

Inhaltsverzeichnis

Seite

Abkürzungsverzeichnis

1.	Einleitung	1
1. 1.	Virus und Typ-1-Diabetes	2
1. 2.	Aufbau und Eigenschaften von Enteroviren	5
1. 3.	Aufbau und Eigenschaften von Adenoviren	8
1. 4.	Zelluläre und molekulare Pathomechanismen des T1D	11
2.	Zielstellung	15
3.	Material und Methoden	17
3. 1.	Patientengut	17
3. 2.	Nachweis von Enteroviren	18
3. 2. 1.	Präparation von Kontrollmaterial	18
3. 2. 2.	Virus-RNA-Extraktion	18
3. 2. 3.	Enterovirus n-RT-PCR	19
3. 2. 4.	Coxsackievirus B spezifische n-RT-PCR	22
3. 2. 5.	Enterovirus Real-Time-PCR	22
3. 2. 5. 1.	Enterovirus Real-Time Two-Step-RT-PCR	24
3. 2. 5. 2.	Enterovirus Real-Time One-Step-RT-PCR	24
3. 3.	Nachweis von Adenoviren	25
3. 3. 1.	Präparation von Kontrollmaterial	25
3. 3. 2.	Virus-DNA-Extraktion	25
3. 3. 3.	Adenovirus n-PCR	26
3. 3. 4.	Adenovirus Real-Time-PCR	29
3. 4.	Sequenzierung	29
3. 4. 1.	Enteroviren	29
3. 4. 1. 1.	5'-NTR	29
3. 4. 1. 2.	VP1	31

3. 4. 2.	Adenoviren	33
3. 4. 3.	Reinigung der PCR-Produkte	35
3. 4. 4.	Ethanol-fällung und Sequenzanalyse	36
3. 5.	Plasmid-Konstruktion von Adenoviren	37
3. 5. 1.	DNA-Ligation und Transformation	37
3. 5. 2.	Plasmid-DNA-Minipräparation	39
3. 5. 3.	Charakterisierung des Klonierungsproduktes	39
3. 6.	Antikörperbestimmung von Enteroviren und Adenoviren	41
3.7.	Autoantikörper-Bestimmung	42
3. 7. 1.	Zytoplasmatische Inselzellautoantikörper (ICA)	42
3. 7. 2.	Glutamatdecarboxylase-Autoantikörper (GADA)	43
3. 7. 3.	Proteintyrosinphosphatase-Autoantikörper (IA-2A)	44
3. 7. 4.	Insulinautoantikörper (IAA)	44
3. 8.	HLA-DQB1-Genotypisierung	45
3. 9.	Statistische Analysen	46
4.	Ergebnisse	47
4. 1.	Untersuchungen zur Assoziation von Enteroviren und T1D	47
4. 1. 1.	Optimierung des Nukleinsäurenachweises von Enteroviren	47
4. 1. 2.	Prävalenz von Enterovirus spezifischen Sequenzen im Patientenmaterial	54
4. 1. 3.	Bestimmung des Anteils an Coxsackievirus B spezifischen Sequenzen	57
4. 1. 4.	Charakterisierung der Amplifikate mittels Sequenzierung	58
4. 1. 5.	Antikörperprofil der Untersuchungsgruppen für Enteroviren	64
4. 2.	Untersuchungen zur Assoziation von Adenoviren und T1D	65
4. 2. 1.	Optimierung des Nukleinsäurenachweises von Adenoviren	65
4. 2. 2.	Entwicklung eines DNA-Standards	69
4. 2. 2. 1	Charakterisierung der Kolonien	69
4. 2. 3.	Prävalenz von Adenovirus-DNA-Sequenzen in Patientenmaterial	72

4. 2. 4.	Charakterisierung eines ADV-Amplifikates aus der Kontrollgruppe	74
4. 2. 5.	Antikörperprofil der Untersuchungsgruppen für Adenoviren	74
4. 3.	Autoantikörperprofil der Probanden	75
4. 4.	HLA-DQB1-Typisierung	76
4. 5.	Assoziation von AAK, HLA-DQB1- Spezifitäten und Enterovirusinfektionen	78
5.	Diskussion	80
6.	Zusammenfassung	91
7.	Literaturverzeichnis	93
8.	Anhang	