

Aiman Gamal Abdelrahim

Dr. med.

A mosquito transmittable blood stage attenuated malaria parasite for experimental vaccination

Fach: Hygiene

Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. Friedrich Frischknecht

Malaria ist eine Krankheit die von Parasiten aus der Plasmodium Spezies ausgelöst wird. Sie ist einer der größten infektiösen Probleme der Menschheit. Jährlich infizieren sich mehr als 200 Millionen Menschen mit dem Parasiten, wovon mehr als 600 Tausend Menschen sterben. Am meisten betroffen sind Kinder unter 5 Jahren und Risikogruppen. Dies verdeutlicht, warum die WHO das Ziel gesetzt hat Malaria bis zu dem Jahr 2050 auszulöschen. Einen wichtigen Stellenwert in diesem Vorhaben stellen Impfstoffe dar mit einer Wirksamkeit von mindestens 75%. Das zurzeit einzig zugelassene Vakzin RTS,S/AS01 erfüllt dieses Kriterium nicht. Allerdings gibt es viele andere Ansatzweisen für ein Impfstoff, die sich der Biologie des Lebenszyklus bedienen oder Methoden benutzen wie Totimpfstoffe, Lebendimpfstoffe oder mRNA-Impfstoffe.

In dieser Thesis wird ein Ansatz verwendet, der auf einen genetisch abgeschwächten Parasiten als Lebendimpfstoff abzielt, indem einzelne ausgesuchte Gene gelöscht werden, die das Blutstadium beeinflussen. Das Ziel ist es eine klonale Linie zu erzeugen, die langsam im Blutstadium wächst und dadurch eliminiert wird und darüber hinaus eine Immunantwort erzeugt, welche gegen Malaria schützt. Die Linie soll zusätzlich in der Lage sein den Lebenszyklus des Parasiten zu vollenden, um als Sporozoiten injiziert werden zu können und sich so möglicherweise selbständig durch Moskitos ausbreiten lässt.

Hierfür wurden fünf Linien erzeugt, *cpg(-)*, *vp1(-)*, *hgprt(-)*, *dgk(-)* und *dpap1(-)*. Die ersten vier dieser Linie wurden weiterhin untersucht. Außerdem wurde ein vorheriger Klon weiter begutachtet. Die klonalen Linien wurden im Mausmodell erzeugt unter der Benutzung des Nagetier Parasiten *P. berghei*.

cpg(-) hatte keinen signifikanten Unterschied zu einer Wildtypinfektion. Der Klon wuchs ähnlich schnell und die Mäuse starben in Folge der Infektion. Allerdings war der Klon in der Lage den Lebenszyklus zu beenden. Ähnlich hat es sich mit *vp1(-)* verhalten. Dieser Klon war ebenfalls in der Lage den Lebenszyklus zu vollenden und Mäuse starben in Folge der Infektion,

jedoch war dieser Klon in der Lage im Blutstadium langsamer zu wachsen. Im Gegensatz dazu konnte die Infektion mit *hgprt*(-) überstanden werden und der Klon zeigte den langsamsten Phänotyp im Blutstadium. Der Klon konnte Mäuse dennoch nicht vor einer Wildtypinfektion schützen und war zusätzlich nicht in der Lage sexuelle Stadien zu bilden. Andererseits war *dgk*(-) in der Lage Mäuse vor Malaria zu schützen. Die Mäuse überlebten eine Infektion mit dem Klon und waren 180 Tage später in der Lage eine Infektion mit dem Wildtypparasiten zu kurieren. Dieser Klon zeigte ebenfalls ein langsames Wachstum im Blut, jedoch waren Sporozoitien des Klons nicht in der Lage in die Speicheldrüse der Moskitos einzudringen.

sr140(-) war ein Klon der von Lukas Keiber erzeugt wurde. Es zeigte ein Entwicklungsdefizit, da es keine Oozysten in den Moskitos bildete. In dieser Thesis wurde der Klon weiterhin untersucht. Der Klon war ebenfalls in der Lage Mäuse 90 Tage nach der Impfung vor einer Wildtyp Infektion zu schützen. Bezüglich des Entwicklungsdefizits zeigte sich, dass der Klon zwar in der Lage war sexuelle Stadien zu bilden, jedoch waren die männlichen Stadien infertil, wohingegen die weiblichen Stadien keinen Defizit aufwiesen. Um diesen Umstand zu beseitigen, wurde ein Vektor mit einem männlich-spezifischen Promoter erzeugt. Dies sollte dazu führen, dass das Gen in den männlichen Stadien transkribiert wird aber in den anderen Stadien ausgeschaltet bleibt, um die immunisierenden Fähigkeiten zu behalten. Bis zum Ende der Thesis, war ich nicht in der Lage eine klonale Linie zu erzeugen.

Neben dem Promoter Austausch und der Löschung einzelner Gene, gibt es auch die Möglichkeit Gene herunterzuregulieren oder mehrere Gene gleichzeitig zu löschen, um einen Klon mit den gewünschten Eigenschaften zu kreieren. Diese Thesis konnte zeigen, dass genetisch abgeschwächte Parasiten in der Lage sind Immunität aufzubauen und stellt dadurch die Grundlage für einen weiteren Impfstoffansatz. Die Immunmechanismen müssen noch weiter untersucht werden, um die Wirksamkeit von Impfstoffen zu verbessern.

Letztlich, müssen die Erkenntnisse aus dieser Thesis auf den humanen Malariaparasiten *P. falciparum* übertragen werden, um einen schützenden Impfstoff für die Menschheit zu entwickeln.