**Retrovirale Vektoren**

Retroviren können zahlreiche Zelltypen von Säugetieren infizieren. Ein Retroviruspartikel besteht aus einem inneren Nucleocapsid – ein RNA-Genom in einer Proteinhülle – und einer äußeren Hülle, die aus der Cytoplasmamembran der vorherigen Wirtszelle abgeschnürt wurde. Bei allen Retroviren umfasst das Genom die drei Gene *gag*, *pol* und *env*, eingeschlossen zwischen zwei langen endständigen Sequenzwiederholungen, sogenannten LTRs (engl. long terminal repeats). Die LTR-Sequenzen werden für den Einbau der DNA-Version des Virusgenoms in die DNA der Wirtszelle und den Start und das Ende der Transkription der retroviralen Gene benötigt. Zwischen dem strangaufwärts liegenden LTR und dem *gag*-Gen befindet sich das Verpackungssignal ψ, eine wesentliche Voraussetzung für die Verpackung der RNA in das Viruspartikel.



Abbildung: Retrovirusgenom

Die erste erfolgreiche Übertragung eines Gens im Rahmen einer Gentherapie beim Menschen gelang mit Retroviren. Hierbei wurde einem Kind mit SCID (engl. severe combined immunedeficiency) mittels eines retroviralen Vektors eine funktionsfähige Kopie des *ada*-Gens übertragen. SCID tritt auf, wenn sowohl die B-Zellen als auch die T-Zellen des Immunsystems defekt sind. Häufig handelt es sich bei SCID um Mutationen des *ada*-Gens, welches für das Enzym Adenosin-Desaminase codiert. Ein Mangel an diesem Enzym verhindert die Entwicklung der Lymphozyten.

Bei der Herstellung retroviraler Vektoren für die Gentherapie kommen zwei Viruskonstrukte zum Einsatz. Der therapeutische Vektor trägt das therapeutische Gen und das Verpackungssignal, flankiert von zwei LTRs. Weil dem Vektor die Gene *gag*, *pol* und *env* fehlen, kann er keine Viruspartikel herstellen. Diese Funktion muss daher von einem Verpackungskonstrukt übernommen werden, einem defekten Provirus, das in die DNA der Produzentenzelle (Verpackungszelle) eingebaut wird. Der Verpackungsvektor enthält die drei Gene *gag*, *pol* und *env*, die für eine Infektion notwendig sind (Virusbestandteile und Enzyme für die Integration des retroviralen Genoms in die Wirtszelle). Ihm fehlt jedoch das Verpackungssignal. Daher ist er zwar für die Herstellung von Viruspartikeln verantwortlich, wird aber selbst nicht verpackt. Die erzeugten Viruspartikel enthalten lediglich den retroviralen Vektor mit dem therapeutischen Gen. Weil die retroviralen Vektoren keinerlei Gene für die retroviralen Proteine aufweisen, rufen sie keine Immunreaktion oder nennenswerte Entzündung hervor. Dass sie sich in die DNA der Wirtszelle einbauen können, hat zur Folge, dass das therapeutische Gen zu einem dauerhaften Bestandteil des Wirtszellgenoms wird.

**Aufgaben**

1. Erstellen Sie eine beschriftete Skizze eines therapeutischen Vektors.

2. Erstellen Sie eine beschriftete Skizze eines Verpackungsvektors.

3. Beschreiben Sie stichwortartig die Herstellung eines retroviralen Vektors für die Gentherapie.

**Lösung: Retrovirale Vektoren**

1.



2.



3. - Einbau des Verpackungskonstruktes in das Genom einer Produzentenzelle

- Einschleusen des therapeutischen Vektors in die Produzentenzelle

- Transkription des therapeutischen Vektors zu retroviraler RNA durch die Produzentenzelle

- Herstellung von Viruspartikeln mithilfe des Verpackungskonstruktes durch die Produzentenzelle

- Verpackung der retroviralen RNA in die Viruspartikel

→ Isolation des retroviralen Vektors