

Evaluierung von genetischen AIDS Impfstoffen in
Rhesusaffen

D i s s e r t a t i o n

Zur Erlangung des akademischen Grades

d o c t o r r e r u m n a t u r a l i u m

vorgelegt von:

Erik Seibold

Februar 2004

Eingereicht im Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie der

Freien Universität Berlin

Aus dem Robert Koch-Institut, Berlin.

Erster Gutachter : Prof. Dr. Reinhard Kurth, Robert Koch-Institut, Berlin

Zweiter Gutachter : Prof. Dr. Rupert Mutzel, Freie Universität Berlin

Tag der Disputation : 11. Mai 2004

1	Einleitung	1
1.1	Die Entdeckung von AIDS und dessen Erreger HIV	1
1.2	Phylogenetik der Primaten-Lentiviren	3
1.3	Struktur und Morphologie	6
1.4	Lebenszyklus	9
1.5	HIV und Immunantwort	11
1.5.1	Humorale Immunantwort	11
1.5.2	Zelluläre Immunantwort	12
1.6	Pathogenese der HIV/SIV Infektion	14
1.7	Impfstoffstrategie gegen HIV	16
1.7.1	Das Modellsystem SIV im Tier	16
1.7.2	Entwicklung von AIDS Impfstoffen	17
1.8	Zielsetzung	22
2	Material und Methoden	25
2.1	Immunisierung/Belastung	25
2.1.1	Tiere	25
2.1.2	Impfstoffkandidaten	25
2.1.3	Immunisierung der Affen	26
2.1.4	Belastung mit pathogenem SIVmac251	27
2.1.5	Blutungen, Probenentnahme	27
2.2	Zellkultur, Probengewinnung	28
2.2.1	Zellen und Medien	28
2.2.2	Lymphozytenseparation, Plasma- und Serumisolierung	28
2.2.3	Herstellung von Eluaten rektaler Abstriche	29
2.3	Immunologische Methoden	29
2.3.1	Nachweis von SIV-spezifischen Antikörpern I: SIVmac ELISA	29
2.3.2	Nachweis von SIV-spezifischen Antikörpern II: SIVmac Dot Blot	31
2.3.3	SIVmac Neutralisationsassay	33
2.3.4	Qualitativer p27 Nachweis (p27 ELISA)	33
2.3.5	Messung der proliferativen T-Zell Antwort, Lymphoproliferationsassay (LPA)	35
2.3.6	INF γ -ELISpot	36
2.4	Virologische und klinische Methoden	40
2.4.1	Zellassozierte Viruslast	40
2.4.2	Messung der Viruslast im Plasma (real time RT-PCR)	41
2.4.3	Messung der Provirusbelastung (real time PCR)	43
2.4.4	Analyse der absoluten CD4 ⁺ T-Zell und CD8 ⁺ T-Zell Zahlen in PBMCs	44
3	Ergebnisse	45
3.1	SIV-spezifische Immunantworten durch die Vakzinierung	45
3.1.1	Zelluläre Immunantwort gegen SIV durch die Vakzinierungen	45
3.1.2	Humorale Immunantwort gegen SIV durch die Vakzinierungen	53
3.2	Einfluss der Vakzinierung auf die Infektion mit SIVmac251	54
3.2.1	RNA Viruslast in Plasmaproben	54
3.2.2	Proviruslast	56
3.2.3	Zellassozierte Viruslast	58
3.2.4	Einfluss auf die absoluten CD4 ⁺ und CD8 ⁺ T-Zellzahlen	60
3.3	SIV-spezifische Immunantworten nach der Belastung	63
3.3.1	Zelluläre Immunreaktionen nach der Belastung	64
3.3.2	Humorale Immunreaktionen nach der Belastung	76
3.4	Zusammenfassung	80

<i>4. Diskussion</i>	<i>81</i>
<i>5. Zusammenfassung</i>	<i>87</i>
<i>6. Summary</i>	<i>89</i>
<i>Abkürzungsverzeichnis</i>	<i>91</i>
<i>Literaturverzeichnis</i>	<i>92</i>
<i>Danksagung</i>	<i>100</i>
<i>Lebenslauf</i>	<i>101</i>
<i>Publikationen</i>	<i>102</i>
<i>Erklärung</i>	<i>103</i>