats compared for the quantitative detection of human cytomegalovirus DNA. *Clin. Chem.* 45, 1932-1937.
- Nitsche,A., Steuer,N., Schmidt,C.A., Landt,O., Ellerbrok,H., Pauli,G., and Siegert,W. (2000). Detection of Human Cytomegalovirus DNA by Real-Time Quantitative PCR. *J. Clin. Microbiol.* 38, 2734-2737.
- Held,T.K., Biel,S.S., Nitsche,A., Kurth,A., Chen,S., Gelderblom,H., and Siegert,W. (2000). Treatment of BK-virus associated haemorrhagic cystitis and simultaneous CMV reactivation with cidofovir. *Bone Marrow Transplant.* 26, 347-350.
- Biel,S.S., Held,T.K., Landt,O., Niedrig,M., Gelderblom,H., Siegert,W., and Nitsche,A. (2000). Rapid quantification and differentiation of human polyomavirus DNA in native urine of patients after bone marrow transplantation. *J. Clin. Microbiol.* 38, 3689-3695.
- Nitsche,A., Müller,C.W., Radonic,A., Landt,O., Ellerbrok,H., Pauli,G., and Siegert,W. (2000). Human Herpesvirus 6A DNA is frequently detected in plasma but only rarely in peripheral blood leukocytes of patients after bone marrow transplantation. *J. Infect. Dis.* 183, 130-133.
- Schmidt,M., Hochhaus,A., Nitsche,A., Hehlmann,R., and Neubauer,A. (2000). Expression of nuclear transcription factor ICSBP in CML correlates with pretreatment risk features and cytogenetic response to interferon- α . *Blood.* (zur Publikation angenommen)
- Finny,G.J., Mathews,V., Abraham,P., Chandy,M., Srivastava,A., Nitsche,A., and Sridharan,G. (2000). Cytomegalovirus (CMV) and Human Herpesvirus-6 (HHV-6) Infections in Indian Bone Marrow Transplant Recipients. *Blood.*(eingereicht)
- Nitsche,A., Becker,M., Junghahn,I., Aumann,J., Landt,O., Fichtner,I., Wittig,B., and Siegert,W. (2000). Quantification Of Human Cells In NOD/SCID Mice By Duplex Real-time PCR. *Hematologica.* (eingereicht)
- Biel,S.S., Nitsche,A., Bae,H., Ebell,W., Gelderblom,H., and Siegert,W. (2001). Virus diagnostics in urine from bone marrow transplant patients: No correaltion between haemorrhagic cystitis and the excretion of polyoma viruses. (eingereicht)
- Dieing,A., Hildebrandt,B., Ahlers,O., Nitsche,A., Riess,H. (2001). Apoptosis of Lymphocyte-Subsets after in vitro Hyperthermia. *J. Lymphocyte Biology* (eingereicht)
- Becker,M., Nitsche,A., Neumann,C., Aumann,J., Junghahn,I., and Fichtner,I. (2000). Sensitive PCR Method for the detection of human cells in xenotransplantation systems. *Int.J.Canc.* (eingereicht)

Veröffentlichungen in Vorbereitung

- Biel,S.S., Nitsche,A., Bae,H., Timm,H., and Gelderblom,H.(2001). Evaluation of electron microscopy for the detection of human polyomaviruses in urine: Comparison with PCR and cell culture. J.Clin.Microbiol.
- Berger,J., Nitsche,A., Göbel,G., Müller-Holner, E., Widschwnedter,G., Daxenbichler,G. (2001). Differential expression of DNA methyltransferases DNMT3a and DNMT3b in breast, ovarian and cervcal cancer compared to corresponding healthy tissues. canc. Res.
- Nitsche,A., Luka,J., Schmidt,C.A., Mackay,I.M., and Siegert,W. (2000). Detection of human herpesvirus 6 (HHV-6) antigens in peripheral blood leukocytes of patients undergoing bone marrow transplantation.
- Nitsche,A., Fleischmann,J., Klima, K.M., and Siegert,W. (2001). Influence of Human Herpesvirus 6 on the *in vitro* expansion of cord blood CD34⁺ cells.
- Nitsche,A., Zhang,M., Clauss,T., Wittig, B., Siegert,W., Brune,K., and Pahl,A. (2001). Cytokine profiles of Cord and Adult Blood: Differences in mRNA expression and Drug Sensitivity. J. Clin. Invest.
- Nitsche,A., Junghahn,I., Thulke,S., Aumann,J., Wittig,B., Fichtner,I., and Siegert,W. (2001). Human IL-3 promotes proliferation and differentiation of human hematopoetic stem cells but reduces repopulation potential in NOD/SCID mice. Exp. Hematol.
- Nitsche,A., Junghahn,I., Thulke,S., Aumann,J., Wittig,B., Fichtner,I., and Siegert,W. (2001). HHV-6 infection leads to reduced engraftment of human hematopoetic stem cells in NOD/SCID mice.

Tagungsbeiträge

- Nitsche, A., Pahl, A., Keller, U. (1993) Immunologische Untersuchungen zum Vorkommen hochmolekularer FK-506 Bindungsproteine in Streptomyces (Poster) 9.VAAM Tagung: Biologie der Actinomyceten. Osnabrück
- Nitsche, A., Keller, U. (1994) Biosynthesis of bialaphos: isolation and characterization of an alanine-activating enzyme from Streptomyces viridochromogenes. (Vortrag) 10. VAAM Tagung: Biologie der Actinomyceten. Jena
- Nitsche, A., Keller, U. (1994) An alanine-activating enzyme from Streptomyces viridochromogenes involved in the biosynthesis of bialaphos (Poster) Symposium: Secondary Metabolism. Interlaken
- Nitsche, A., Pahl, A., Keller, U. (1995) A new prokaryotic high molecular weight FKBP from Streptomyces (Poster) Symposium: Vectorial traffic across bacterial membranes. Tübingen
- Nitsche, A., Pahl, A., Keller, U. (1995) A new prokaryotic high molecular weight FKBP from Streptomyces resembling eukaryotic p59 ? (Poster) VAAM Frühjahrstagung. Stuttgart
- Nitsche, A., Müller, C.W., Siegert, W. (2000) HHV-6 Quantitative real-time PCR nach Hämatopetischer Stammzell-Transplantation. Infektiologie Symposium der Berliner Arbeitsgruppe HSZT. (Vortrag)
- Klima, K.M., Nitsche, A., Schmidt, C.A., Siegert, W. (1999) Influence of Human Herpesvirus 6 on Cord Blood Stem Cell Expansion and Differentiation in vitro. 25th Annual Meeting European Group for Blood and Marrow Transplantation, Hamburg. (Poster) Abstract #382
- Nitsche, A., Luka, J., Schmidt, C.A., Mackay, I.M., Siegert, W. (1999) Detection of human herpesvirus 6 (HHV-6) antigens in peripheral blood leukocytes of patients undergoing bone marrow transplantation. 25th Annual Meeting European Group for Blood and Marrow Transplantation, Hamburg. (Vortrag) Abstract #399
- Steuer, N., Nitsche, A., Müller, C.W., Schmidt, C.A., Landt, O., Ellerbrok, H., Pauli, G., Siegert, W. (1999) Real-time quantitative PCR for the detection of HCMV DNA in BMT Patients. 25th Annual Meeting European Group for Blood and Marrow Transplantation, Hamburg. (Poster) Abstract #218
- Müller, C.W., Nitsche, A., Steuer, N., Landt, O., Siegert, W. (1999) Real-time quantitative PCR for the detection of HHV-6 Variants A and B in BMT Patients. (Poster) Onkologie 22 Suppl.1:
- Nitsche, A., Steuer, N., Landt, O., Siegert, W. (1999) Comparison of Different Real-Time PCR Formats for the Quantitation of Human Cytomegalovirus DNA. (Poster) Onkologie 22 Suppl.1:
- Biel, S.S., Nitsche, A., Bae, H.G., Ebell, W., Held, T.K., Siegert, W., Gelderblom, H.R. (1999) Diagnosis of Polyomavirus in Urine of Bone Marrow Transplant Patients. (Vortrag) Onkologie 22 Suppl.1: 133
- Biel, S.S., Nitsche, A., Bae, H.G., Ebell, W., Held, T.K., Siegert, W., Gelderblom, H.R. (1999) Quantification of polyomavirus in urine of bone marrow transplant recipients. (Poster) Acta Microbiol. Immunol. Hungarica 46:375-376 (1999)

- Nitsche,A., Müller,C.W., Radonic,A., Landt,O., Ellerbrok,H., Pauli,G., and Siegert,W. (2001). Frequent detection of high loads of human herpesvirus 6A DNA in plasma and rare detection of in peripheral blood leukocytes by real-time quantitative PCR. 27th Annual Meeting European Group for Blood and Marrow Transplantation, Maastricht.(Vortrag) Abstract #OS301
- Fleischmann,J., Nitsche,A., Radonic,A., and Siegert,W. (2001). Influence of Human Herpesvirus 6 on the *in vitro* expansion of Cord Blood CD34⁺ cells. 27th Annual Meeting European Group for Blood and Marrow Transplantation, Maastricht.(Poster) Abstract #P538
- Nitsche,A., Zhang,M., Clauss,T., Wittig, B., Siegert,W., Brune,K., and Pahl,A. (2001). Cytokine profiles of Cord and Adult Blood: Differences in mRNA expression. 27th Annual Meeting European Group for Blood and Marrow Transplantation, Maastricht.(Poster) Abstract #P464
- Nitsche,A., Junghahn,I., Thulke,S., Aumann,J., Wittig,B., Fichtner,I., and Siegert,W. (2001). Human IL-3 promotes proliferation and differentiation of human hematopoietic stem cells but reduces repopulation potential in NOD/SCID mice. 27th Annual Meeting European Group for Blood and Marrow Transplantation, Maastricht.(Poster) Abstract #P463

