

Inhaltsverzeichnis

1	Abkürzungsverzeichnis	6
2	Zusammenfassung.....	9
3	Abstract.....	11
4	Einleitung.....	12
4.1	Das Epstein-Barr Virus	12
4.1.1	Taxonomie und Struktur	12
4.1.2	Epidemiologie und Übertragung	13
4.1.3	Pathogenese	14
4.1.4	EBV-Infektionszyklus	14
4.2	EBV-assoziierte Tumorerkrankungen	20
4.2.1	EBV-assoziierte Lymphome bei Immunsupprimierten	21
4.2.2	Burkitt-Lymphom	21
4.2.3	Hodgkin-Lymphom	22
4.2.4	Nasopharynx-Karzinom	22
4.2.5	Weitere EBV-assoziierte Tumorarten	22
4.3	Therapeutische Strategien gegen EBV-assoziierte Tumore	23
4.3.1	Konventionelle Therapien	23
4.3.2	Zielgerichtete therapeutische Strategien	23
4.3.3	Lytische Induktionstherapie	24
4.4	Identifikation proviraler Peptide aus einer humanen Hämofiltratbank	27
5	Material und Methoden	28
5.1	Material	28
5.1.1	Verbrauchsmaterialien	28
5.1.2	Chemikalien, Reagenzien und Kits	29
5.1.3	Enzyme und Antikörper	32
5.1.4	Oligonukleotide	33
5.1.5	Organismen	34
5.1.6	Geräte	34

5.1.7	Software	37
5.2	Methoden	38
5.2.1	Bakteriologische Methoden	38
5.2.2	Zellbiologische Methoden	40
5.2.3	Virologische Methoden	44
5.2.4	Molekularbiologische Methoden	46
5.2.5	Biochemische Methoden	57
5.2.6	Proteinanalytische Methoden	61
5.2.7	Statistik	62
6	Ergebnisse	63
6.1	Isolation und Identifikation proviraler Substanzen (E8F22)	63
6.1.1	Aufreinigung und Screening	63
6.1.2	Identifikation	70
6.1.3	Synthese	75
6.2	Entwicklung eines optimierten Reporterzellassays für lytische EBV-Induktion mittels CRISPR/Cas9	76
6.2.1	Design einer neuen EBV-Reporterzelllinie	77
6.2.2	CRISPR/Cas9-vermittelte Insertion des Reportergens	79
6.2.3	Validierung der neuen Reporterzelllinie	83
6.2.4	Vergleich der beiden EBV-Reporterzellassays	88
6.3	Detektion, Isolation und Identifikation proviraler Substanzen (E6F19)	92
6.3.1	Screening des humanen Hämofiltrats	92
6.3.2	Validierung und Charakterisierung	101
6.3.3	Aufreinigung und Screening	112
6.3.4	Identifikation	119
7	Diskussion	121
7.1	Wissenschaftliche Errungenschaften durch die Entwicklung der neuen Reporterzelllinie Raji-HiBiT	122
7.2	Vergleichende Analyse zweier Verfahren zur Detektion der lytischen EBV-Replikation	124
7.3	Analyse der Screening-Ergebnisse zur Identifikation von proviralen Substanzen in einer humanen Hämofiltratbank	126
7.3.1	Bewertung der Aufreinigung und Interpretation der Chromatogramme	126
7.3.2	Typische Charakteristik der Screening-Ergebnisse	128
7.3.3	Vergleich der Screening-Ergebnisse beider Reporterzellassays	129

7.4	Herausforderungen und Limitierungen von Screenings humaner Peptidbanken	132
7.5	DPP als lytischer Induktor im humanen Hämofiltrat?	133
7.5.1	Vorkommen im humanen Hämofiltrat	134
7.6	Komplementfaktor D als lytischer Induktor und Wirkstoffkandidat für die lytische Induktionstherapie	136
7.6.1	Natürliches Vorkommen im humanen Hämofiltrat	137
7.6.2	Physiologische Funktionen	138
7.6.3	Komplementfaktor D als Induktor der EBV-Reaktivierung	139
7.6.4	Komplementfaktor D als Wirkstoffkandidat für die lytische Induktionstherapie?	143
7.6.5	Limitierungen der Therapie per se	145
7.7	Potential von humanen Peptiden als Therapeutika	147
8	Literaturverzeichnis	149
9	Abbildungsverzeichnis	175
10	Tabellenverzeichnis	177
11	Danksagung.....	178
12	Lebenslauf	179
13	Eigenständigkeitserklärung	181