

Yueru Zhang  
Dr.med.

## **The Impact of Epitope-Linking Spacers on the Structure and Immunogenicity of a Prophylactic Antigen against Human Papillomavirus**

Fach/Einrichtung: Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ)  
Doktorvater: Herr Prof. Dr. Frank Rösl

Prophylaktische Impfstoffe gegen humane Papillomaviren (HPV) können gegen das Hauptkapsidprotein L1 oder das Nebenkapsidprotein L2 gerichtet sein. Die zugelassenen Impfstoffe gegen HPV basieren auf Virus-ähnlichen L1-Partikeln (VLPs), die einen hohen Schutz gegen die HPV-Impfstofftypen bewirken. Die VLPs lösen jedoch keine breit neutralisierenden Antikörperreaktionen aus und erfordern komplizierte Verfahren für die Herstellung und Logistik. Daher wird eine neue Generation von prophylaktischen HPV-Impfstoffen mit breiterer Wirksamkeit gesucht. Solche Impfstoffe könnten auf dem HPV-L2-Protein basieren, das ein hochkonserviertes immunogenes Epitop als Ziel für neutralisierende Antikörper enthält. Bei den Antigenkandidaten meines Projekts handelt es sich um das Trx-L2m8mer-OVX313, das aus HPV-L2-Epitopen von acht mukosalen, onkogenen HPVs besteht, sowie das Trx-L2c6mer-OVX313 und das Trx-L2c12mer-OVX313 mit HPV-L2-Epitopen von sechs bzw. zwölf kutanen HPVs. Die Impfstoffkandidaten sind in der Lage, neutralisierende Antikörper in ausreichender Quantität und Qualität gegen eine Reihe von HPV-Typen hervorzurufen, wenn auch mit suboptimalen Werten für einige spezifische HPV-Typen. Das Hauptziel meines Projekts war es, herauszufinden, ob die Modifizierung der *Spacer*, die die Epitope verbinden, die Immunogenität bestimmter Epitope verbessern könnte.

Als *Spacer* bezeichnet man eine Gruppe von Aminosäuren, die Epitope oder Proteindomänen miteinander verbinden, ohne die Funktion deren zu beeinträchtigen. Sie werden in flexible, starre oder spaltbare *Spacer* unterschiedlicher Länge unterteilt. In meinem Projekt wurde eine breite Palette von *Spacern* untersucht, von einfachen Glycin-Prolin-*Spacern* bis hin zu komplexeren *Spacern* mit positiver Nettoladung, den so genannten "supercharged *Spacern*". Die Ergebnisse zeigen, dass die *Spacer* die Eigenschaften der Antigene, die Epitop-Präsentation im rekombinanten Protein und auch die Immunogenität des Antigens beeinflussen. Ein *Spacer* mittlerer Länge mit einer starren Struktur erwies sich als günstig für die Verbindung der Epitope in einem Impfstoff auf der Basis rekombinanter Proteinketten, um eine ausreichende Immunogenität zu erreichen. Es wurde beobachtet, dass die Avidität eines Antigens gegenüber einem monoklonalen Antikörper eine statistisch signifikante Korrelation mit der Immunogenität des Antigens *in vivo* aufweist. Daher kann der Affinitätstest eines

Antigenkandidaten zu einem monoklonalen Antikörper, der *in vitro* mittels *Surface Plasmon Resonance* durchgeführt wird, das Potenzial haben, die Antigene Eigenschaft des Kandidaten *in vivo* vorherzusagen.

Insgesamt deuten die Ergebnisse meines Projekts darauf hin, dass eine sorgfältige Auswahl des Spacers die Faltung und Epitop-Präsentation des rekombinanten Proteinantigens verbessern kann. Diese Verbesserung könnte zu einer erhöhten Immunogenität des Antigens *in vivo* führen. Darüber hinaus könnte auf der Grundlage eines Aviditätstests, unter Verwendung der *Surface Plasmon Resonance* in Kombination mit neutralisierenden monoklonalen Antikörpern, ein In-vitro-Vorhersageinstrument entwickelt werden, das die In-vivo-Antigenimmunogenität vorhersagen kann.