

Sachbericht zum Verwendungsnachweis

Förderkennzeichen: 01DP21014

Projekttitlel: Verbundprojekt: Charakterisierung der T-Zell-Immunität gegen SARS-CoV-2 in der südostasiatischen und europäischen Bevölkerung

Teilvorhaben: Peptidproduktion

Ausführende Stelle: Eberhard Karls Universität Tübingen
Universitätsklinikum und Medizinische Fakultät
Medizinische Klinik
KKE Translationale Immunologie

Projektleiter/-in: Prof. Dr. med. Juliane Walz

Teil I: Kurzbericht

1. Aufgabenstellung sowie wissenschaftlicher und technischer Stand

Das Hauptziel dieses Forschungsprojekts war die Identifizierung und Charakterisierung von SARS-CoV-2 T-Zell-Epitopen, sowie der T-Zell-Immunität gegen SARS-CoV-2 in südostasiatischen Populationen mit unterschiedlichen vorherrschenden HLA-Allotypen, sowohl für HLA-Klasse I als auch für HLA-DR Allele, um Einblicke in die zelluläre Immunantwort gegen SARS-CoV-2 in Populationen mit unterschiedlichen genetischen Hintergründen zu erlangen.

Zu Beginn des Projektes waren schon viele SARS-CoV-2 T-Zell-Epitope für HLA-Allele der europäischen und nordamerikanischen Population beschrieben, allerdings noch nicht für die südostasiatische Population. Auch war nicht bekannt wie sich unterschiedliche genetische Hintergründe auf die zelluläre Immunantwort gegen SARS-CoV-2 auswirken.

Obwohl die Gefährdung durch SARS-CoV-2 für die Gesundheit der Bevölkerung abgenommen hat, hat dieses transnationale Projekt nicht an Bedeutung verloren. Die Analyse von Unterschieden und Gemeinsamkeiten in den SARS-CoV-2 T-Zell-Antworten zwischen europäischen und südostasiatischen Populationen unterstützt zudem die Etablierung einer transnationalen Pipeline. Diese ermöglicht die beschleunigte Identifizierung und Charakterisierung von T-Zell-Epitopen und T-Zell-Immunität, und zudem das Design von Impfstoffen für künftig aufkommende und wiederauftauchende Krankheitserreger, die eine zukünftige Bedrohungen für die globale öffentliche Gesundheit darstellen könnten.

2. Ablauf des Vorhabens

Das Vorhaben war in die vier Ziele „Vorhersage und Herstellung potentieller SARS-CoV-2-T-Zell-Epitope für die prädominanten HLA Allotypen in Indonesien und Thailand“, „Identifizierung von SARS-CoV-2-spezifischen und kreuzreaktiven T-Zell-Epitopen in der indonesischen und thailändischen Bevölkerung bei COVID-19-Rekonvaleszenten“, „Charakterisierung des Phänotyps und der Funktionalität von SARS-CoV-2 spezifischen CD4⁺ und CD8⁺ T-Zellen“ und „Evaluation der diagnostischen und klinischen Relevanz von SARS-CoV-2-spezifischen T-Zell-Antworten“ aufgeteilt.

3. Wesentliche Ergebnisse sowie die Zusammenarbeit mit anderen Forschungseinrichtungen

Im Rahmen des freundlicherweise vom BMBF geförderten Projekts wurden potentielle SARS-CoV-2 T-Zell-Epitope für die 15 häufigsten HLA-Klasse I- (HLA A*02:03, A*02:07, A*24:07, A*33:03, A*34:01, B*13:01, B*15:02, B*15:13, B*15:21, B*18:01, B*35:05, B*38:02, B*44:03, -B*46:01, -B*58:01) sowie die 6 häufigsten HLA-DR-Allotypen (DRB1*04:05, DRB1*09:01, DRB1*12:02, DRB1*14:54, DRB1*15:02, DRB1*16:02) der südostasiatischen Bevölkerung mithilfe etablierter Algorithmen vorhergesagt. Dafür wurde die Proteinsequenz aller SARS-CoV-2 Proteine in 9-12 beziehungsweise 15 Aminosäure lange Peptide für HLA-Klasse I und für HLA-DR *in silico* verdaut. Die Vorhersage wurde mit den Algorithmen NetMHCpan 4.0 und netMHCIIpan 4.0 durchgeführt. Die Allele-Auswahl ermöglicht eine Abdeckung mit mindestens einem HLA-Klasse-I- und einem HLA-DR-Allotyp für 91,4% beziehungsweise 76,1% der südostasiatischen Bevölkerung.

Anschließend wurden 145 potentielle T-Zell-Epitope für diese vorherrschenden Allotypen synthetisiert und an die Projektpartner in Indonesien und Thailand versandt. Die ausgewählten Epitope stammen aus unterschiedlichen SARS-CoV-2-Proteinen – darunter Spike-, Nucleocapsid-, Membran- und Hüllproteine (Envelope) – um eine möglichst breite Abdeckung potenzieller T-Zell-Antworten sicherzustellen.

Das indonesische Team (Dr. Marsia Gustiananda) und das thailändische Team (Dr. Jaturong Sewatanon) haben anschließend die Validierung der vorhergesagten T-Zell-Epitope mittels IFN- γ ELISpot Assays nach 12-Tages Expansion in geimpften und genesenen Probanden nach Infektion durchgeführt. Es konnten sowohl in der geimpften als auch in der genesenen Kohorte Gedächtnis-T-Zellen gegen diese vorhergesagte T-Zell-Epitope nachgewiesen werden und somit das Set an immunogenen SARS-CoV-2-abgeleiteten T-Zell-Epitope maßgeblich erweitert werden.

Leider konnten aufgrund der fehlenden Förderung des thailändischen Projektpartners viele Arbeiten nur verzögert oder gar nicht erfolgen.

Neben diesen Experimenten konnten wir die SARS-CoV-2-spezifische T-Zell-Immunität vor allem in Hinblick auf deren Bedeutung bei Krebspatienten weiter beleuchten und einen Impfstoffkandidaten entwickeln, welcher in zwei klinischen Studien erfolgreich getestet wurde.

Teil II: Eingehende Darstellung

Die COVID-19 Pandemie stellte eine ernste Bedrohung für die Weltbevölkerung mit dramatischen sozioökonomischen Folgen dar. Die Immunität nach einer SARS-CoV-2-Infektion ist entscheidend für den individuellen Langzeitschutz bei einer erneuten Virusexposition, und ermöglicht letztendlich Übertragungsraten zu reduzieren und Herdenimmunität zu erreichen. Darüber ermöglicht die Aufklärung der immunologischen Mechanismen, die der potenziellen Entwicklung einer schützenden Immunität im Verlauf der COVID-19 Erkrankung zugrunde liegen, das Design von wirksamen SARS-CoV-2-Impfstoffen und -Behandlungen. T-Zellen spielen eine zentrale Rolle bei der Kontrolle viraler Infektionen und sorgen für ein immunologisches Gedächtnis, welches einen langanhaltenden Schutz ermöglicht. Hierfür ist die Erkennung viraler Antigene in Form von kurzen Peptiden, die auf humanen Leukozytenantigenen (HLA) präsentiert werden, entscheidend. In vorhergehenden Studien konnten wir SARS-CoV-2-spezifische und kreuzreaktive CD4⁺ und CD8⁺ T-Zell-Epitope für die in der europäischen und nordamerikanischen Population häufigsten HLA-Allotypen charakterisieren und deren Relevanz für die Immunität und den Verlauf der COVID-19 Erkrankung analysieren (Nelde *et al.* 2021 Nature Immunology). Um den Pool an möglichen SARS-CoV-2 T-Zell-Epitopen auf weitere Populationen zu erweitern, wurde der Fokus dieses Verbundprojektes auf die in Südostasien vorherrschenden HLA Allotypen gelegt.

Vorhersage und Herstellung potentieller SARS-CoV-2-T-Zell-Epitope für die prädominanten HLA Allotypen in Indonesien und Thailand

In Zusammenarbeit mit dem Kooperationspartnern in Indonesien konnten für die 15 häufigsten HLA-Klasse I- (HLA A*02:03, A*02:07, A*24:07, A*33:03, A*34:01, B*13:01, B*15:02, B*15:13, B*15:21, B*18:01, B*35:05, B*38:02, B*44:03, -B*46:01, -B*58:01) sowie die 6 häufigsten HLA-DR-Allotypen (DRB1*04:05, DRB1*09:01, DRB1*12:02, DRB1*14:54, DRB1*15:02, DRB1*16:02) der südostasiatischen Bevölkerung mithilfe etablierter Algorithmen über 3000 Peptide identifiziert werden, die als potentielle SARS-CoV-2 T-Zell-Epitope für die südostasiatische Bevölkerung in Frage kommen. Dafür wurde die Proteinsequenz aller SARS-CoV-2 Proteine der Referenzsequenz Wuhan Hu-1 in 8 - 11 beziehungsweise 15 Aminosäure lange Peptide für HLA-Klasse I und für HLA-DR *in silico* verdaut. Die Vorhersage wurde mit den Algorithmen netCTLpan 1.1 und netMHCIIpan 4.0 durchgeführt. Für HLA-DR-präsentierte Peptide wurden Peptide priorisiert ausgewählt, welche Cluster bilden und so mehrere HLA Allele abdecken. Die Auswahl der HLA-Allele ermöglicht eine Abdeckung mit mindestens einem HLA-Klasse-I- und einem HLA-DR-Allotyp für 91,4% beziehungsweise 76,1% der südostasiatischen Bevölkerung. Aus Machbarkeitsgründen wurden davon 145 Peptidsequenzen an das Wirkstoffpeptidlabor zur Synthese weitergeleitet, 34 Peptide für HLA-Klasse II Allotypen, 111 für HLA-Klasse I Allotypen. Die ausgewählten Epitope stammen aus unterschiedlichen SARS-CoV-2-Proteinen – darunter Spike-, Nucleocapsid-, Membran- und Hüllproteine (Envelope) – um eine möglichst breite Abdeckung potenzieller T-Zell-Antworten sicherzustellen (Meilenstein 1, AP1).

Im Wirkstoffpeptidlabor der Abteilung für Peptid-basierte Immuntherapie von Prof. Dr. med. Juliane Walz konnten 139 Peptide der Vorauswahl hergestellt werden und den Projektpartnern in Indonesien und Thailand zur Verfügung gestellt werden (Meilenstein 2, AP1).

Zur weiteren Charakterisierung der ausgewählten SARS-CoV-2-Peptide wurden Sequenzalignments mit anderen Viren durchgeführt. Es konnte gezeigt werden, dass es übereinstimmende Aminosäuresequenzen von T-Zell-Epitopen des SARS-CoV-2 mit untersuchten Erkältungs-Coronaviren (CCC = Common Cold Coronaviruses) gibt. Ein Vergleich von SARS-CoV-2 Sequenzen mit MVR (Masern, Mumps, Rubella) und

BCG (Bacillus Galmette-Guerin) ergab ähnliche Muster, die sich nur in 2 bis 4 Aminosäuren unterschieden. Keine Überschneidung gab es im Vergleich zur Sequenz des OPV (Oraler Polio Virus). Die Ergebnisse wurden in einem internationalen Journal veröffentlicht (Gustiananda *et al.* 2022 Viruses, Meilenstein 1, AP1).

Identifizierung von spezifischen und kreuzreaktiven SARS-CoV-2-T-Zell-Epitopen in COVID-19 Rekonvaleszenten

Identifizierung von spezifischen und kreuzreaktiven SARS-CoV-2-T-Zell-Epitopen in COVID-19 Rekonvaleszenten für die südostasiatischen HLA-Allotypen wurde primär in Indonesien und Thailand durchgeführt. Hauptprojektkoordinatorin Dr. Marsia Gustiananda konnte zur Identifizierung von kreuzreaktiven SARS-CoV-2-T-Zell-Epitopen Ergebnisse in einem internationalen Journal veröffentlichen (Gustiananda *et al.* 2022 Viruses, Meilensteine 3 und 4, AP2).

Die indonesischen Projektpartner konnten insgesamt 48 Studienteilnehmer einschließen. Von den untersuchten Personen hatten 35 Spender eine vorhergehende SARS-CoV-2-Infektion, 13 hatten keine nachgewiesene Infektion mit SARS-CoV-2. Alle 48 Spender waren geimpft. Die PBMCs der Spender wurden mittels IFN- γ ELISpot Assays nach einer 12-tägigen Peptid-spezifischen Expansion auf SARS-CoV-2-Peptid-spezifische T-Zellen hin untersucht. Dabei konnte gezeigt werden, dass die Erkennungsrate der Peptide in der nicht infizierten Kohorte mit 77% sehr hoch ist. Insgesamt konnten SARS-CoV-2 Peptid-spezifische Antworten für 80% der getesteten Peptide und kreuzreaktive SARS-CoV-2 Peptid-spezifische Antworten für 40% der getesteten Peptide gezeigt werden.

Neben der oben beschriebenen *in silico* Vorhersage von potentiellen SARS-CoV-2 T-Zell-Epitopen nutzen wir unsere Expertise in der Massenspektrometrie-basierten Immunozeptidomanalyse, um natürlich präsentierte SARS-CoV-2-abgeleitete HLA-restringierte Peptide zu identifizieren. Dazu nutzen wir Plasmaproben von COVID-19 Patienten. Im Plasma liegen lösliche HLA-Moleküle vor, die von verschiedensten Zellen und Geweben stammen und deren gebundene Peptide (das sogenannte Immunozeptidom) somit ein Abbild verschiedenster Gewebe sind. Hier konnten wir drei Peptidsequenzen identifizieren, von denen ein sHLA-Klasse II-restringiertes Peptid aus der C-terminalen Region des Nucleoproteins von SARS-CoV-2 validiert werden konnte (Nelde *et al.* 2022 iScience, Meilensteine 3 und 4, AP2).

Charakterisierung des Phänotyps und der Funktionalität von SARS-CoV-2 spezifischen CD4⁺ und CD8⁺ T-Zellen sowie die Evaluation der diagnostischen und klinischen Relevanz von SARS-CoV-2-spezifischen T-Zell-Antworten

Die Charakterisierung des Phänotyps und der Funktionalität von SARS-CoV-2 spezifischen CD4⁺ und CD8⁺ T-Zellen, welche SARS-CoV-2 Peptide erkennen, die auf HLA-Allotypen der südostasiatischen Bevölkerung präsentiert werden, wurden primär in Indonesien und Thailand durchgeführt, leider konnten aufgrund der fehlenden Förderung des thailändischen Projektpartners viele Arbeiten nur verzögert oder gar nicht erfolgen.

In geimpften Probanden, die mit einem der zugelassenen COVID-19 Vakzinen geimpft waren, konnten wir zeigen, dass die verschiedenen Vakzinierungsstrategien alle eine langanhaltende und breite Spike-spezifische CD4⁺ und CD8⁺ T-Zell-Immunität gegen SARS-CoV-2 induzieren, die über 6 Monate stabil bleibt. Eine Booster-Vakzinierung ist deshalb nur für die Erhaltung der Antikörper-Antwort notwendig, welche im

Gegensatz zur T-Zell-Antwort 6 Monate nach Vakzinierung signifikant abfällt (Maringer *et al.* 2022 *Sci Immunol*, Meilenstein 5, AP3, Meilenstein 10, AP4).

Darüber hinaus isolierten und charakterisierten wir SARS-CoV-2-spezifische T-Zell-Rezeptoren (TCRs) für HLA-A*02:01 und HLA-A*24:02-restringierte Peptide aus COVID-19 Konvaleszenten. Diese TCRs waren hoch funktional nach ektopischer Reexpression und vermittelten ein potentes TCR Signaling (Brunk *et al.* 2021 *Eur J Immunol*, Meilenstein 7, AP3).

Des Weiteren konnten wir zeigen, dass COVID-19 Patienten eine erhöhte Menge löslicher HLA-Moleküle in ihrem Serum vorliegen haben. Interessanterweise korrelierten die Serumspiegel dieses löslichen HLAs direkt mit der Diversität des entsprechenden Immunoepitoms und mit der SARS-CoV-2-gerichteten T-Zell-Immunität (Nelde *et al.* 2022 *iScience*, Meilenstein 9, AP4).

In einer weiteren Studie konnten wir zeigen, dass die Intensität, Expansionsfähigkeit und Vielfalt der SARS-CoV-2-T-Zell-Reaktionen bei Krebspatienten stark reduziert sind und dies auch mit einem schweren Verlauf der COVID-19 Erkrankung assoziiert ist, wohingegen sich die SARS-CoV-2 Antikörper-Antwort während einer COVID-19 Erkrankung nicht zwischen gesunden Probanden und Patienten mit soliden Tumoren unterscheiden. Nicht exponierte Patienten mit hämatologischen Erkrankungen wiesen im Vergleich zu Patienten mit soliden Tumoren und gesunden Probanden eine geringere Prävalenz bereits vorhandener kreuzreaktiver SARS-CoV-2 CD4⁺ T-Zell-Antworten und Anzeichen einer T-Zell-Erschöpfung auf (Bilich *et al.* 2021 *Cancer Discov*, Meilenstein 5, AP3, Meilensteine 9, AP4). Diese und andere Arbeiten verdeutlichten die große Bedeutung weitere therapeutische Ansätze insbesondere für diese vulnerable Patientengruppe zu entwickeln.

Um die identifizierten und charakterisierten SARS-CoV-2 T-Zell-Antigene therapeutisch nutzen zu können, entwickelten wir den Impfstoffkandidat CoVac-1. CoVac-1 setzt sich aus mehreren zuvor charakterisierten SARS-CoV-2 HLA-DR T-Zell-Epitopen zusammen, die von verschiedenen viralen Proteinen (Spike, Nucleocapsid, Membrane, Envelope und open reading frame 8 (ORF8)) abgeleitet sind. Bei diesen Epitopen konnten wir nachweisen, dass sie häufig und HLA-unabhängig von T-Zellen bei rekonvaleszenten Personen nach COVID-19 erkannt werden, von pathophysiologischer Relevanz für die T-Zell-Immunität zur Bekämpfung von COVID-19 sind und eine Langzeitimmunität nach der Infektion vermitteln (Bilich *et al.* 2021 *Sci Transl Med*, Nelde *et al.* 2021 *Nature Immunology*, Meilenstein 5, AP3, Meilensteine 9 und 10, AP4). Die CoVac-1-Impfstoffpeptide sind mit dem neuartigen Toll-like-Rezeptor (TLR) 1/2-Agonisten XS15 in Montanide ISA51 VG emulgiert, das die Aktivierung und Reifung von Antigen-präsentierenden Zellen fördert und den sofortigen Abbau der Impfstoffpeptide verhindert, wodurch eine starke T-Zellen-Antwort induziert werden kann. In zwei Phase I und Phase I/II Studien in gesunden Probanden und Patienten mit B-Zell- oder Antikörper-Defizienz konnten wir zeigen, dass CoVac-1 ein hervorragendes Sicherheitsprofil aufweist und eine breite und potente T-Zell-Antwort induziert (Heitmann *et al.* 2022 *Nature*, Heitmann *et al.* 2023 *Nat Commun*, Tandler *et al.* 2024 *Int J Infect Dis*, Meilenstein 5, AP3, Meilensteine 9 und 10, AP4).

Literatur

Bilich T, Nelde A, Heitmann JS, Maringer Y, Roerden M, Bauer J, Rieth J, Wacker M, Peter A, Hörber S, Rachfalski D, Märklin M, Stevanović S, Rammensee HG, Salih HR, Walz JS. T cell and antibody kinetics delineate SARS-CoV-2 peptides mediating long-term immune responses in COVID-19 convalescent individuals. *Sci Transl Med* 2021; 13(590)

Bilich T, Roerden M, Maringer Y, Nelde A, Heitmann JS, Dubbelaar ML, Peter A, Hörber S, Bauer J, Rieth J, Wacker M, Berner F, Flatz L, Held S, Brossart P, Märklin M, Wagner P, Erne E, Klein R, Rammensee

- HG, Salih HR, Walz JS. Preexisting and Post-COVID-19 Immune Responses to SARS-CoV-2 in Patients with Cancer. *Cancer Discov* 2021; 11(8): 1982
- Brunk F, Moritz A, Nelde A, Bilich T, Casadei N, Fraschka SAK, Heitmann JS, Hörber S, Peter A, Rammensee HG, Singh H, Walz J, Maurer D, Wagner C. SARS-CoV-2-reactive T-cell receptors isolated from convalescent COVID-19 patients confer potent T-cell effector function. *Eur J Immunol* 2021; 51(11): 2651
- Gustiananda M, Julietta V, Hermawan A, Febriana GG, Hermantara R, Kristiani L, Sidhartha E, Sutejo R, Agustriawan D, Andarini S, Parikesit AA. Immunoinformatics Identification of the Conserved and Cross-Reactive T-Cell Epitopes of SARS-CoV-2 with Human Common Cold Coronaviruses, SARS-CoV, MERS-CoV and Live Attenuated Vaccines Presented by HLA Alleles of Indonesian Population. *Viruses* 2022; 14(11)
- Heitmann JS, Bilich T, Tandler C, Nelde A, Maringer Y, Marconato M, Reusch J, Jäger S, Denk M, Richter M, Anton L, Weber LM, Roerden M, Bauer J, Rieth J, Wacker M, Hörber S, Peter A, Meisner C, Fischer I, Löffler MW, Karbach J, Jäger E, Klein R, Rammensee H-G, Salih HR, Walz JS. A COVID-19 peptide vaccine for the induction of SARS-CoV-2 T cell immunity. *Nature* 2022; 601(7894): 617
- Heitmann JS, Tandler C, Marconato M, Nelde A, Habibzada T, Rittig SM, Tegeler CM, Maringer Y, Jaeger SU, Denk M, Richter M, Oezbek MT, Wiesmüller KH, Bauer J, Rieth J, Wacker M, Schroeder SM, Hoenisch Gravel N, Scheid J, Märklin M, Henrich A, Klimovich B, Clar KL, Lutz M, Holzmayer S, Hörber S, Peter A, Meisner C, Fischer I, Löffler MW, Peucker CA, Habringer S, Goetze TO, Jäger E, Rammensee HG, Salih HR, Walz JS. Phase I/II trial of a peptide-based COVID-19 T-cell activator in patients with B-cell deficiency. *Nat Commun* 2023; 14(1): 5032
- Maringer Y, Nelde A, Schroeder SM, Schuhmacher J, Hörber S, Peter A, Karbach J, Jäger E, Walz JS. Durable spike-specific T cell responses after different COVID-19 vaccination regimens are not further enhanced by booster vaccination. *Sci Immunol* 2022; 7(78): eadd3899
- Nelde A, Bilich T, Heitmann JS, Maringer Y, Salih HR, Roerden M, Lübke M, Bauer J, Rieth J, Wacker M, Peter A, Hörber S, Traenkle B, Kaiser PD, Rothbauer U, Becker M, Junker D, Krause G, Strengert M, Schneiderhan-Marra N, Templin MF, Joos TO, Kowalewski DJ, Stos-Zweifel V, Fehr M, Rabsteyn A, Mirakaj V, Karbach J, Jäger E, Graf M, Gruber L-C, Rachfalski D, Preuß B, Hagelstein I, Märklin M, Bakchoul T, Gouttefangeas C, Kohlbacher O, Klein R, Stevanović S, Rammensee H-G, Walz JS. SARS-CoV-2-derived peptides define heterologous and COVID-19-induced T cell recognition. *Nature Immunology* 2021; 22(1): 74
- Nelde A, Rieth J, Roerden M, Dubbelaar ML, Hoenisch Gravel N, Bauer J, Klein R, Hoheisel T, Mahrhofer H, Göpel S, Bitzer M, Hörber S, Peter A, Heitmann JS, Walz JS. Increased soluble HLA in COVID-19 present a disease-related, diverse immunopeptidome associated with T cell immunity. *iScience* 2022; 25(12): 105643
- Tandler C, Heitmann JS, Michel TM, Marconato M, Jaeger SU, Tegeler CM, Denk M, Richter M, Oezbek MT, Maringer Y, Schroeder SM, Schneiderhan-Marra N, Wiesmüller KH, Bitzer M, Ruetalo N, Schindler M, Meisner C, Fischer I, Rammensee HG, Salih HR, Walz JS. Long-term efficacy of the peptide-based COVID-19 T cell activator CoVac-1 in healthy adults. *Int J Infect Dis.* 2024; 139:69-77

Teil III: Erfolgskontrollbericht

1. Wissenschaftlich-technische Ergebnis des Vorhabens, die erreichten Nebenergebnisse und die gesammelten wesentlichen Erfahrungen

Im Rahmen des freundlicherweise vom BMBF geförderten Projekts wurden potentielle SARS-CoV-2 T-Zell-Epitope für die 15 häufigsten HLA-Klasse I- (HLA A*02:03, A*02:07, A*24:07, A*33:03, A*34:01, B*13:01, B*15:02, B*15:13, B*15:21, B*18:01, B*35:05, B*38:02, B*44:03, -B*46:01, -B*58:01) sowie die 6 häufigsten HLA-DR-Allotypen (DRB1*04:05, DRB1*09:01, DRB1*12:02, DRB1*14:54, DRB1*15:02, DRB1*16:02) der südostasiatischen Bevölkerung mithilfe etablierter Algorithmen vorhergesagt. Dafür wurde die Proteinsequenz aller SARS-CoV-2 Proteine in 9-12 beziehungsweise 15 Aminosäure lange Peptide für HLA-Klasse I und für HLA-DR *in silico* verdaut. Die Vorhersage wurde mit den Algorithmen NetMHCpan 4.0 und netMHCIIpan 4.0 durchgeführt. Die Allele-Auswahl ermöglicht eine Abdeckung mit mindestens einem HLA-Klasse-I- und einem HLA-DR-Allotyp für 91,4% beziehungsweise 76,1% der südostasiatischen Bevölkerung.

Anschließend wurden 145 potentielle T-Zell-Epitope für diese vorherrschenden Allotypen synthetisiert und an die Projektpartner in Indonesien und Thailand versandt. Die ausgewählten Epitope stammen aus unterschiedlichen SARS-CoV-2-Proteinen – darunter Spike-, Nucleocapsid-, Membran- und Hüllproteine (Envelope) – um eine möglichst breite Abdeckung potenzieller T-Zell-Antworten sicherzustellen.

Das indonesische Team (Dr. Marsia Gustiananda) und das thailändische Team (Dr. Jaturong Sewatanon) haben anschließend die Validierung der vorhergesagten T-Zell-Epitope mittels IFN- γ ELISpot Assays nach 12-Tages Expansion in geimpften und genesenen Probanden nach Infektion durchgeführt. Es konnten sowohl in der geimpften als auch in der genesenen Kohorte Gedächtnis-T-Zellen gegen diese vorhergesagte T-Zell-Epitope nachgewiesen werden und somit das Set an immunogenen SARS-CoV-2-abgeleiteten T-Zell-Epitope maßgeblich erweitert werden.

2. Fortschreibung des Verwertungsplans

a. Erfindungen/Schutzrechtsanmeldungen und erteilte Schutzrechte

Es wurden keine Erfindungen oder Patente angemeldet.

b. Wirtschaftliche Erfolgsaussichten nach Projektende (mit Zeithorizont)

Die in diesem Projekt identifizierten und charakterisierten SARS-CoV-2-T-Zell-Epitope können für verschiedenste diagnostische und therapeutische Ansätze genutzt werden. SARS-CoV-2-T-Zell-Epitope sind vielversprechende Zielstrukturen für verschiedenste adoptive Immuntherapiekonzepte, wie zum Beispiel prophylaktische und therapeutische Vakzine zur Induktion Virus-spezifischer T-Zellen, wobei letztere neben der direkten antiviralen Wirkung auch eine rasche Antikörperbildung unterstützen können, oder die Selektion einzelner Peptide als Grundlage für die Herstellung und den Transfer therapeutischer T-Zellen oder TCRs sowie theoretisch auch TCR-ähnlicher Antikörper oder auch Adapter-CAR-T-Zellen.

c. Wissenschaftliche und/oder technische Erfolgsaussichten nach Projektende (mit Zeithorizont)

Die COVID-19-Pandemie hat eine enorme Herausforderung für die Gesellschaft weltweit dargestellt. Neben der positiven Auswirkung des Projekts auf die Entwicklung neuartiger Diagnostik- und Therapieansätze können die neuen Erkenntnisse zur SARS-CoV-2-Immunität einen allgemeineren Einfluss auf die Gesellschaft haben. Die schützende Immunität nach der SARS-CoV-2-Infektion ist entscheidend für

den langfristigen individuellen Schutz bei einer erneuten Virusexposition. Dies ist umso wichtiger, um die Übertragungsraten zu reduzieren und letztlich eine Herdenimmunität für die Gemeinschaft zu erreichen. Das Wissen über die langanhaltende Immunität und die Rolle der kreuzreaktiven SARS-CoV-2-T-Zell-Antworten in verschiedenen Populationen und ethnischen Gruppen ist wichtig, um zukünftige Entscheidungen der Regierungen über soziale Einschränkungen in Bezug auf Bildung, Reisen und gesellschaftliche Zusammenkünfte mit grundlegenden Auswirkungen auf die Wirtschaft und den individuellen Lebensstil im Allgemeinen zu lenken, nicht nur bei SARS-CoV-2, sondern auch bei eventuell neu auftretenden Virus-Pandemien.

d. Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit für eine mögliche notwendige nächste Phase bzw. die nächsten innovatorischen Schritte zur erfolgreichen Umsetzung der Ergebnisse

Nicht zuletzt würde durch die Umsetzung dieses Projektes eine Pipeline geschaffen werden, die auch für zukünftige Pandemien aktiviert werden kann und so noch viel früher die Entwicklung diagnostischer und therapeutischer Maßnahmen unterstützen kann.

e. Angaben zu Arbeiten, die zu keiner Lösung geführt haben

n.a.

f. Angaben über die Einhaltung der Ausgaben- und der Zeitplanung

Der Finanz- und Zeitplan wurde eingehalten.