

Masterarbeit/Bachelorarbeit 1

Titel des Themas: **Immunsuppression durch Retroviren**

Institut: **Institut für Virologie der FU Berlin**

Name: Dr. rer. nat. Joachim Denner

Email-Kontakt: Joachim.Denner@fu-berlin.de

Beschreibung: Die meisten Retroviren haben immunsuppressive Eigenschaften und rufen im infizierten Wirt eine akquirierte Immunschwäche (AIDS) hervor. HIV ist das in dieser Hinsicht am besten untersuchte Retrovirus, aber auch Gammaretroviren wie das Katzenleukämievirus (FeLV), das Mausleukämievirus (MuLV) und das Koalaretrovirus (KoRV) rufen in den infizierten Wirtstieren eine schwere Immunschwäche hervor. Untersuchungen in vitro und in vivo zeigten, dass die immunsuppressive Domäne im transmembranen Hüllprotein der Retroviren eine wichtige Rolle bei der Immunpathogenese spielt. Am Beispiel des porcinen endogenen Retrovirus (PERV), das eng verwandt ist mit MuLV, FeLV und KoRV, und das wichtig Rolle bei der Xenotransplantation spielt, sollen die immunsuppressiven Eigenschaften des transmembranen Hüllproteins untersucht werden.

Methoden: Klonierung des transmembranen Hüllproteins p15E von PERV, Expression in eukaryotischen Zellen, Untersuchungen der immunsuppressiven Eigenschaften in entsprechenden Zellsystemen, Untersuchungen des Einflusses auf humane Immunzellen (Zytokinexpression, Genexpression, NGS), Mutationsanalyse der immunsuppressiven Domäne

Papers: Tacke SJ, Kurth R, Denner J. Porcine endogenous retroviruses inhibit human immune cell function: risk for xenotransplantation? *Virology*. 2000 Mar 1;268(1):87-93.

Denner J. The transmembrane proteins contribute to immunodeficiencies induced by HIV-1 and other retroviruses. *AIDS*. 2014 May 15;28(8):1081-90.

Morozov VA, Morozov AV, Semaan M, Denner J. Single mutations in the transmembrane envelope protein abrogate the immunosuppressive property of HIV-1. *Retrovirology*. 2012 Aug 13;9:67.

Morozov VA, Dao Thi VL, Denner J. The transmembrane protein of the human endogenous retrovirus--K (HERV-K) modulates cytokine release and gene expression. *PLoS One*. 2013 Aug 7;8(8):e70399.

Denner J, Eschricht M, Lauck M, Semaan M, Schlaermann P, Ryu H, Akyüz L. Modulation of cytokine release and gene expression by the immunosuppressive domain of gp41 of HIV-1. *PLoS One*. 2013;8(1):e55199.

Masterarbeit/Bachelorarbeit 2

Titel des Themas:

Porcine Viren und Xenotransplantation

Institut:

Institut für Virologie der FU Berlin

Name:

Dr. rer. nat. Joachim Denner

Email Kontakt:

Joachim.Denner@fu-berlin.de

Beschreibung:

Die Arbeitsgruppe untersucht die Prävalenz porciner Viren in gentechnisch modifizierten Donorschweinen, die Übertragung dieser Viren auf Rezipienten in präklinischen und klinischen Studien, entwickelt Strategien zur Verhinderung der Übertragung. Besondere Beachtung finden dabei die porcinen endogenen Retroviren (PERVs), deren Biologie, immunsuppressiven Eigenschaften und Übertragbarkeit. Damit soll verhindert werden, dass wie im Fall der ersten Transplantation eines Schweineherzen in einen Patienten, ein Schweinevirus, das porcine Cytomegalovirus, übertragen wird und zum Tod des Patienten beiträgt.

Methoden:

Zum Nachweis der Viren werden molekularbiologische Methoden (PCR, RT-PCR, real-time PCR, ddPCR) und immunologische Methoden (Western blot Analyse, ELISA, Immunfluoreszenz, u.a.) angewandt und weiterentwickelt. Weiterhin werden Klonierungen und Sequenzierungen der porcinen Viren, zellbiologische Untersuchungen und die Produktion rekombinanter viraler Proteine für immunologische Methoden vorgenommen. Für die Inaktivierung der PERVs wird die CRISPR/Cas Methode angewendet.

Papers:

Denner J. Sensitive detection systems for infectious agents in xenotransplantation. *Xenotransplantation*. 2020 Apr 18:e12594.

Denner J, Längin M, Reichart B, Krüger L, Fiebig U, Mokolke M, Radan J, Mayr T, Milusev A, Luther F, Sorvillo N, Rieben R, Brenner P, Walz C, Wolf E, Roshani B, Stahl-Hennig C, Abicht JM. Impact of porcine cytomegalovirus on long-term orthotopic cardiac xenotransplant survival. *Sci Rep*. 2020 Oct 16;10(1):17531

Denner J. Why was PERV not transmitted during preclinical and clinical xenotransplantation trials and after inoculation of animals? *Retrovirology*. 2018 Apr 2;15(1):28.

Fiebig U, Abicht JM, Mayr T, Längin M, Bähr A, Guethoff S, Falkenau A, Wolf E, Reichart B, Shibahara T, Denner J. Distribution of Porcine Cytomegalovirus in Infected Donor Pigs and in Baboon Recipients of Pig Heart Transplantation. *Viruses*. 2018 Feb 6;10(2):66.

Denner J. Paving the Path toward Porcine Organs for Transplantation. N Engl J Med. 2017 Nov 9;377(19):1891-1893

Morozov VA, Wynyard S, Matsumoto S, Abalovich A, Denner J, Elliott R. No PERV transmission during a clinical trial of pig islet cell transplantation. Virus Res. 2017 Jan 2;227:34-40.

Denner J, Tönjes RR. Infection barriers to successful xenotransplantation focusing on porcine endogenous retroviruses. Clin Microbiol Rev. 2012 Apr;25(2):318-43

Masterarbeit/Bachelorarbeit 3

<i>Titel des Themas:</i>	Wirkungsmechanismus des porcinen Cytomegalovirus (PCMV) bei der Xenotransplantatabstoßung
<i>Institut:</i>	Institut für Virologie der FU Berlin
<i>Name:</i>	Dr. rer. nat. Joachim Denner, Prof. Dr. Benedikt Kaufer
<i>Email Kontakt:</i>	Joachim.Denner@fu-berlin.de , b.kaufer@fu-berlin.de
<i>Beschreibung:</i>	<p>PCMV ist ein porcines Roseolovirus (PCMV/PRV) [1] und eng verwandt mit dem humanen Herpesvirus HHV-6, es ist weit verbreitet in der Schweinepopulation. Bei Untersuchungen zur Virussicherheit der Xenotransplantation konnte gezeigt werden, dass PCMV/PRV die Überlebenszeit orthotop in Paviane transplantierte Schweineherzen von 195 Tagen auf weniger als 30 Tage verkürzt [2]. Ähnliche Reduktionen der Überlebenszeiten von Schweineherzen und -nieren konnte auch bei Xenotransplantationen mit anderen nicht-humanen Primaten beobachtet werden (Übersicht siehe [3]). PCMV/PRV wurde auch bei der ersten Transplantation eines Herzens vom Schwein in einen Patienten übertragen und hat zum Tod des Patienten beigetragen.</p> <p>In den betroffenen Pavianen wurden PCMV/PRV-exprimierende Zellen in allen Organen gefunden [4], allerdings ist unklar, ob das verstreute Schweinezellen oder infizierte Pavianzellen sind. In den betroffenen transplantierten Pavianen wurden erhöhte Konzentrationen von IL-6 und TNFα sowie hohe Werte von tPA-PAI-1 (tissue plasminogen activator - plasminogen activator inhibitor 1) Komplexen gefunden. Letztere suggerieren den Totalverlust der pro-fibronolytischen Eigenschaften der Endothelzellen [2]. Wenn PCMV/PRV die Zellen des Pavians nicht infiziert, muss die Modifikation der Zytokinexpression durch eine direkte Interaktion von PCMV/PRV-Proteinen mit dem Immunsystem erfolgen, ähnlich wie bei den Retroviren beschrieben [5]. Hier soll der Einfluß gereinigter PCMV/PRV-Partikel und rekombinanter PCMV/PRV-Proteine auf die Zytokin- und Genexpression humaner und Pavian-Zellen untersucht werden.</p>

Methoden:

Die PCMV/PRV-Partikel werden mittels Dichtegradient-zentrifugation aus dem Überstand virusproduzierender Zellen gereinigt, die rekombinanten Hüllproteine werden kloniert und in eukaryotischen Zellen exprimiert. Nach Ko-Inkubation dieser Zellen mit Immunzellen vom Mensch und Pavian wird deren Zytokinexpression mittels Zytokinarrays und RNA-Sequenzierung untersucht.

Papers:

1. Denner J, Bigley TM, Phan TL, Zimmermann C, Zhou X, Kaufer BB. Comparative Analysis of Roseoloviruses in Humans, Pigs, Mice, and Other Species. *Viruses*. 2019 Nov 30;11(12):1108.

2. Denner J, Längin M, Reichart B, Krüger L, Fiebig U, Mokolke M, Radan J, Mayr T, Milusev A, Luther F, Sorvillo N, Rieben R, Brenner P, Walz C, Wolf E, Roshani B, Stahl-Hennig C, Abicht JM. Impact of porcine cytomegalovirus on long-term orthotopic cardiac xenotransplant survival. *Sci Rep*. 2020 Oct 16;10(1):17531

3. Denner J. Reduction of the survival time of pig xenotransplants by porcine cytomegalovirus. *Virol J*. 2018 Nov 8;15(1):171

4. Fiebig U, Abicht JM, Mayr T, Längin M, Bähr A, Guethoff S, Falkenau A, Wolf E, Reichart B, Shibahara T, Denner J. Distribution of Porcine Cytomegalovirus in Infected Donor Pigs and in Baboon Recipients of Pig Heart Transplantation. *Viruses*. 2018 Feb 6;10(2):66.

5. Denner J. The transmembrane proteins contribute to immunodeficiencies induced by HIV-1 and other retroviruses. *AIDS*. 2014 May 15;28(8):1081-90.