

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Klinische Motivation	1
1.2	Herzinsuffizienz.....	2
1.3	Veterinärmedizinische Relevanz.....	5
1.4	Das Konzept der Gentherapie.....	5
1.5	Die Genomik Adeno-assoziiierter Viren	7
1.6	Rekombinante Adeno-assoziierte Vektoren	8
1.7	AAV-basierte klinische Gentherapien	10
1.8	Pathophysiologie der Herzinsuffizienz und Zielstrukturen kardialer Gentherapien	12
1.9	AAV-basierte kardiale Gentherapie.....	15
1.10	Biodistributionsanalysen	17
1.11	Tiermodelle in der biomedizinischen Forschung.....	18
1.12	Vorarbeiten.....	18
1.13	Ziel der Arbeit.....	21
2	Material und Methoden.....	22
2.1	Material	22
2.2	Methoden	32
2.2.1	Plasmide	33
2.2.2	Vektorproduktion in Zellkultur	38
2.2.3	Vektorquantifizierung	45
2.2.4	SDS-PAGE	47
2.2.5	Tierversuche	47
2.2.6	DNA-, RNA- und Proteinisolation aus Gewebeproben	49
2.2.7	cDNA-Synthese	52
2.2.8	Quantifizierung der Vektorgenom- und cDNA-Kopien	53

2.2.9	Polymerase-Kettenreaktion mit Q5® oder Phusion® Polymerase.....	54
2.2.10	Gelelektrophorese.....	55
2.2.11	PCR-Produkt Aufreinigung.....	56
2.2.12	Fragmentanalyse	56
2.2.13	Sequenzierung.....	57
2.2.14	Western Blot	59
2.2.15	Histologie	60
2.2.16	Antikörpernachweis in Serumproben	64
2.2.17	Blutchemie	67
2.2.18	Statistik und graphische Darstellung.....	67
3	Ergebnisse	69
3.1	Produktivität der Vektoren	69
3.2	Mausstudie 1 - Biodistributionsanalyse.....	70
3.2.1	Amplifikation des Vektorgenoms.....	72
3.2.2	Vektorgenomquantifizierung	74
3.2.3	Sequenzierung.....	75
3.2.4	Vergleich der Sequenziermethoden.....	76
3.2.5	Ergebnisse der Biodistributionsanalyse	78
3.3	Mausstudie 2 - Transduktionseffizienz.....	85
3.3.1	Linker Ventrikel und Leber	87
3.3.2	Restliche Organe	103
3.3.3	Serologie.....	110
3.3.4	Blutchemie	112
4	Diskussion	116
4.1	Entdeckung der neuen Vektoren.....	116
4.2	Referenzvektoren.....	117
4.3	Produktionssystem.....	118
4.4	Tiermodelle	119

4.5	Methoden	121
4.6	Mausstudie 1 und 2.....	122
4.7	Biodistribution und Transduktionseffizienz.....	123
4.8	Immunogenität	125
4.9	Toxikologie	126
4.10	Ausblick.....	127
4.11	Schlussfolgerungen.....	127
5	Zusammenfassung.....	129
6	Summary	131
7	Verzeichnisse	132
7.1	Abkürzungsverzeichnis	132
7.2	Abbildungsverzeichnis	135
7.3	Tabellenverzeichnis	138
7.4	Literaturverzeichnis	140
8	Anhang	153
8.1	Anhang Mausstudie 1	153
8.2	Selbstständigkeitserklärung	168
8.3	Danksagung	169