

David Fiebig

Als Edward Jenner 1796 einen kleinen Jungen vorsätzlich mit Kuhpocken infizierte, konnte noch niemand absehen, dass daraus einige der größten Erkenntnisse der heutigen Immunologie gewonnen werden konnten [1]. Die post-infektionelle Immunität gegen die gefährlichen humanen Pocken war das erste Beispiel einer aktiven Immunisierung, welche nachfolgend als Vakzination, aus der Kuh stammend, bezeichnet wurde.

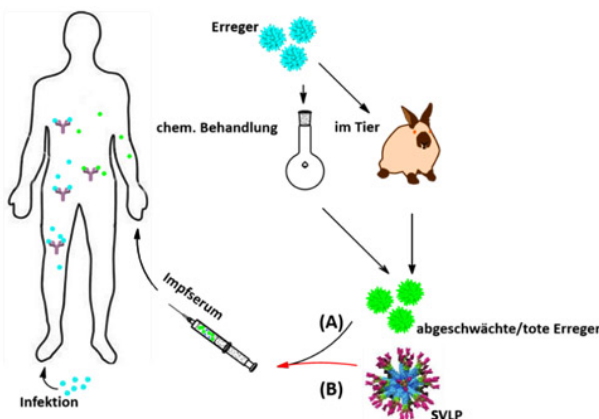


Abbildung 1: Schematischer Ablauf einer konventionellen Immunisierung (A) gegenüber dem Einsatz von SVLP (B). Bei der konventionellen Immunisierung wird zunächst ein Erreger isoliert und anschließend in abgeschwächter Form als Impferum verabreicht, um Antikörper gegen den Erreger zu bilden (A). Durch den Einsatz von SVLP bleiben die Kultivierungsschritte wie auch Abschwächungsschritte aus und man erhält ein direkt einsetzbares Impferum (B). Adapted with permission from Ref. 7. Copyright Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.

Seitdem hat sich das Verständnis für Krankheitserreger sowie für die der Immunantwort zugrunde liegenden Mechanismen deutlich erweitert. So wurden vor allem in den letzten Jahren verschiedene Herangehensweisen wie die Verabreichung von eingeschränkt vermehrungsfähigen bzw. abgetöteten Viren entwickelt, um eine ausreichend vorbeugende Wirkung im Patienten zu erzielen (Abbildung 1A). Die Gewinnung dieser Impfstoffe stellt sich jedoch nicht immer als trivial heraus und ist stets mit einem in der Natur von Pathogenen liegenden Risiko behaftet.

Doch wie schützt nun ein Impfstoff vor einer Infektion? Die verabreichten Fremdkörper werden zunächst von spezialisierten Zellen, den sog. dendritischen Zellen, aufgenommen, innerhalb spezieller Apparate (Proteasom) in kleine Abschnitte zerlegt und anschließend auf der Zelloberfläche präsentiert. Diese Fragmente werden wiederum von anderen Zellen erkannt, welche daraufhin mit der Bildung von Antikörpern,

den „Markierungsmolekülen des Immunsystems“, beginnen und so eine Immunantwort auslösen. Simultan kommt es zur Aktivierung von Abwehrzellen, welche die Fremdkörper bzw. infizierten Zellen neutralisieren (Killer-Zellen).

Durch das Verständnis der Antigene, genauer Epitope, als Immunogen, also Immunantwort provozierend, ist es heute möglich, zielgenauere Impfstoffe zu entwickeln. So werden diese meist durch rekombinante Produktion von bspw. Virenhüllfragmenten hergestellt. Diese bergen jedoch diverse Nachteile, da solche Bruchstücke zum Beispiel häufig nicht die gleiche dreidimensionale Struktur einnehmen wie das Protein im Kontext der Virenhülle und so nur die Bildung weniger potenter Antikörper (AK) induzieren kann. Durch Anwendung strukturbiochemischer Erkenntnisse aus der Antikörper-Antigen-Interaktion ist es möglich, diesen Problemen mit Hilfe künstlich hergestellter chemisch modifizierter Peptidmimetika mit definierter naturnaher Struktur entgegenzuwirken. Diese ahmen so die *in vivo*-Situation besser nach und sind zudem weitaus stabiler gegenüber

frühzeitigem Abbau im Organismus. Je nach Antigen und vor allem dessen Größe variiert hingegen auch die Intensität der Immunantwort relativ stark innerhalb eines Organismus, weswegen meist auf den Zusatz eines Adjuvans gesetzt wird. Diese Stoffe reizen das Immunsystem und sollen so eine verstärkte Immunantwort hervorrufen, was in manchen Fällen jedoch ebenfalls zu ungewollten Nebenreaktionen führen kann, die bis zum anaphylaktischen Schock reichen können. Zur Vermeidung des Adjuvaneinsatzes haben sich daher sog. virusähnliche Partikel (VLP) bewährt, da diese aufgrund ihrer Größe und Oberflächenbeschaffenheit selbst bereits eine starke Immunogenität besitzen. Weiterhin lässt sich die Oberfläche dieser Vesikel relativ einfach mit Antigenen und anderen funktionellen Molekülen dekorieren [2].

Ein neuer Ansatz hingegen, welcher vollständig auf den Einsatz von Zellkultursystemen für die Herstellung von VLPs und die damit einhergehenden aufwendigen Klonierungs- und Kultivierungsschritte verzichtet, macht sich das grundlegende Prinzip der Selbstassemblierung spezieller amphiphiler Molekül-Bausteine in wässrigen Lösungen zu sog. SVLPs (synthetische virusähnliche Partikel (Abbildung 1B)) [3]. Dadurch wird es ermöglicht, einen hochaktiven Impfstoff komplett synthetisch herzustellen, der zudem leicht, zeiteffektiv und vor allem kostengünstig modifiziert werden kann und keinerlei Hilfsstoffe benötigt.

SVLPs besitzen den Vorteil, dass sie über leicht zugängliche, chemisch definierte „Baublöcke“ hergestellt werden können und dadurch ein großes Maß an Variabilität zur maßgeschneiderten Anpassung bieten. Die Synthese erfolgt ausgehend von einer kurzen selbstassemblierenden Aminosäuresequenz (Coiled coil Peptid), die spontan trimere helikale Bündel bildet (Abbildung 2) [4], welche dann über eine angefügte hydrophobe Lipid-Kette zu SVLPs assemblieren.

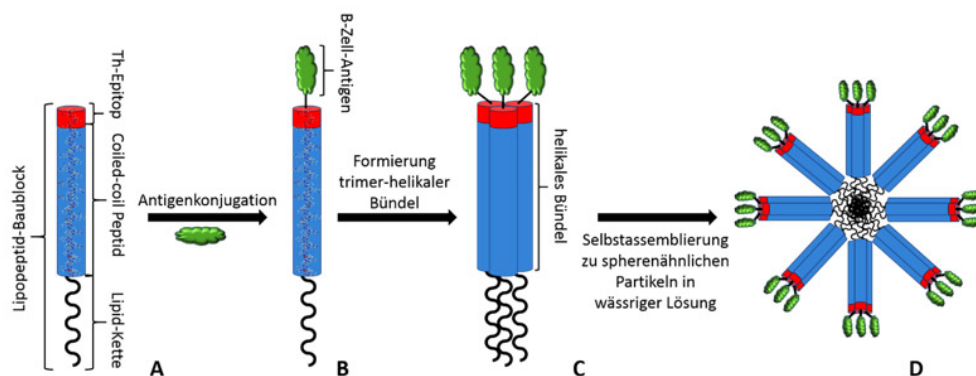


Abbildung 2: Schrittweiser Aufbau eines definierten synthetischen virusähnlichen Partikels. Über Festphasenpeptidsynthese (SPPS) nach Merrifield et al. [5] wird zunächst ein Coiled coil Peptid (blau) mit einem T-Helfer-Epitop (ThE) (rot) synthetisiert, welches mit einer definierten Lipidkette fusioniert wird (A). Anschließend erfolgt die Konjugation eines künstlich hergestellten Antigens (B). Einzelne Lipopeptide lagern sich zu trimeren helikalen Bündeln zusammen (C) und nach Überführung in ein wässriges Milieu zu den eigentlichen Partikeln (D) [3].

Zur Unterstützung einer effizienten Immunantwort kann diese Struktur um ein THelfer-Epitop erweitert werden, welches über die Wechselwirkung mit sog. T-Helferzellen die Immunantwort stimuliert. Als hydrophobe Komponente eignen sich generell alle Triglyceride. Es können allerdings auch spezielle andere hydrophobe und immunstimulatorische Liganden, wie die in bakteriellen Lipoproteinen häufig anzutreffenden Lipidanker Pam₂Cys und Pam₃Cys, verwendet werden (Tabelle 1) [6].

Die eigentliche Herausforderung liegt jedoch in der Synthese konformativ korrekt stabilisierter Antigene, welche die Bildung der gewünschten Antikörper veranlassen.


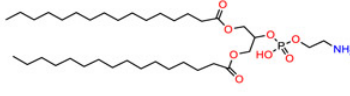
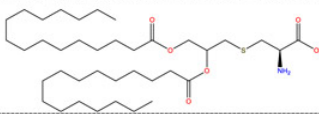
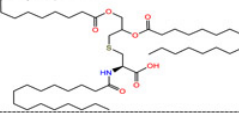
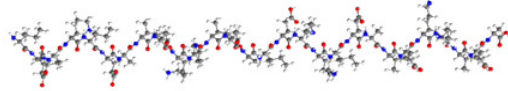
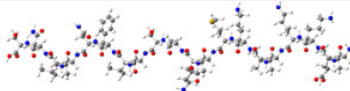
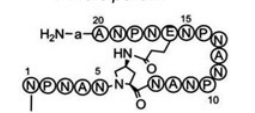
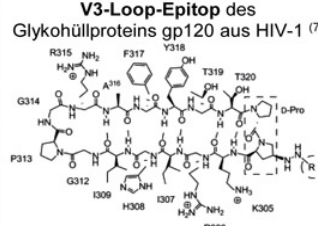

	Lipidanteil	<p>1,3-dipalmitoyl-2-Phosphoethanolamin</p> 
		<p>Pam₂Cys</p> 
		<p>Pam₃Cys</p> 
	Coiled coil Peptid	<p>Isoleucin-Zipper⁽⁴⁾ (IEKKIEA)₄</p> 
	T-Helfer-Epitop	<p>CS.T3: aa379-398 circumsporozoite Protein (CS) aus <i>P. falciparum</i> IEKKIAKMEKASSVFNVNS</p> 
	B-Zell-Antigen-Mimetika	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> <p>zykl.-NPNA-Tetrapeptid-Epitop des circumsporozoite Protein aus <i>P. falciparum</i>⁽³⁾</p>  </div> <div style="text-align: center;"> <p>V3-Loop-Epitop des Glykohüllproteins gp120 aus HIV-1⁽⁷⁾</p>  </div> </div>

Tabelle 1: Baublock-Untereinheiten eines synthetischen virusähnlichen Partikels

Durch Fortschritte in der Aufklärung von Antikörper-Antigen-Interaktionen und geschickter Wahl orthogonaler Schutzgruppen lassen sich jedoch bereits heute strukturell komplexe Antigene, wie bspw. das V3-Loop-Epitop des gp120-Hüllproteins des AIDS-Virus HIV-1 oder das zyklische NPNA-Tetrapeptid-Epitop des circumsporozoite Proteins aus *P. falciparum* (Tabelle 1), so synthetisieren, dass sie die räumliche Positionierung der Aminosäureseitenketten im viralen Hüllprotein sehr gut nachbilden [3, 7]. Diese werden anschließend chemisch an das Coiled coil Peptid gekoppelt und landen dadurch, nach Überführung in ein wässriges Milieu und spontaner Assemblierung zu SVLP, in vielfacher Kopienzahl auf der Oberfläche der Partikel (Abb. 2D). Mit einem Durchmesser von 20 – 30 nm entstehen Nanopartikel, welche sich aus 18 – 30 helikalen Bündeln zusammensetzen und damit eine Antigenpräsentation in ausreichender Anzahl und Nähe zueinander gewährleisten. Tierexperimente bestätigen die Auslösung einer starken Immunantwort sowie die Bildung hoch spezifischer und potenter Antikörper, die sich gegen das auf SVLPs präsentierte Antigen richten.

Zusammenfassung

Bei SVLPs handelt es sich um komplett synthetisch hergestellte Nanopartikel, welche die Besonderheiten und Vorteile natürlicher virusähnlicher Partikel besitzen, jedoch durch ihre chemisch definierte Zusammensetzung leichter zugänglich und gezielt modifizierbar sind. Der Aufbau über vollsynthetische chemische Baublöcke erlaubt hierbei die maßgeschneiderte Herstellung einer neuen Klasse von Impfstoffen, welche ohne den Einsatz von aufwendigen und kostenintensiven Zellkulturen gewonnen werden können und die außerdem auch ohne die Verabreichung eines Adjuvans ein sehr gutes Wirkprofil zeigen.

Kontakt:	Schlauer Fuchs
 <p>Der Artikel wurde im Rahmen des Studienprojektes HighChem des Fachbereichs Chemie der Technischen Universität Darmstadt verfasst (s. Woche 2).</p> <p>Der Autor David Fiebig ist Studierender im Masterstudiengang Biomolecular Engineering – Molekulare Biotechnologie an der TU Darmstadt</p> <p>(E-Mail: david_fiebig@gmx.de).</p> <p>Wissenschaftliche Betreuung: Prof. Dr. Harald Kolmar (E-Mail: kolmar@biochemie-tud.de).</p>	<p>Unsere Schlaue-Fuchs-Frage zu diesem Beitrag lautete:</p> <p>Was versteht man unter einem Adjuvans?</p>

Literatur:

[1] Riedel, S. (2005) Edward Jenner and the history of smallpox and vaccination. *Proceedings* 18, 21-25

[2] Ludwig, C., and Wagner, R. (2007) *Virus-like particles-universal molecular toolboxes*. *Current opinion in biotechnology* 18, 537-545

[3] Ghasparian, A., Riedel, T., Koomullil, J., Moehle, K., Gorba, C., Svergun, D. I., Perriman, A. W., Mann, S., Tamborini, M., Pluschke, G., and Robinson, J. A. (2011) Engineered synthetic virus-like particles and their use in vaccine delivery. *Chembiochem : a European journal of chemical biology* 12, 100-109

[4] Suzuki, K., Hiroaki, H., Kohda, D., and Tanaka, T. (1998) An isoleucine zipper peptide forms a native-like triple stranded coiled coil in solution. *Protein engineering* 11, 1051-1055

[5] Merrifield, R. B. (1964) Solid-Phase Peptide Synthesis. 3. An Improved Synthesis of Bradykinin. *Biochemistry* 3, 1385-1390

[6] Buwitt-Beckmann, U., Heine, H., Wiesmuller, K. H., Jung, G., Brock, R., Akira, S., and Ulmer, A. J. (2006) TLR1- and TLR6-independent recognition of bacterial lipopeptides. *The Journal of biological chemistry* 281, 9049-9057

[7] Riedel, T., Ghasparian, A., Moehle, K., Rusert, P., Trkola, A., and Robinson, J. A. (2011) Synthetic virus-like particles and conformationally constrained peptidomimetics in vaccine design. *Chembiochem : a European journal of chemical biology* 12, 2829-2836