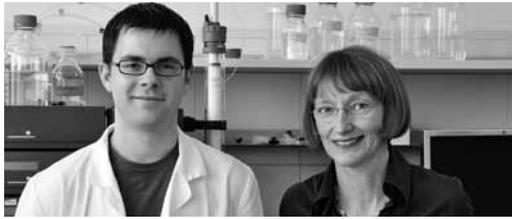


Entwicklung eines RSV-Virosomen-Impfstoffes



Iwo König, wissenschaftlicher Mitarbeiter,
iwo.koenig@zhaw.ch

Prof. Dr. Christiane Zaborosch, Dozentin für Biochemie,
christiane.zaborosch@zhaw.ch

Das Respiratory Syncytial Virus (RSV) ist der bedeutendste Erreger von schweren Atemwegsinfektionen bei Säuglingen und Kleinkindern. Schätzungsweise 50% aller Neugeborenen werden innerhalb ihres ersten Lebensjahres mit RSV infiziert, schlimmstenfalls kann die Erkrankung einen letalen Verlauf nehmen. RSV-Infektionen stellen ebenfalls ein signifikantes Problem bei älteren Menschen dar. Zur Behandlung einer RSV-Infektion existiert bis heute kein Impfstoff. Im Rahmen des Projektes soll in Zusammenarbeit mit der Firma Pevion Biotech ein Virosomen-Impfstoff gegen RSV entwickelt werden.

Suche nach einem Impfstoff

Bei RSV handelt es sich um ein Virus aus der Gruppe der Paramyxoviren, das hauptsächlich Epithelzellen der Atemwege befällt. Gegenwärtig werden RSV-infizierte Patienten mit antiviralen Medikamenten oder mit Virus neutralisierenden Antikörpern (Synagis) behandelt. Ein prophylaktischer Impfstoff könnte Infektionen mit RSV verhindern. Pevion Biotech entwickelt einen solchen Impfstoff, basierend auf einem Membranprotein (rRSV-F) des Virus, welches rekombinant hergestellt und in Virosomen eingebaut wird.

Virosomen-Technologie

Virosomen bestehen aus Lipidvesikeln, in welche Membranproteine des Influenza-Virus eingebettet sind, und dienen als Trägersysteme zur Herstellung von Impfstoffen gegen verschiedene Antigene. Zur Herstellung des RSV-Virosomen-Impfstoffes wird zusätzlich rRSV-F in die Virosomen-Membran integriert. Dies führt zu einer erhöhten Immunogenität des rRSV-F.

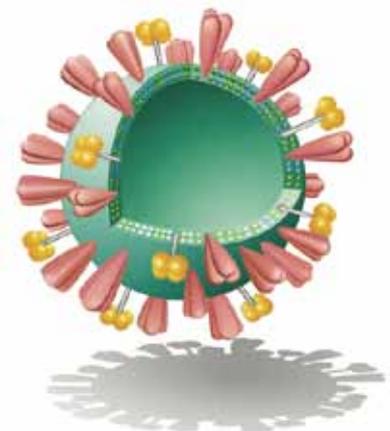
Rekombinante Proteinexpression und Downstream Processing

Das rRSV-F-Protein wurde rekombinant mittels transienter Expression in Säugerzellen hergestellt (Prof. Dr. F. Wurm, EPFL). Anschliessend wurde rRSV-F mittels drei Chromatographie-Schritten bei uns aufgereinigt. Das sehr komplexe trimere Transmembranprotein wurde zunächst mit einem Detergenz aus den Zellmembranen gelöst und mittels Ionenaustausch-

chromatographie grob gereinigt und aufkonzentriert. Mit den zwei folgenden Chromatographie-Schritten wurde eine Reinheit von > 95% bei guter Ausbeute erzielt. Für die Entwicklung des Aufreinigungsprozesses waren umfangreiche Screening-Tests unterschiedlicher Detergenzien und unterschiedlicher Chromatographie-Materialien und Bedingungen notwendig. Zudem musste ein skalierbarer Prozess entwickelt werden. Für die In-Process und Quality Control wurden verschiedene analytische Methoden eingesetzt. Zur Quantifizierung von rRSV-F wurde ein ELISA entwickelt. Die Reinheit und Identität von rRSV-F wurde mittels SDS-PAGE, Western Blot, HCP- und DNA-Analytik bestimmt. Des Weiteren wurden Analysen zum Glykosylierungsmuster vorgenommen.

Das von uns aufgereinigte rRSV-F-Protein wurde von Pevion Biotech zu einem Virosomen-Impfstoff formuliert und für Efficacy-Experimente in Mäusen eingesetzt. Die geimpften Mäuse produzierten Antikörper, die das RS-Virus neutralisierten, womit die Wirk-

samkeit des Impfstoffes gezeigt werden konnte. Im Weiteren ist ein Upscale und Prozesstransfer für Produktion von Material für klinische Studien gemäss GMP-Richtlinien geplant.



Modell eines Virosomen-Impfstoffes.
(©Pevion Biotech, 2007)



Tröpfcheninfektion

Forschungsprojekt

Development of an RSV vaccine based on recombinant RSV-F expressed in mammalian cells and formulated in influenza virosomes

| | |
|-----------------|--|
| Leitung ZHAW: | Prof. Dr. Christiane Zaborosch |
| Projektdauer: | 2 Jahre |
| Partner: | Pevion Biotech Ltd.; Laboratory of Cellular Biotechnology, EPFL, Prof. Dr. F. Wurm |
| Förderung: | Förderungsagentur für Innovation KTI, Bern |
| Projektvolumen: | CHF 1 100 000.– |