

Effektive virusvaksiner for laksefisk; hva må til for å lykkes?

Vaksineutvikling 1: Plattform for viral aquamedisin

Vaksineutvikling 2: Nye prinsipper for å bekjempe ILA

Siri Mjaaland, Folkehelseinstituttet

Stand-in: Unni Grimholt, UiO

Kunnskapsplattform for viral akvamedisin

Virus – vert interaksjoner

Havbruk 185217/S40; 2008-2012

Partnere:

Siri Mjaaland, VI/FHI (koordinator)

Jorunn Jørgensen, NFH, UiT

Børre Robertsen, NFH, UiT

Unni Grimholt, UiO



Anvendelse av et nytt vaksineprinsipp for å bekjempe Infeksiøs lakseanemi

Havbruk: Prosjektnr. 206965

Partnere:

Vet.Inst:

Siri Mjaaland
Helena Hauge

UiO:

Unni Grimholt
Hege Bakke

Samarbeidspartnere:

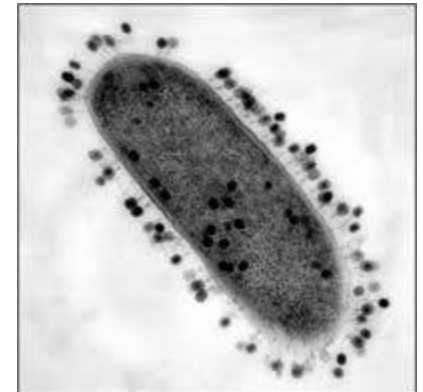
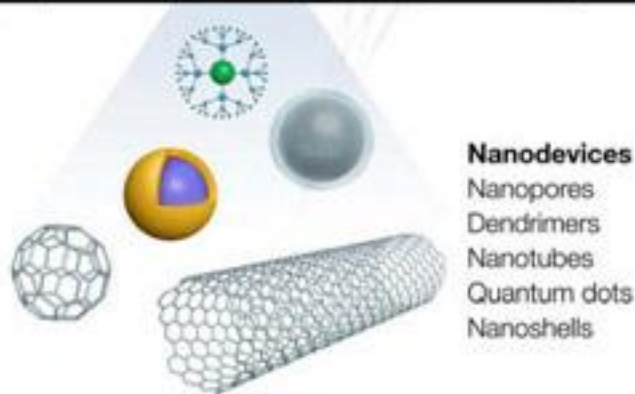
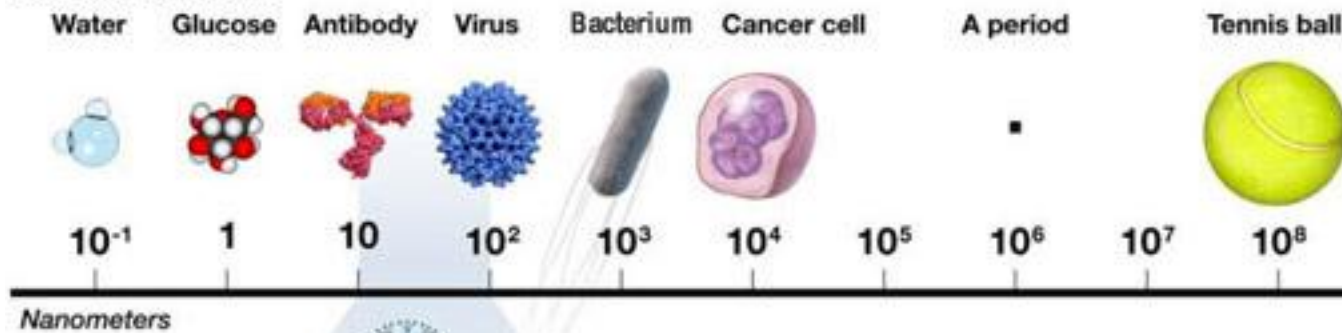
Bjarne Bogen (Universitetet i Oslo)
Jorunn B. Jørgensen (Universitetet i Tromsø)
Karsten Skjødt (University of Southern Denmark)
Pierre Boudinot (INRA, France)
Ana Maria Sandino (Universidad De Santiago, Chile)

Virusvaksiner for laksefisk

1. Vi vet at dagens vaksiner mot virus ikke virker godt nok; vi trenger derfor nye tilnærminger
2. Vaksiner mot bakterier fungerer godt
3. Hva er spesielt med virus?

Virus vs bakterier

How Small Is Small?



Størrelse vs antall gener

Bakterie (eg. *A.salmonicida*)

- Genom= 4.7 Mb
- 4388 gener

(Reith et al.2008)

Virus (ILA)

- Genom ~10 kb
- 10 gener

(Clouthier et al.2001)

gener gjenspeiler antall immunogene epitoper!

Virus vert slosskamp

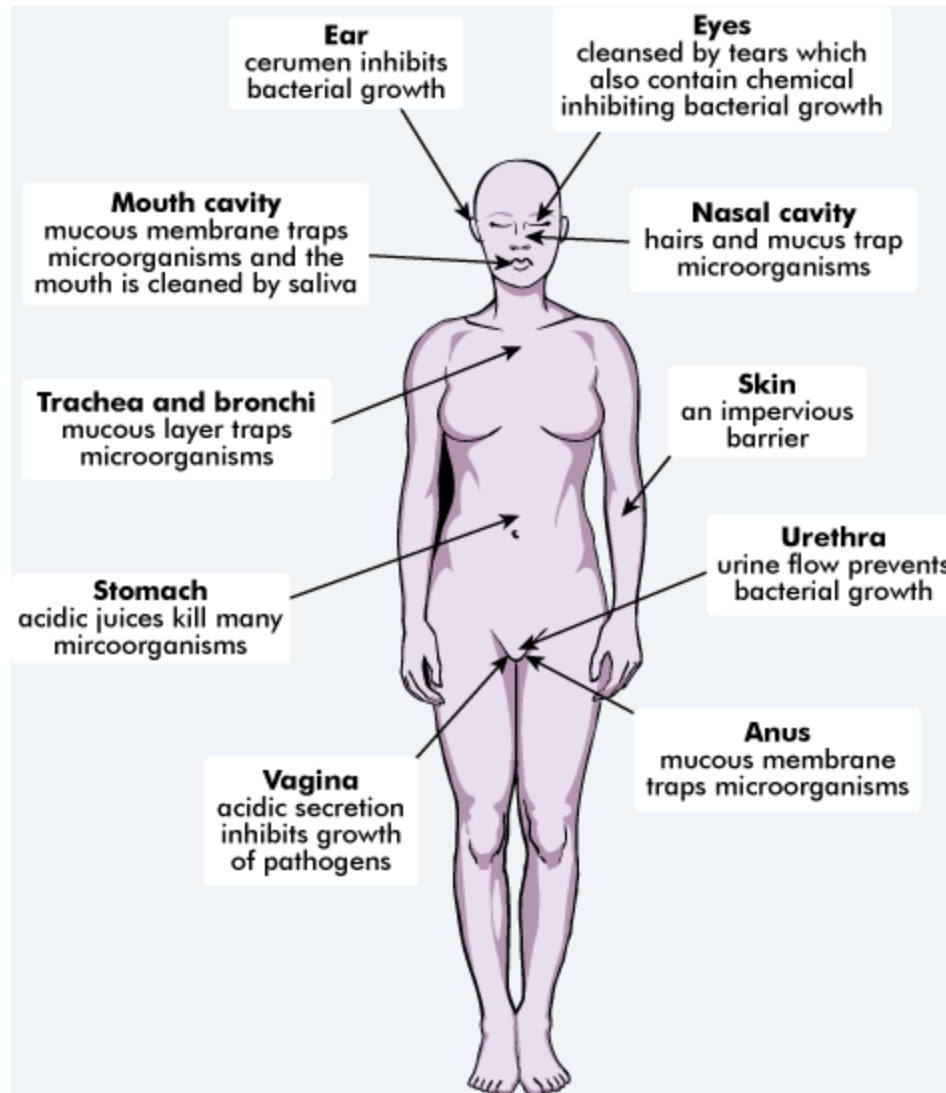
1. Verten har immun mekanismer som kan eliminere viruset
2. Virus har ulike måter å unngå vertens immun forsvar på

For å lage gode vaksiner må vi vite hvilke immunresponser som virker beskyttende og hvilke deler av viruset som gir den immun responsen!

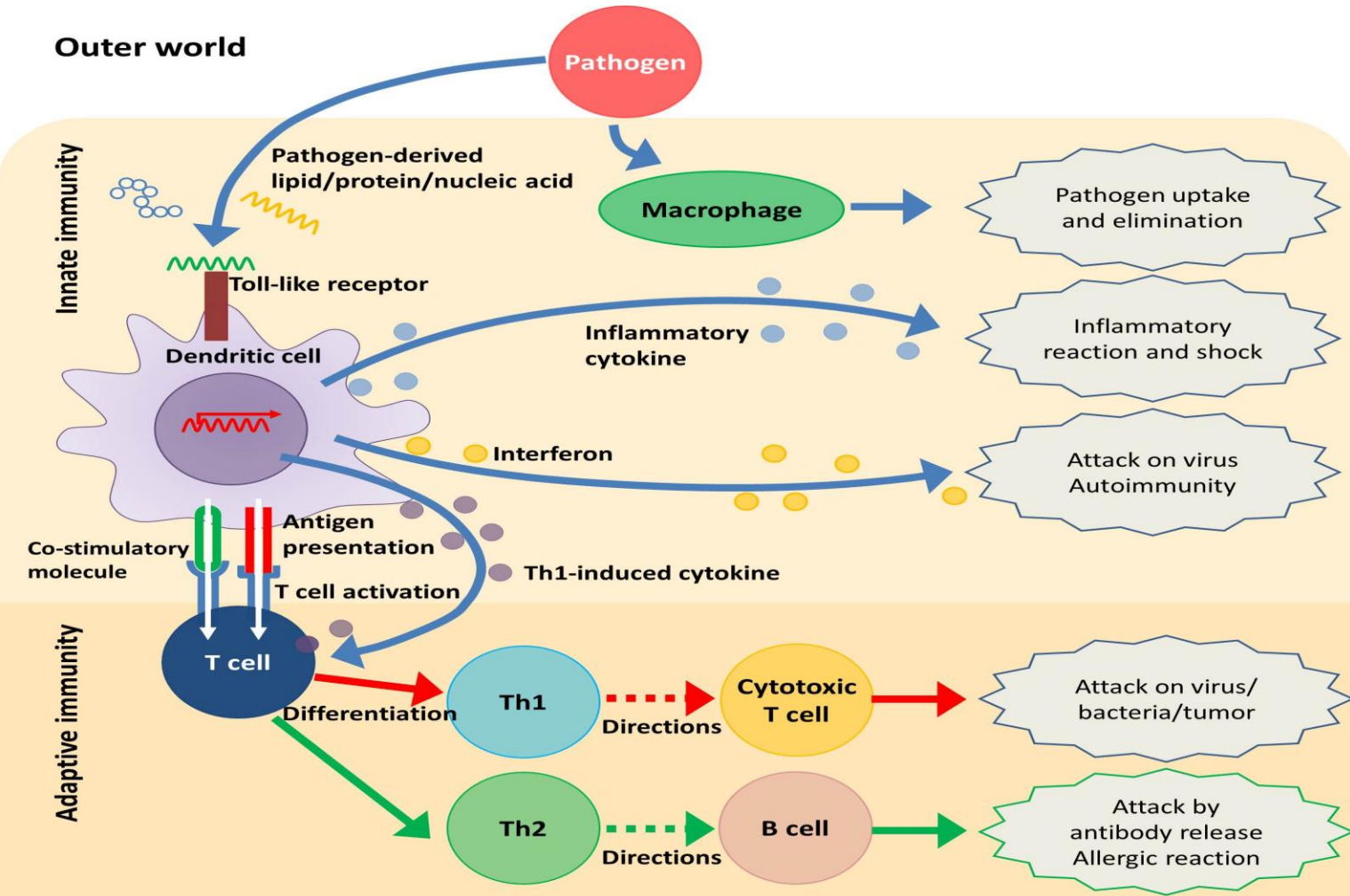
Immunforsvaret

Hos pattedyr

Fysiske barrierer_ første linje forsvar



Medfødt vs adaptivt immun forsvar



MEDFØDT:
Dreper
patogener
tuftet på
felles
faktorer

ADAPTIVT:
Dreper
patogener
Spesifikt.
Minne responser

Kunnskapsplattform for viral akvamedisin

Virus – vert interaksjoner

Havbruk 185217/S40; 2008-2012

Partnere:

Siri Mjaaland, VI/FHI (koordinator)

Jorunn Jørgensen, NFH, UiT

Børre Robertsen, NFH, UiT

Unni Grimholt, UiO



Modellsystem (virus-vert interaksjoner)

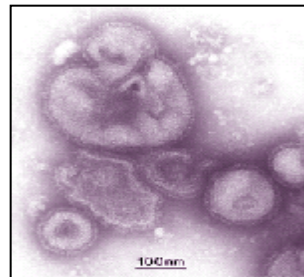
Vert: Laks



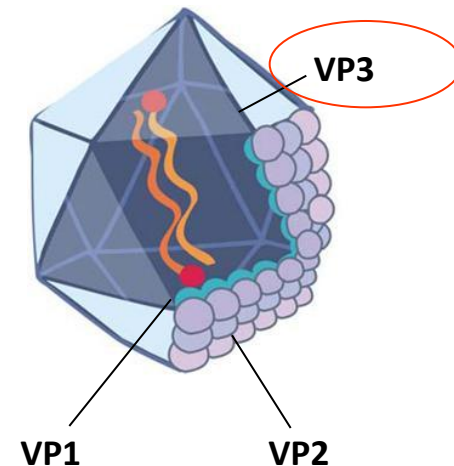
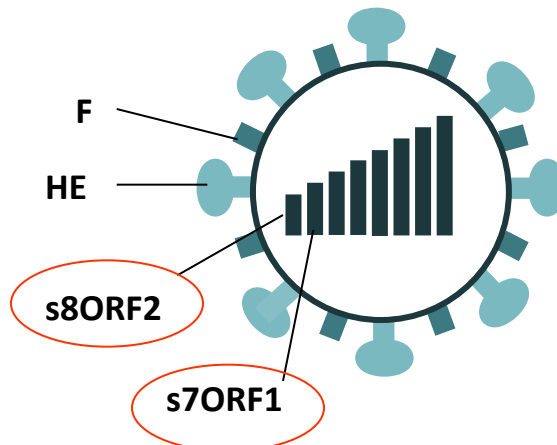
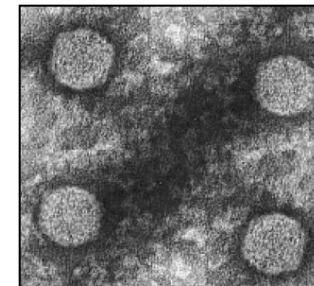
Virus:

- Viktige for oppdrettsnæringen
- Virus vi har mye kunnskap om
- Trigger ulike immunresponser
- Utviklet ulike strategier for å unnslippe vertens immunsystem

ILAV



IPNV



Medfødte responser

Hos laks

Medfødte responser hos laks

eg. Interferoner

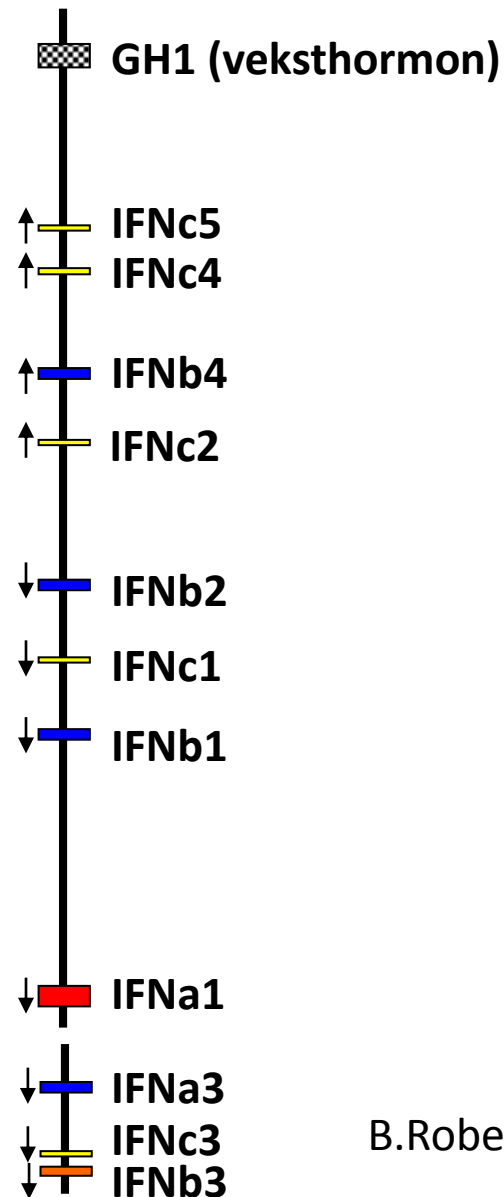
- Type I IFN (>11 gener)
 - viktigst i medfødt immunitet
 - kopler også sammen medfødt og ervervet immunrespons ved å stimulere modning av antigen-presenterende (APC) celler
- Type II IFN (3 gen)
 - viktigst i ervervet immunitet

Type I IFN region hos Atlantisk laks

1 IFNa1 gen
1 IFNa3 gen
4 IFNb gener
5 IFNc gener

Interferoner beskytter bra mot
IPN og PDV infeksjon I lakse celler.

Ikke så godt mot ILA

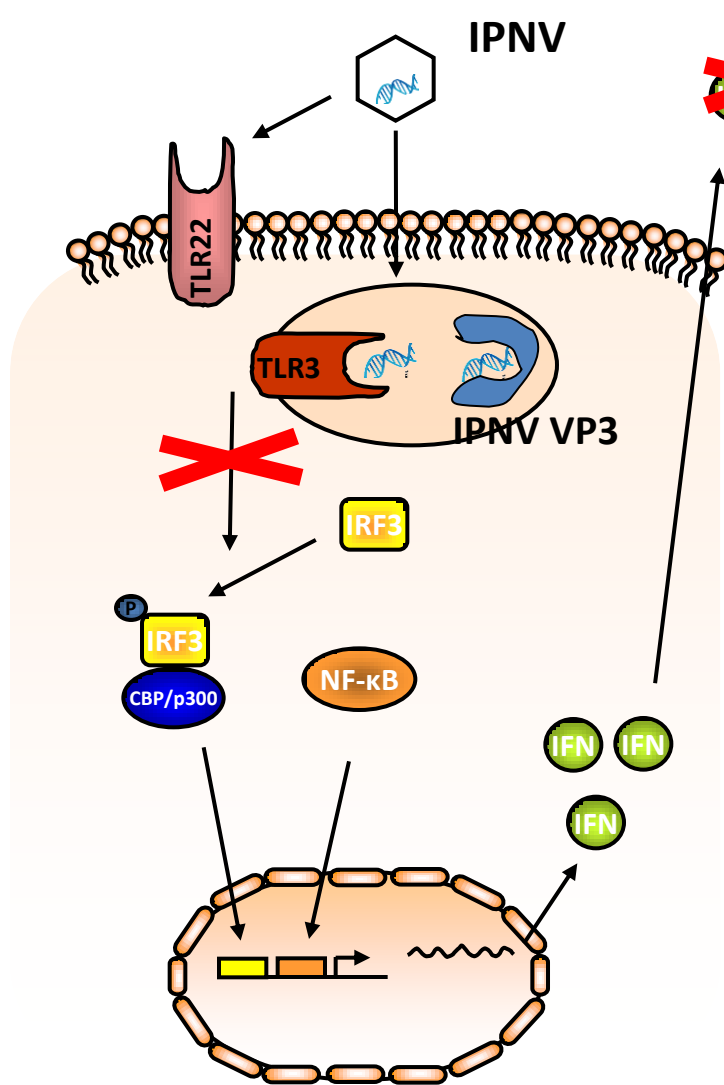


B.Robertsen et al.

Interferon antagonisme

Hvordan unnslipper virus cellens
interferonrespons?

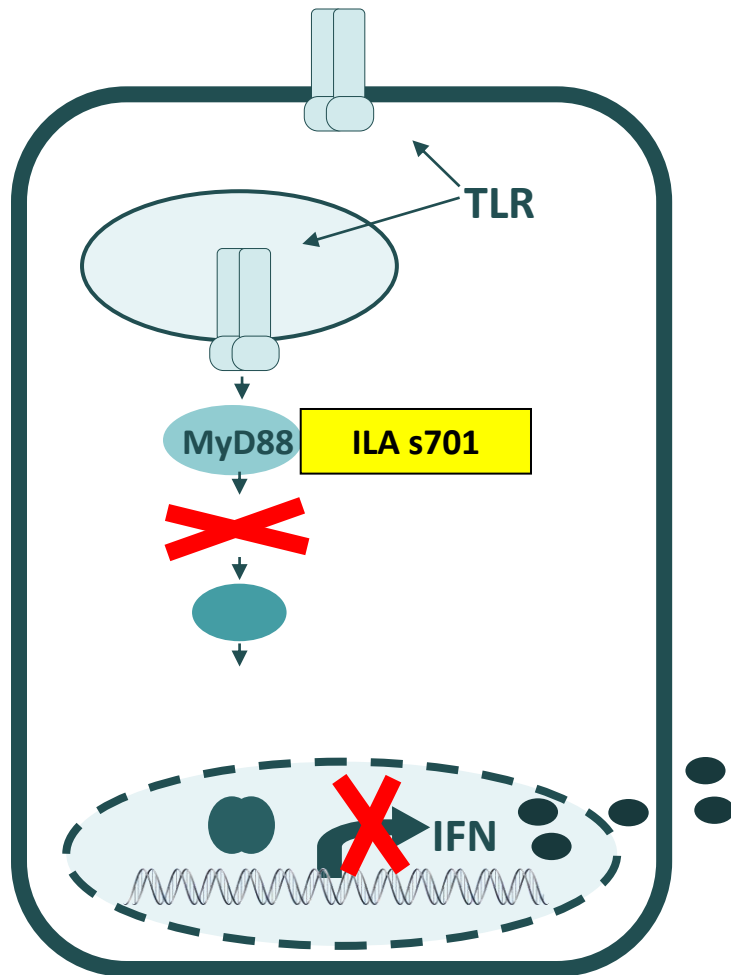
IPN virus kan hemme interferon uttrykk_ I



IPNV VP3 binder dsRNA –
hindrer aktivering av reseptorer
som binder virus-RNA

Resultat: **hemmer IFN produksjon**

Hvordan slipper ILA virus unna?



For eksempel ILA proteinet **701** binder MyD88

Resultat: hemmet IFN produksjon

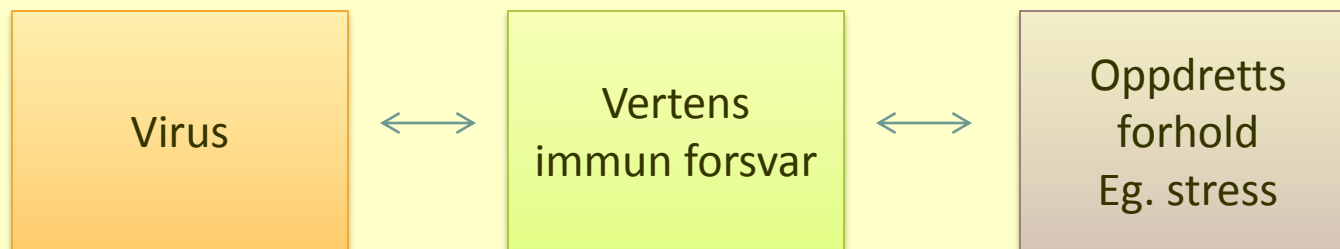
S.Mjaaland & B.Robertsen

Can we get the upper hand on viral diseases in aquaculture of Atlantic salmon?

B.Robertsen, Aquaculture Research, 2011, 42, pp.125-131

Interferoner beskytter bra mot IPN og PDV infeksjon I lakse celler
MEN allikevel sykdom I oppdrett.

Stress faktorer i aquakultur som hemmer immun systemet?



Også fokus på reduksjon av vertikal og horisontal smitte

IPNV with high and low virulence: host immune responses and viral mutations during infection

J.Jørgensen et al. Virology Journal 2011, 8; pp.396

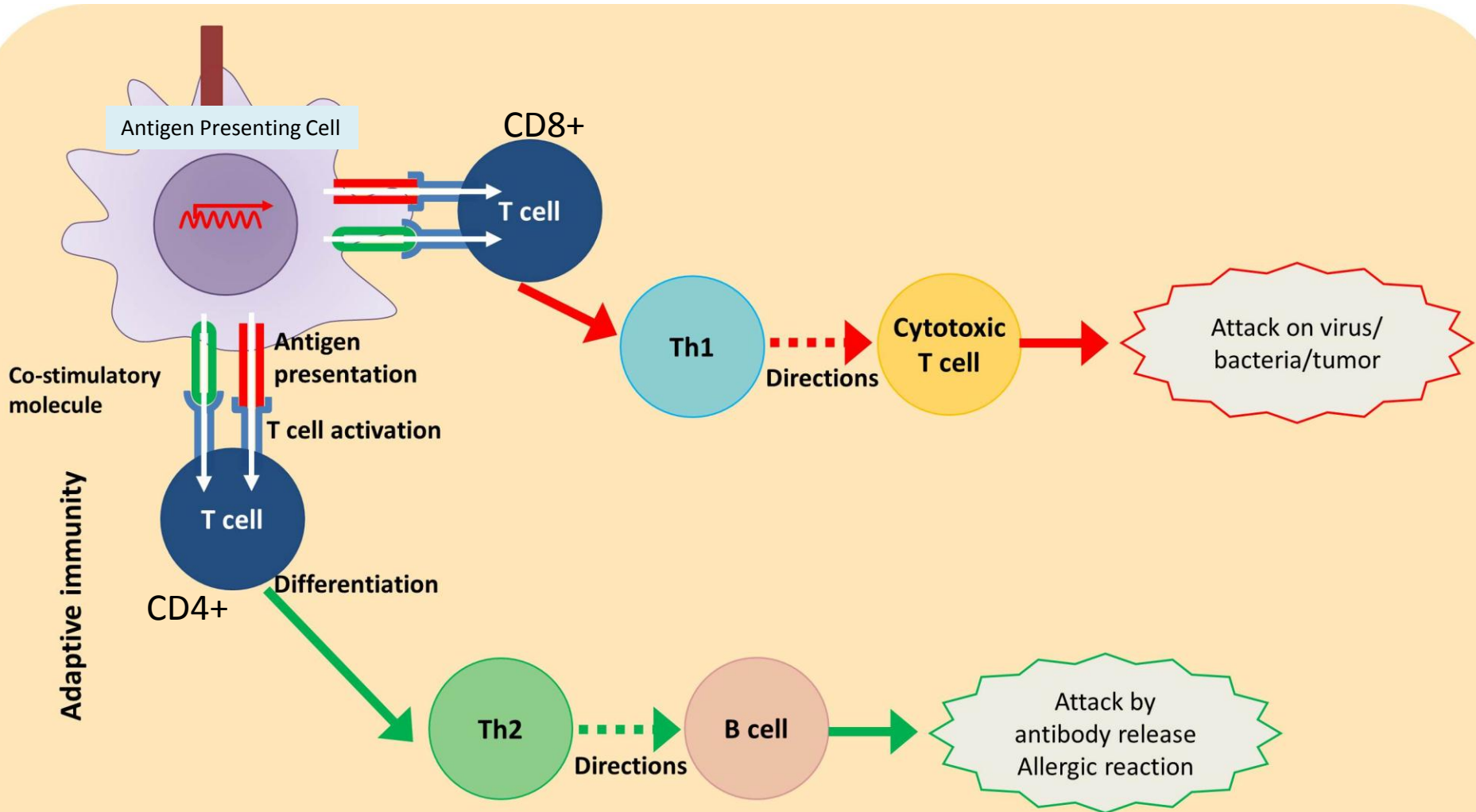
- Viser at IPN viruset muterer i løpet av en infeksjon.

Dette kan ha betydning for vaksine-utvikling og evt også vertens immunrespons!

Adaptive responder

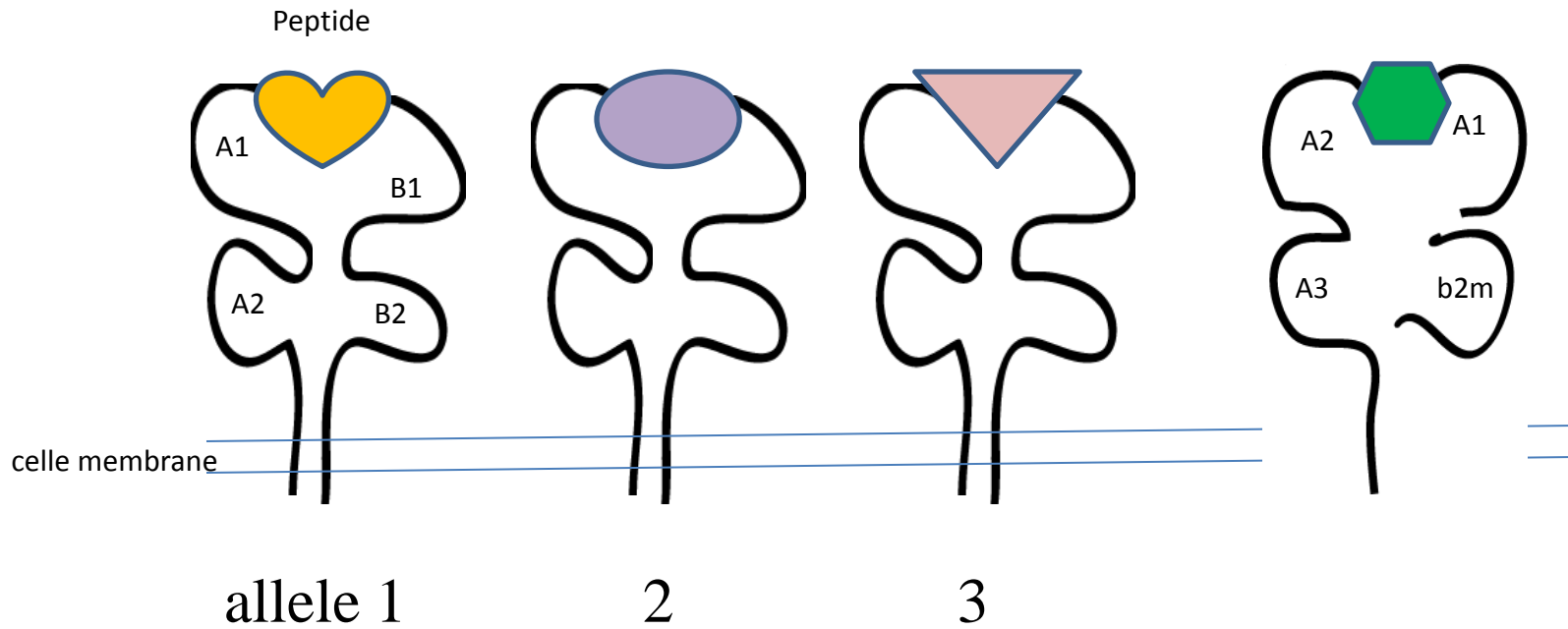
hos laks

Adaptiv immunitet og MHC

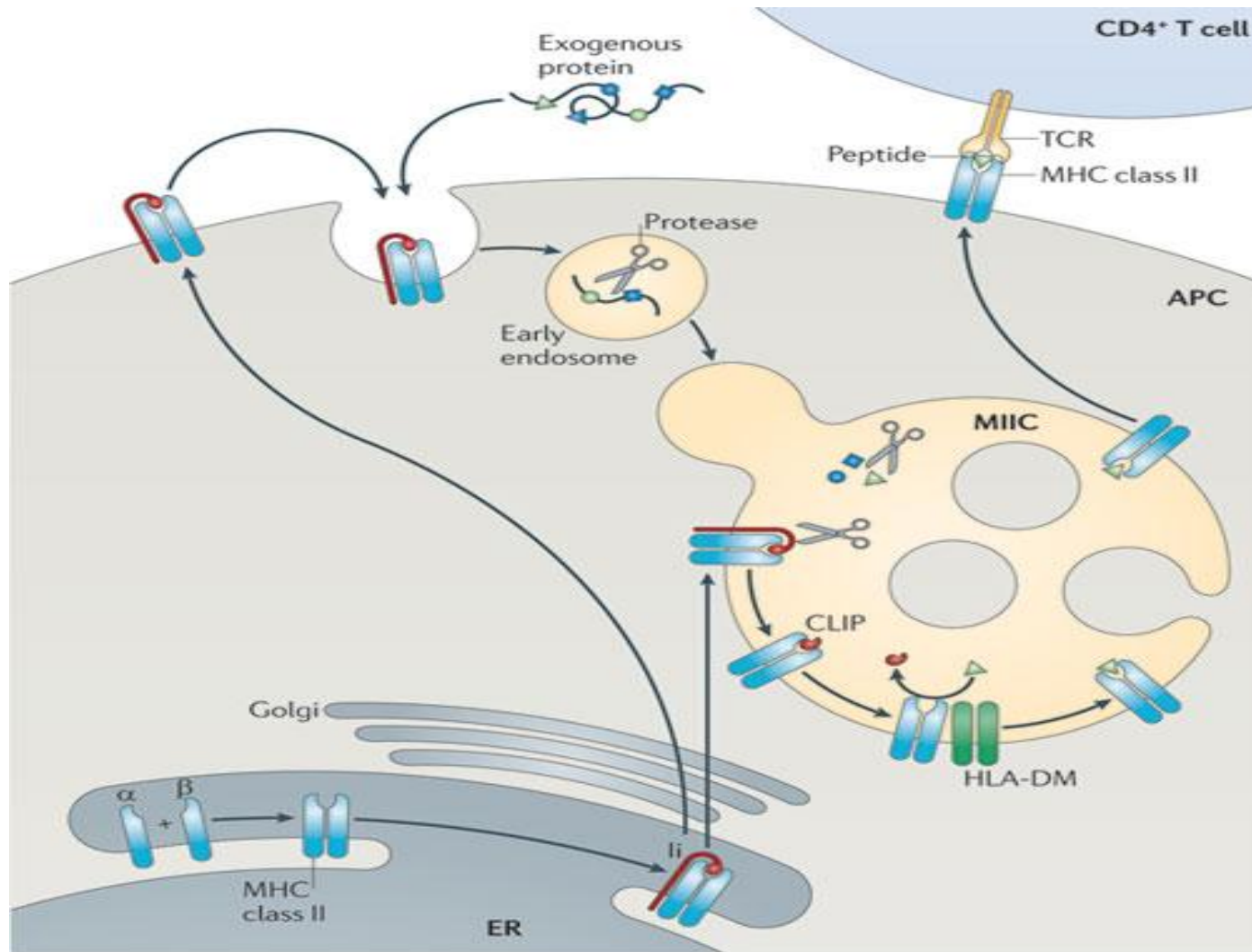


MHC Class II

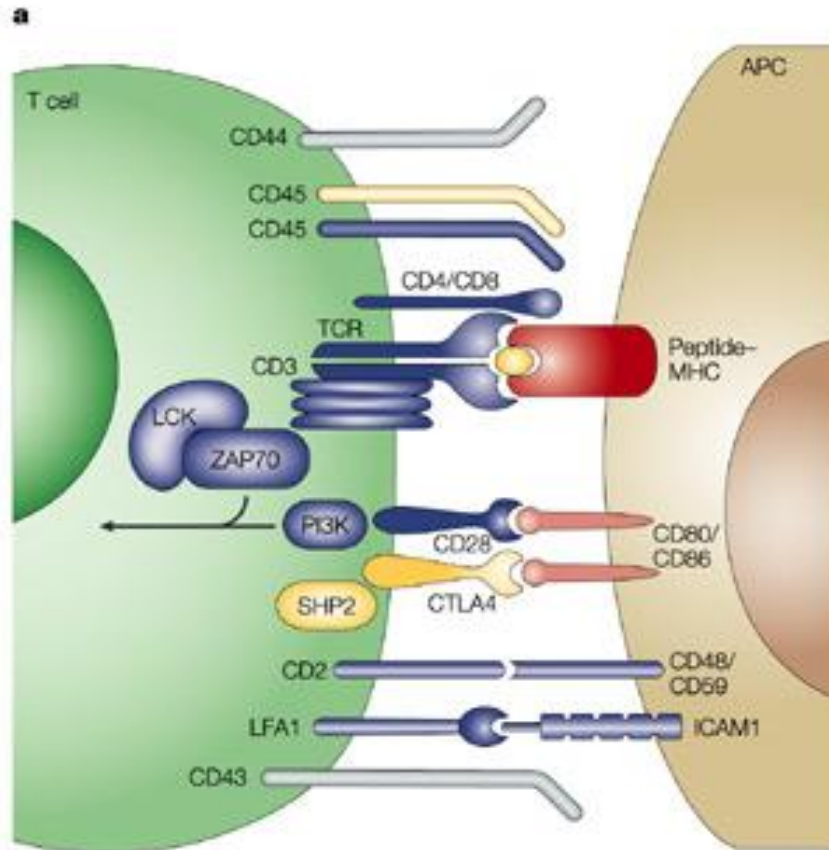
MHC Class I



Peptide capture MHC class II



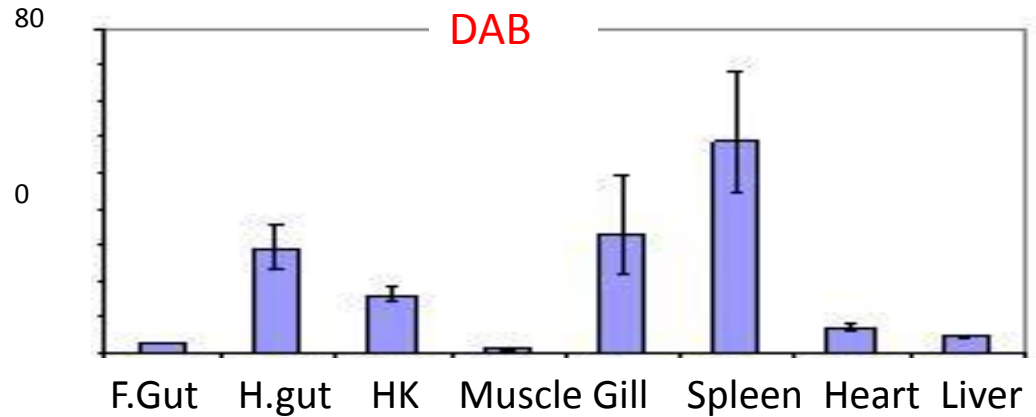
MHC-TcR signalling_ Immun synapse



Immun respons mot
Patogent peptid

Laks MHCII

Gen	# alleler
DAA	21
DAB	42



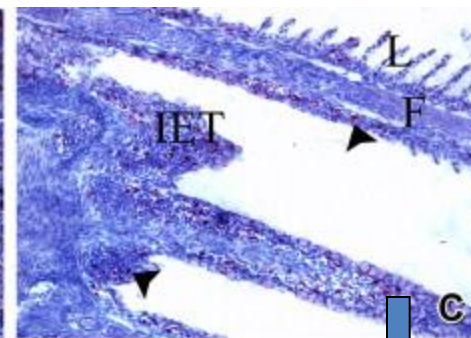
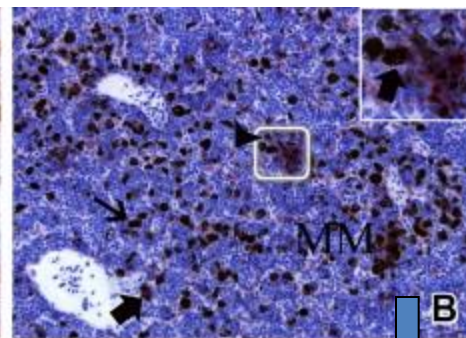
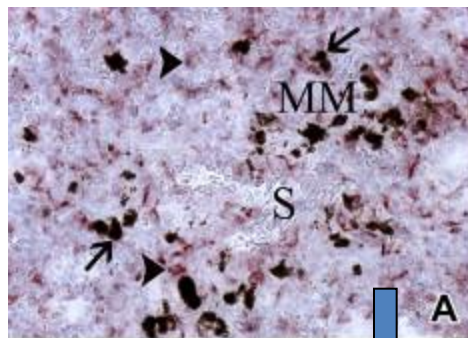
MHC II DAB*0301- DAA*0501 påvirker resistens mot furunkulose

ILA og MHC klasse II beta (DAB)

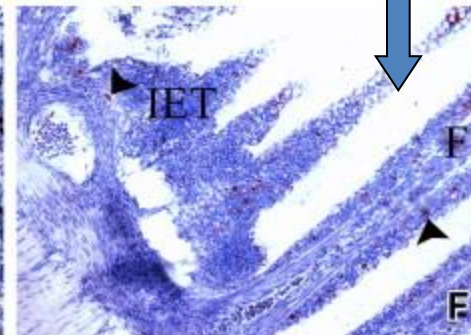
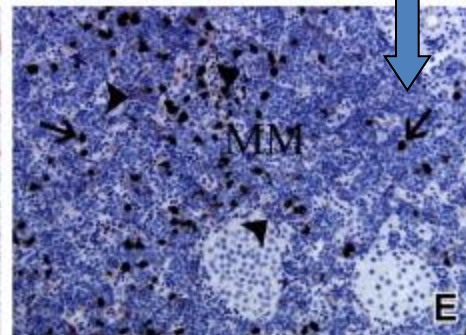
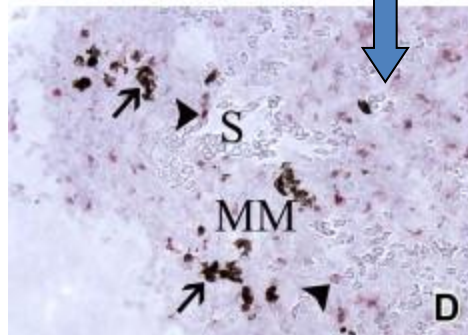
Milt

Hodenyre

Gjeller



Neg.
control



ILA
Infeksjon
Dag 17

Sammendrag:

Plattform for viral aquamedisin

- Funnet immungener som beskytter mot sykdom
 - Både medfødte og adaptive immun gener
 - Funnet virus mekanismer som motvirker vertens immunforsvar
 - Etablert mange metoder for funksjonelle studier
- Økt forståelsen av laksens immunforsvar og virus vert kamper

Anvendelse av et nytt vaksineprinsipp for å bekjempe Infeksiøs lakseanemi

Havbruk: Prosjektnr. 206965

Partnere:

Vet.Inst:

Siri Mjaaland
Helena Hauge

UiO:

Unni Grimholt
Hege Bakke

Samarbeidspartnere:

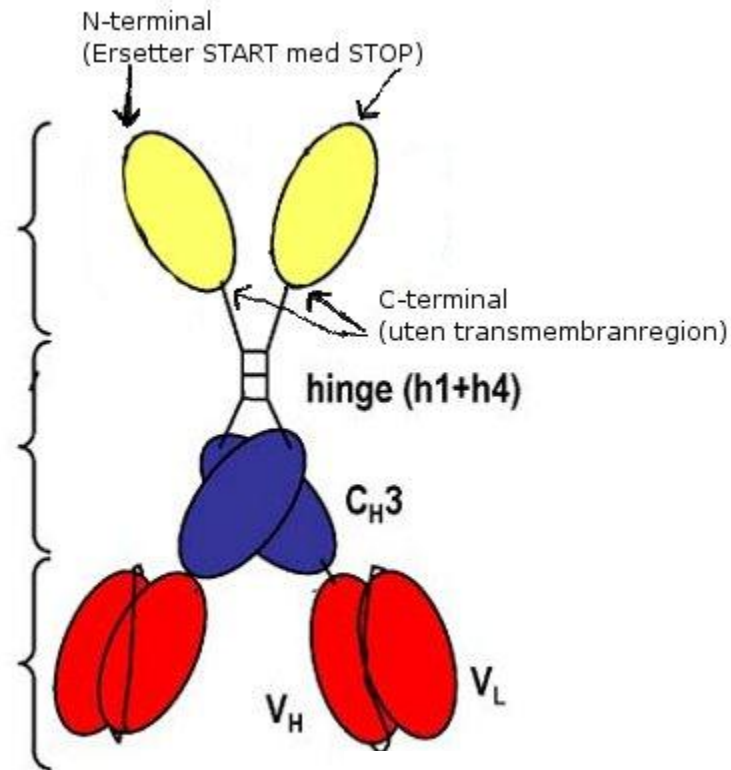
Bjarne Bogen (Universitetet i Oslo)
Jorunn B. Jørgensen (Universitetet i Tromsø)
Karsten Skjødt (University of Southern Denmark)
Pierre Boudinot (INRA, France)
Ana Maria Sandino (Universidad De Santiago, Chile)

Vaccibody prinsippet_ I

Targeting units:
scFv specific for MHC class II
on APC

dimerization units:
hinge (h1 and h4 exon) and C_H3
from human IgG3

Antigenic units:



Promoter

Target

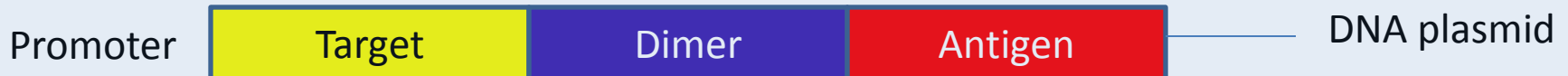
Dimer

Antigen

DNA plasmid

Vaccibody prinsippet_ II

- En DNA vektor med 3 enheter
 - Kan bytte ut target og antigen del avhengig av hvilket patogen en ønsker vaksine mot



- Administrasjon: Elektroporering uten adjuvans

Vaccibody prinsippet_III

MHCII Målstyring → Th2 (humoral) respons



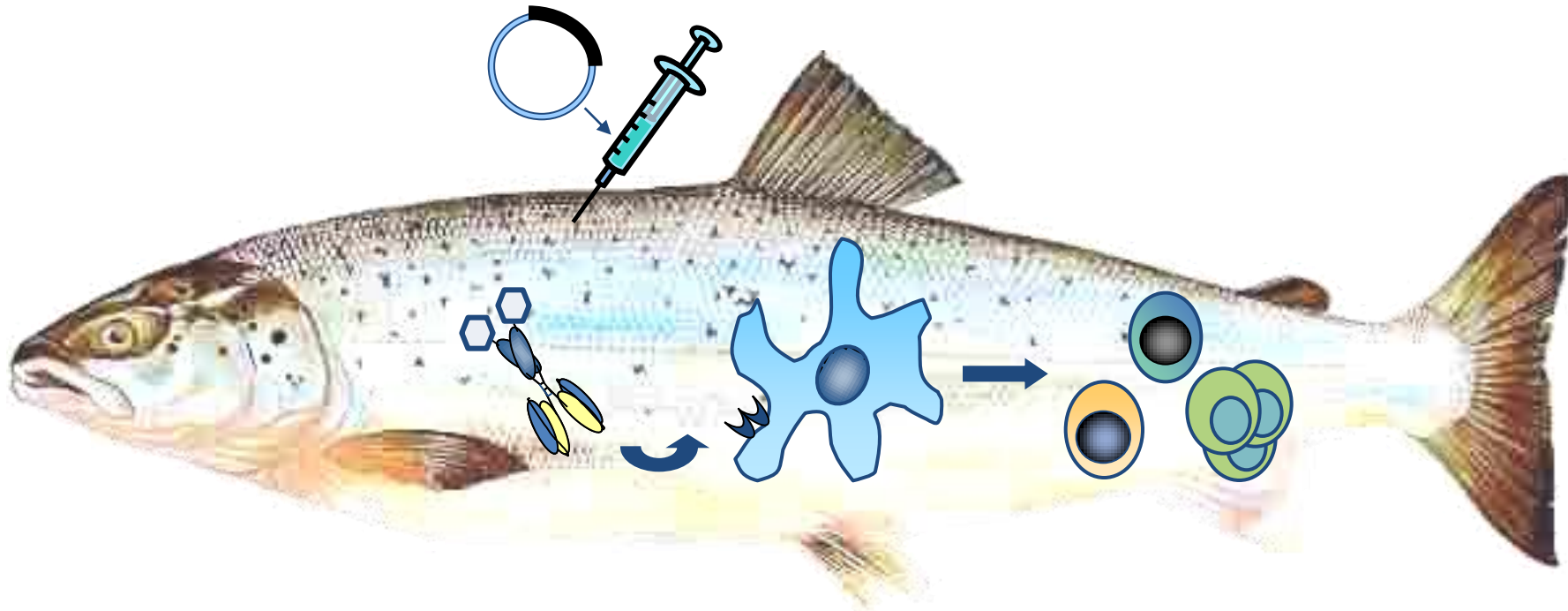
CCR5 målstyring → Th1+Th2 respons



Adaptere fra pattedyr til laks

- Hvilke antigener skal vi bruke?
- Hva skal vi målstyre med?
- Og hva skal vi målstyre mot?

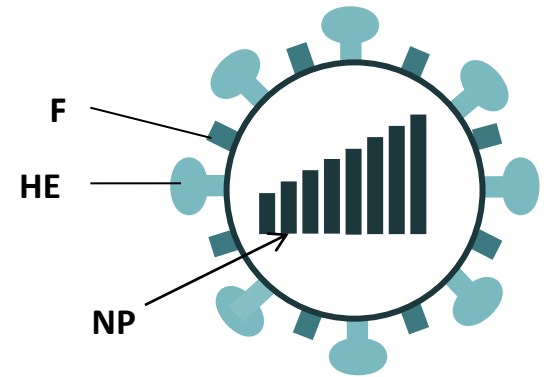
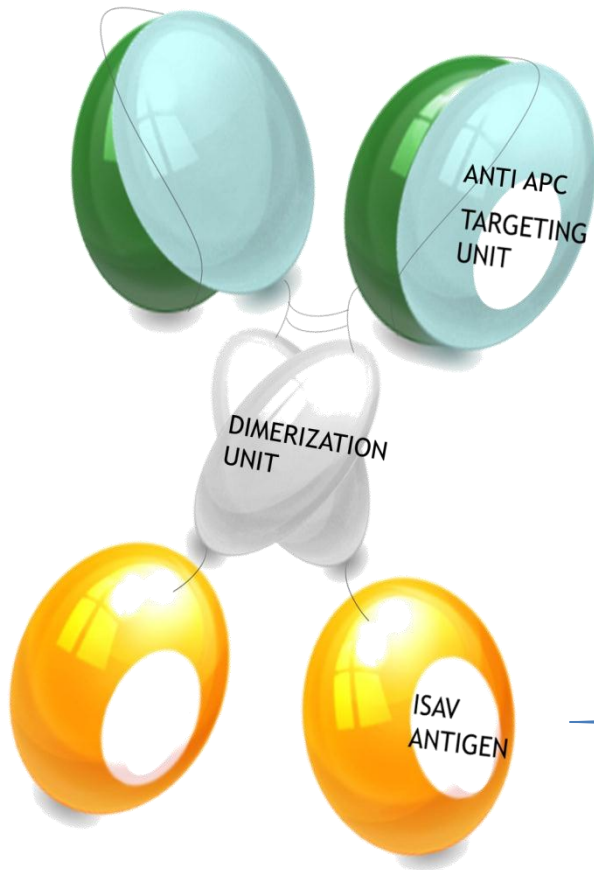
Lakse vaccibodies



Vaccibodies skal

- 1) taes opp og uttrykkes av muskel celler på injeksjons stedet
- 2) skilles ut for opptak av antigen presenterende celler
- 3) APC presenterer antigen til T celler i sekundært lymfoid vev
 - Og derved indusere en beskyttelse mot patogenet

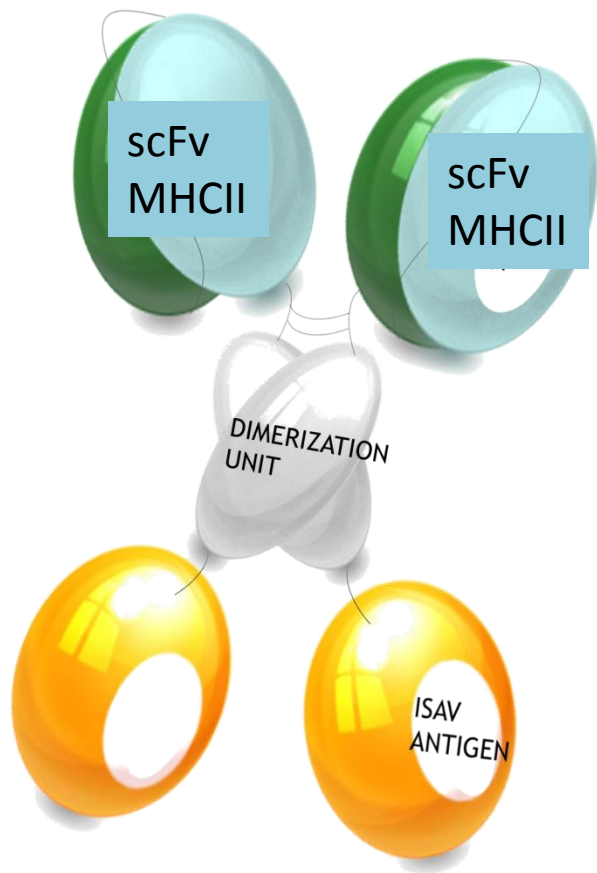
Hvilke antigener skal vi bruke?



ILA antigener

- HE (335 aa, 43 kDa)
- F (392 aa, 37 kDa)
- NP (594 aa, 65 kDa)

Hva kan vi målstyre med?



1. K.Skjødt har laget monoklonale antistoff mot MHC II.

Vi klonet scFv og satte inn i Vaccibodien

Målstyrer derved mot APCer med MHC klasse II på overflaten
- forventet en Th2 respons

2. Andre målstyringsenheter under uttesting mer rettet mot Th1 responser

ILA og beskyttende responser

“Susceptibility and immune responses following experimental infection of MHC compatible Atlantic salmon (Salmo salar L.) with different infectious salmon anaemia virus isolates”

Mjaaland et al., Arch. Virol.150; pp.2195, 2005

Viste at den cellulære responsen korrelerte med beskyttelse

Ergo trenger vi en målstyring som induserer en cellulær respons!

Hva målstyrer vi mot?

scFv MHCII rettes mot APC= Antigen
presenterende celler :

- B-celler: IgM+ MHCII+
- Monocyt/Makrofager: IgM-, (MHCII+)
- Dendrit celler: IgM-, MHCII+ (Dc lite kjent hos fisk)

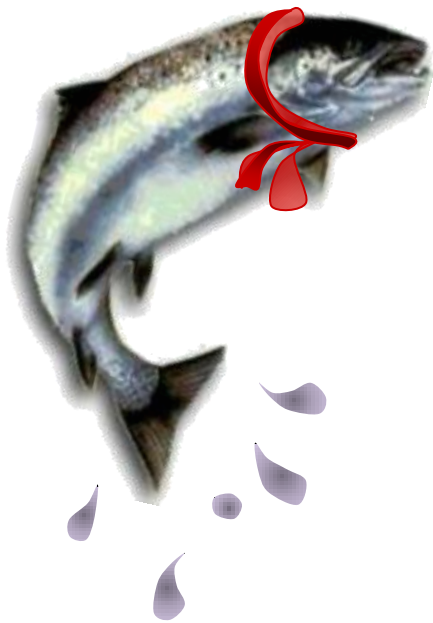
Alle APC'er vil potensielt kunne ta opp en MHCII-
målstyrt vaccibody

Vaccibodies og vyer



Fordeler:

- uavhengig av adjuvans
- kan injiseres som DNA (kostnadseffektivt)
- induserer spesifikke immunresponser



A CURE FOR THE SALMON FLU?

Takk for oppmerksomheten!