

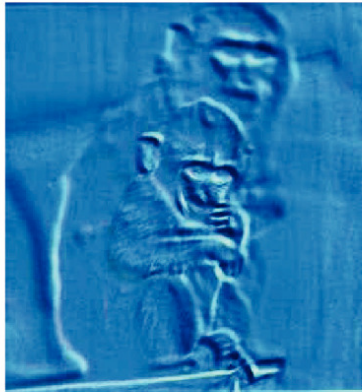


Thorsten Mühl (Autor)

Charakterisierung von MHC Klasse I-Molekülen aus Rhesusaffen (*Macaca mulatta*)

Thorsten Mühl

Charakterisierung von MHC Klasse I-Molekülen aus Rhesusaffen (*Macaca mulatta*)



Cuvillier Verlag Göttingen

<https://cuvillier.de/de/shop/publications/3520>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen, Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: info@cuvillier.de, Website: <https://cuvillier.de>

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Das erworbene Immunschwäche Syndrom (acquired immunodeficiency syndrome, AIDS)	1
1.2	Die Struktur und Funktion des Immunsystems	2
1.3	Der Haupthistokompatibilitätskomplex (major histocompatibility complex, MHC).....	5
1.3.1	Die Struktur und die Funktion der MHC-Moleküle.....	6
1.3.2	Die Gene der MHC-Moleküle	9
1.4	Der Rhesusaffe als Modell in der AIDS-Forschung.....	12
1.5	Aufgabenstellung	13
2	Material und Methoden	14
2.1	Material	14
2.1.1	Chemikalien und Radioisotope	14
2.1.2	Lösungen, Medien und Puffer	14
2.1.3	Oligonukleotide	15
2.1.4	Herkunft der DNA-Proben	16
2.1.5	DNA-Standards	16
2.2	Methoden	17
2.2.1	Isolierung von peripheren Blutlymphozyten (PBL) aus Vollblut	17
2.2.2	Isolierung von RNA	17
2.2.3	Isolierung von Poly-A ⁺ -RNA	17
2.2.4	Isolierung von DNA	17
2.2.4.1	Isolierung von DNA aus Lymphozyten	17
2.2.4.2	Isolierung von DNA aus gefrorenem Gewebe.....	18
2.2.5	Kontrolle der isolierten zytoplasmatischen RNA	18
2.2.6	Konzentrationsbestimmung von Nukleinsäuren	18
2.2.7	Reverse Transkription	19
2.2.8	Phenol-Chloroform-Extraktion von DNA	19
2.2.9	DNA-Präzipitation.....	19
2.2.10	Polymerase-Kettenreaktion (polymerase chain reaction, PCR)	20
2.2.11	Amplifizierung von MHC Klasse I cDNA-Sequenzen	20
2.2.12	Sequenzierungs-PCR	21
2.2.13	Nachweis der Mamu MHC-Allele mit der PCR mit sequenz-spezifischen Primern (PCR-SSP).....	21

2.2.14	Denaturierende Gradientengelelektrophorese (DGGE)	22
2.2.15	DNA-Färbung in DGGE-Gelen	22
2.2.16	Agarosegelelektrophorese	23
2.2.17	Extraktion von DNA-Fragmenten aus Agarosegelen	23
2.2.18	Reinigung von PCR-Produkten	23
2.2.19	Sequenzierung und Allelbestimmung	24
2.2.20	Herstellung einer cDNA-Bank	24
2.2.21	Autoradiographie	24
3	Ergebnisse	25
3.1	Die denaturierende Gradientengelelektrophorese (DGGE)- Analyse von MHC Klasse I-Genen von Rhesusaffen	25
3.2	Identifizierung neuer <i>Mamu</i> MHC Klasse I-Allele	29
3.3	Nachweis von <i>Mamu</i> MHC Klasse I A- und I B-Allelen mit allel- spezifischen Primern	36
3.4	Typisierung der <i>Mamu</i> MHC Klasse I-Gene von SIV-infizierten Rhesusaffen	37
3.5	Die Assoziationen von <i>Mamu</i> MHC Klasse I-Allelen mit einem langsamen Krankheitsverlauf	39
3.6	Einfluß der MHC Klasse I-Ausstattung auf die Virusbeladung und den Krankheitsverlauf von Rhesusaffen die mit lebend- attenuierten SIV infiziert worden waren	44
3.7	Aufbau einer cDNA-Bank	47
4	Diskussion	48
4.1	Identifizierung von <i>Mamu</i> MHC Klasse I-Allelen	49
4.2	Häufigkeitsverteilung von <i>Mamu</i> MHC Klasse I-Allelen	52
4.3	Sequenzvergleich und phylogenetische Analyse der neu identifizierten <i>Mamu</i> MHC Klasse I-Allele	54
4.4	<i>Mamu</i> MHC Klasse I-Peptidbindungsmotive und -taschen	55
4.5	Bedeutung und Einfluß der MHC Klasse I-Moleküle in der Immunantwort bei SIV/HIV-Infektionen	59
4.6	Wert des Rhesusaffenmodells in der HIV-Forschung	62

5	Zusammenfassung	64
6	Literaturverzeichnis	65
7	Abkürzungen	78
8	Anhang	81