

# 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:

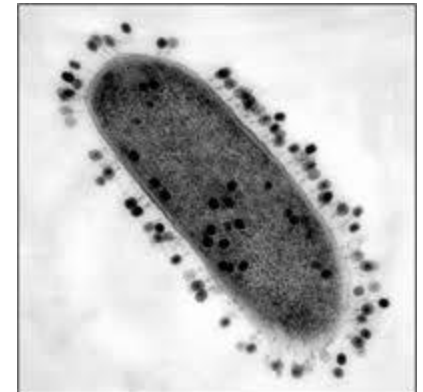
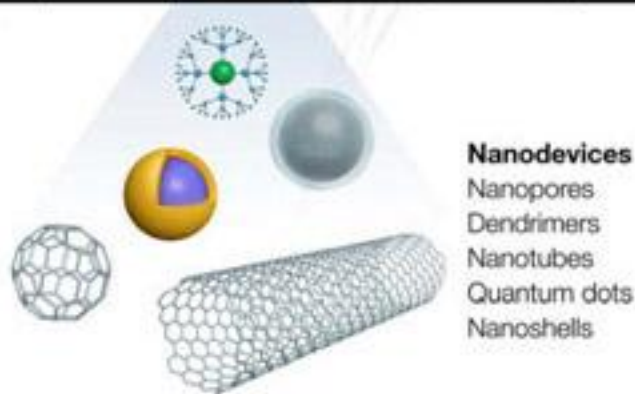
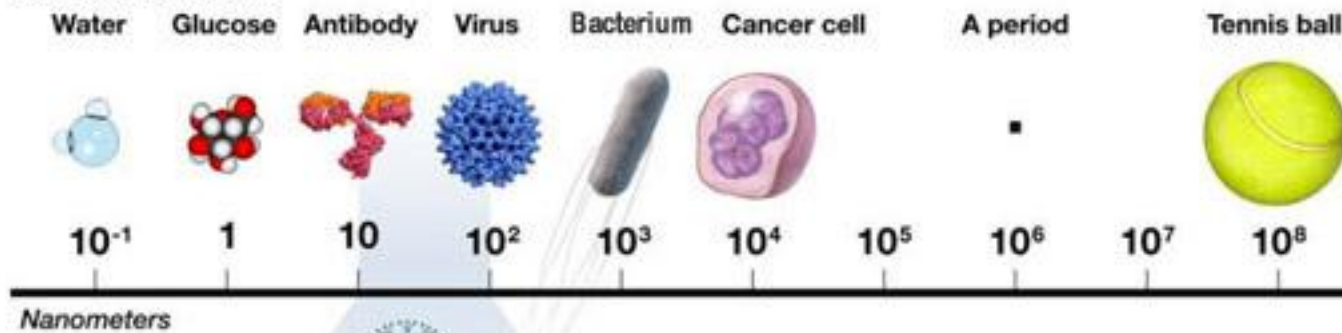
Bjarne Bogen (Universitetet i Oslo)  
Jorunn B. Jørgensen (Universitetet i Tromsø)  
Karsten Skjødt (University of Southern Denmark)  
Pierre Boudinot (INRA, France)  
Ana Maria Sandino (Universidad De Santiago, Chile)

# 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

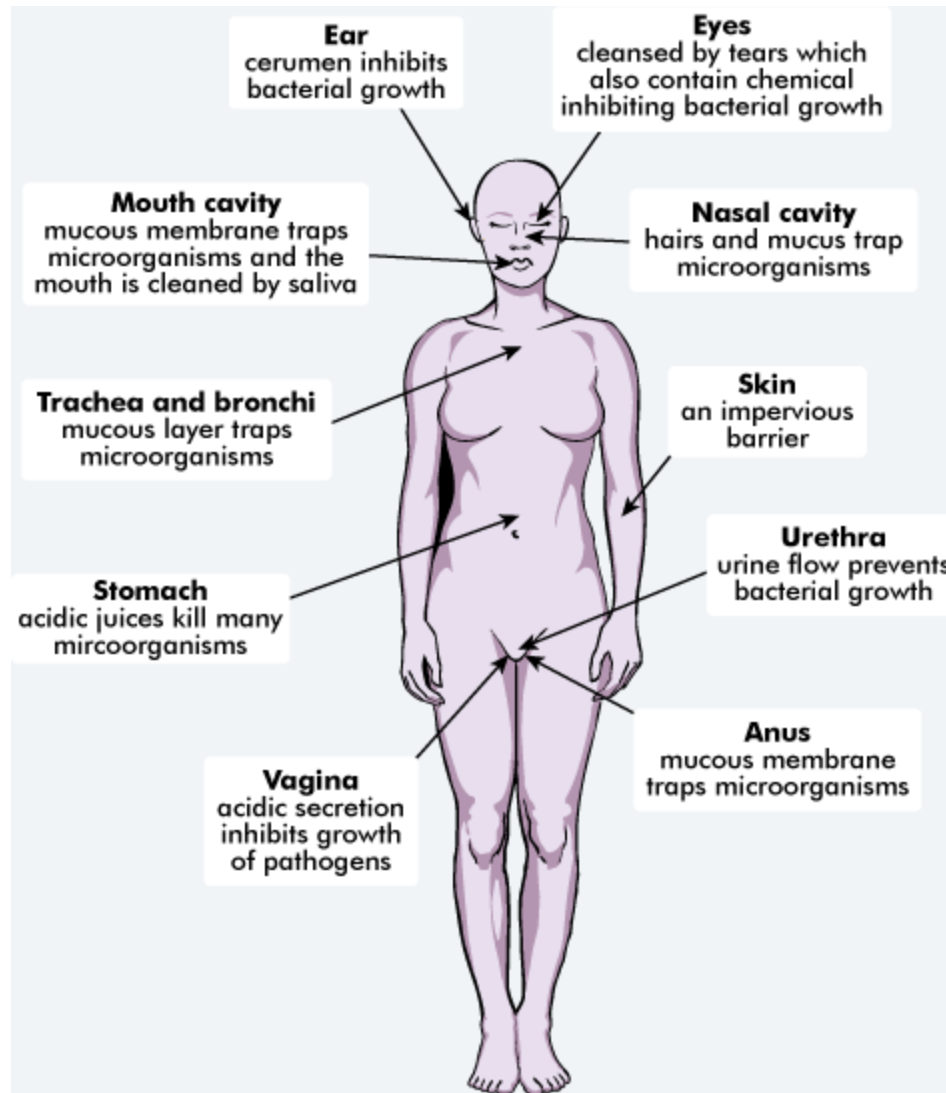
For å lage gode vaksiner må vi vite hvilke immunresponser som virker beskyttende og hvilke deler av viruset som gir den immun responsen!

# Immunforsvaret

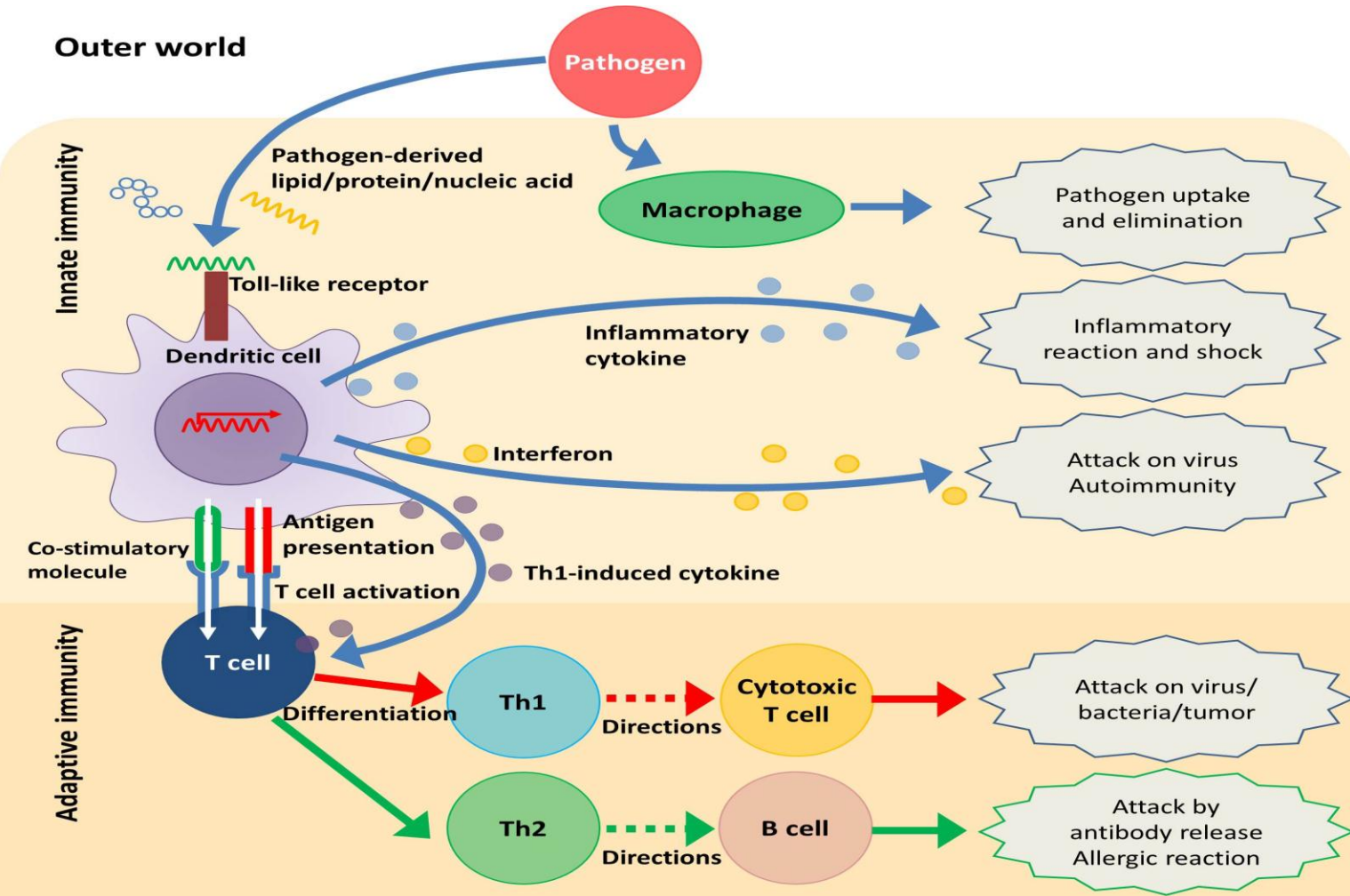
Hos pattedyr



# 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)

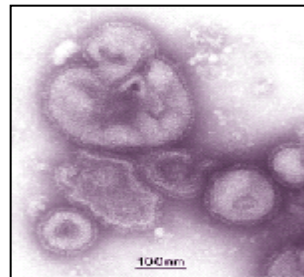
Vert: Laks



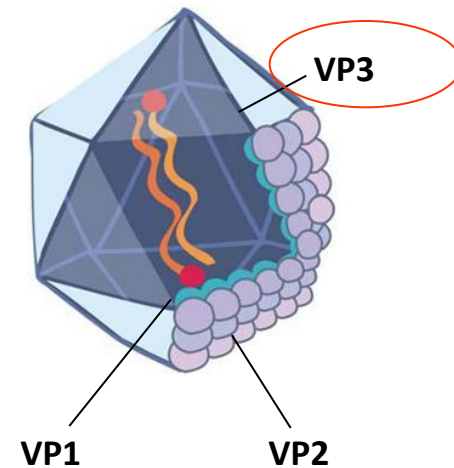
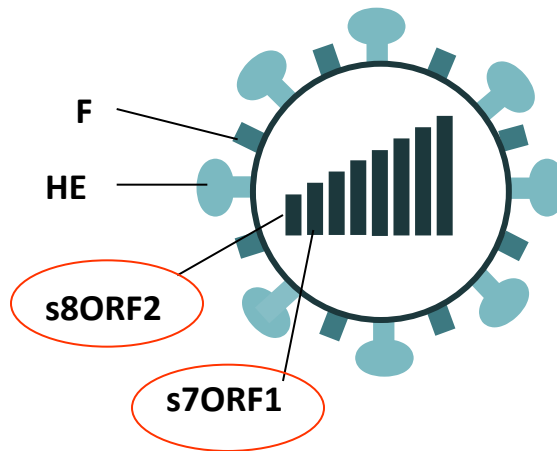
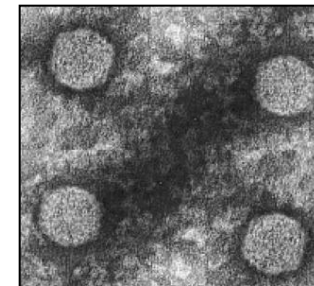
Virus:

- 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

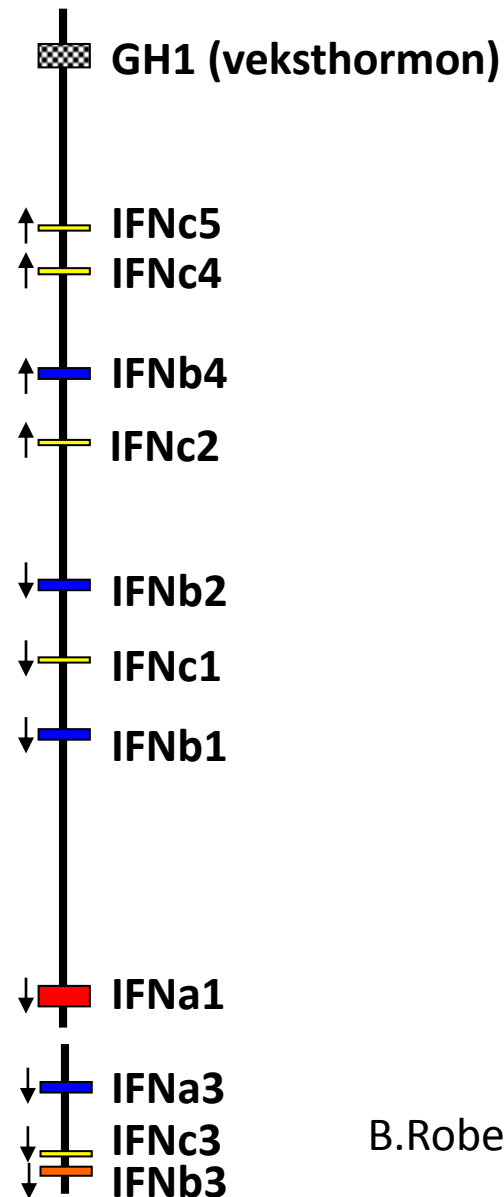
- Type I IFN (>11 gener)
  - viktigst i medfødt immunitet
  - kopler også sammen medfødt og ervervet immunrespons ved å stimulere modning av antigen-presenterende (APC) celler
- Type II IFN (3 gen)
  - viktigst i ervervet immunitet

# 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



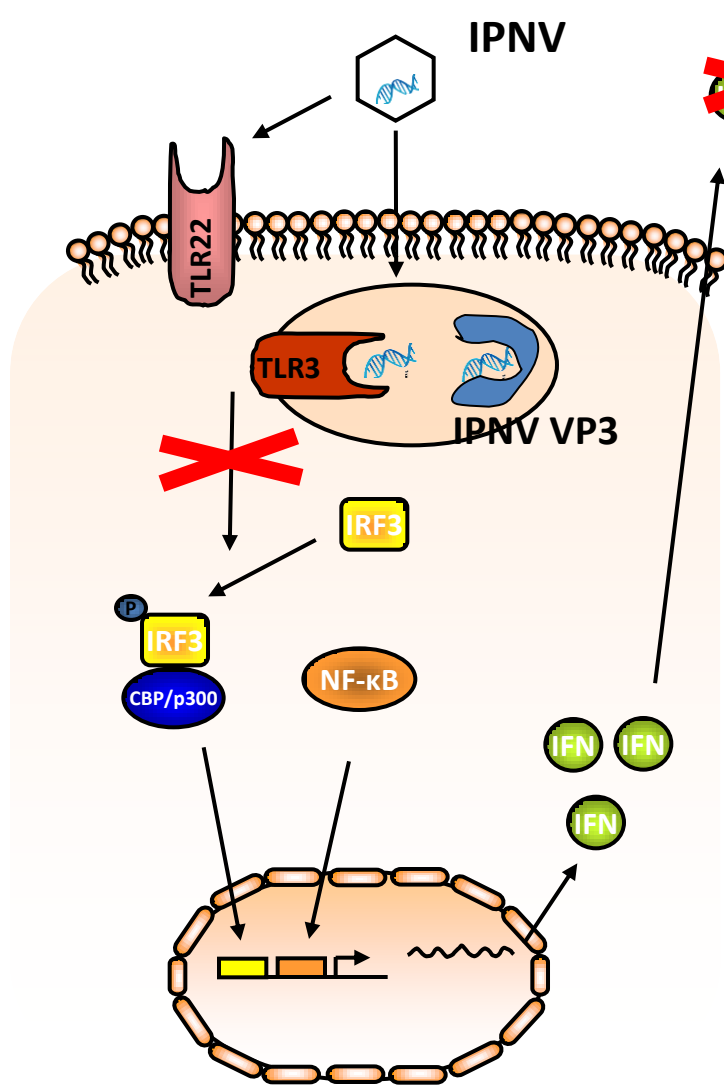
B.Robertsen et al.

# Interferon antagonisme

Hvordan unnslipper virus cellens  
interferonrespons?



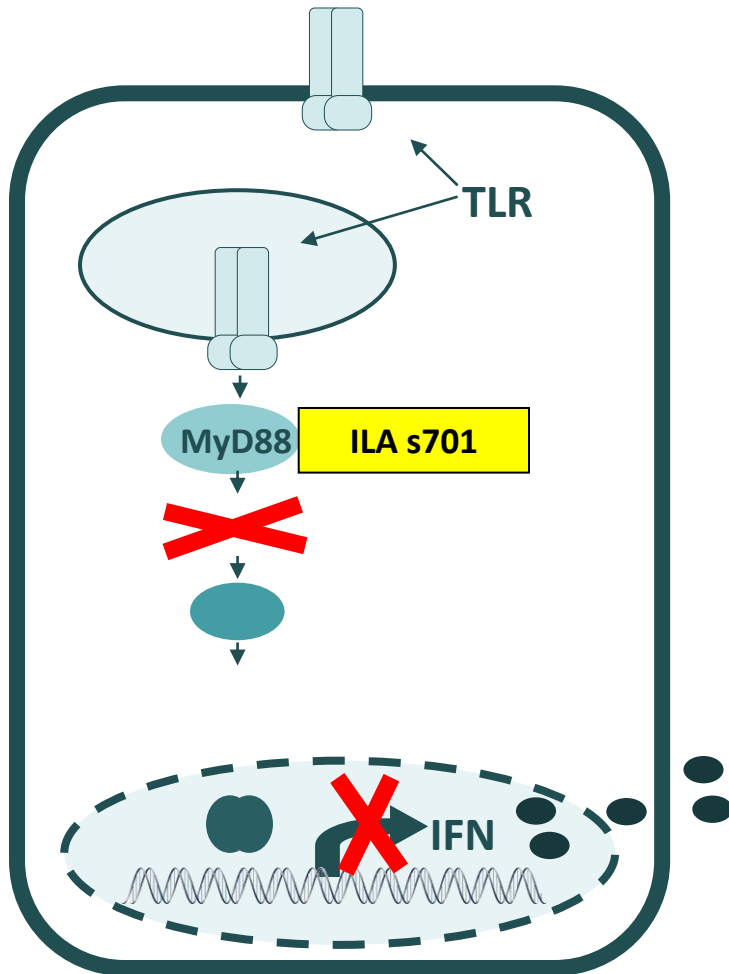
# IPN virus kan hemme interferon uttrykk\_ I



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**

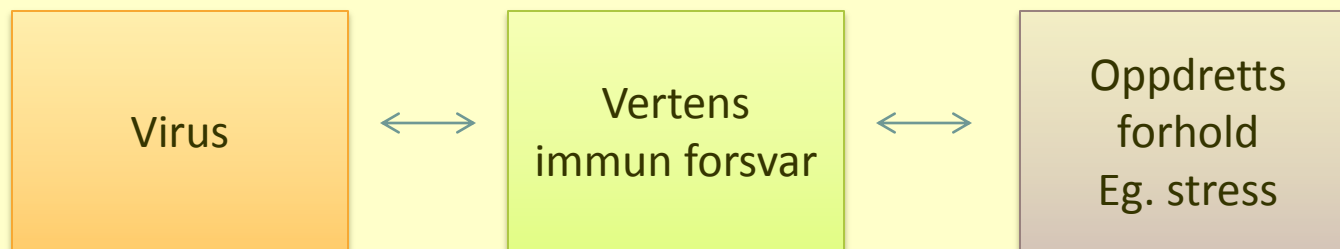
S.Mjaaland & B.Robertsen

# 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

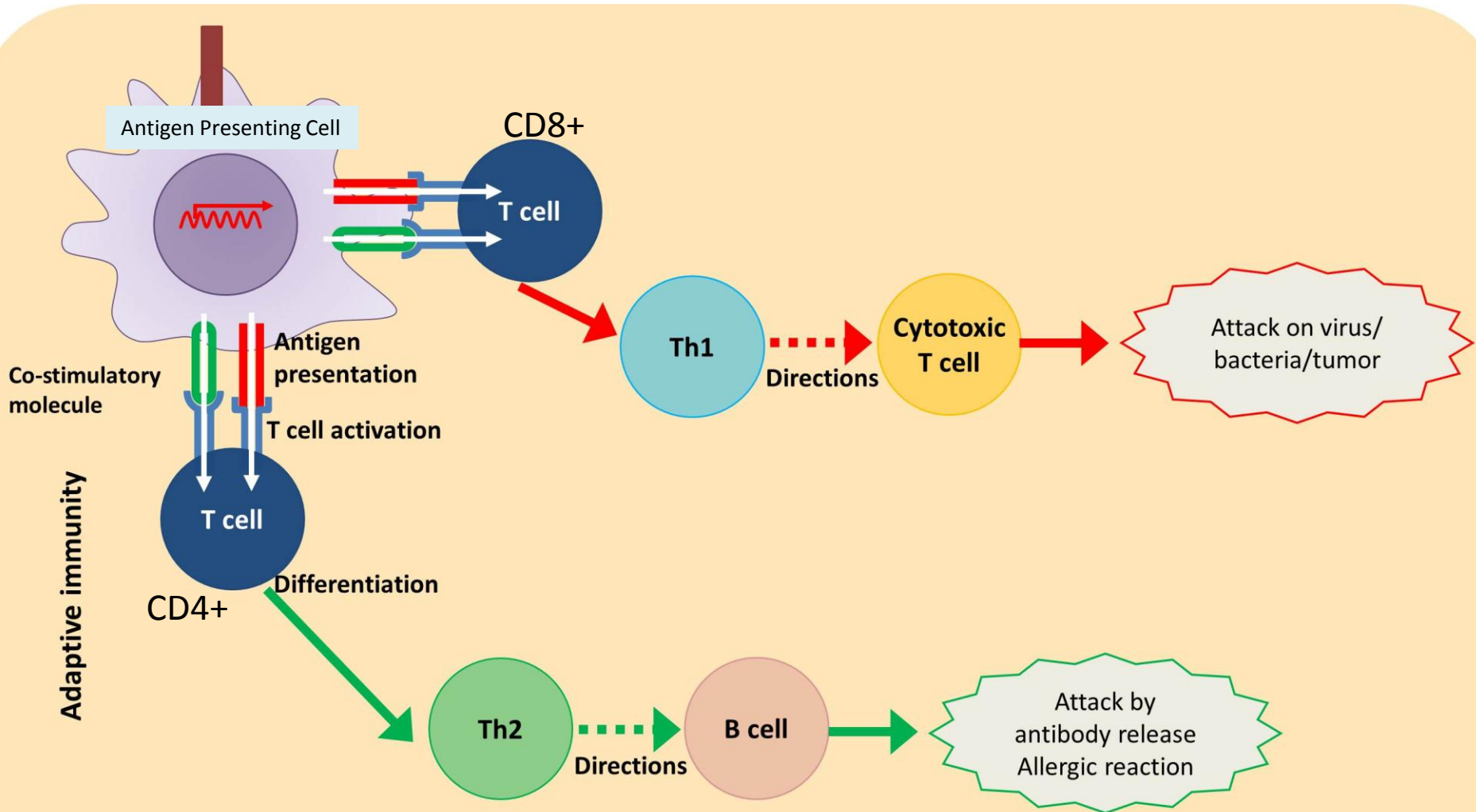
- Viser at IPN viruset muterer i løpet av en infeksjon.

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

# Adaptive responder

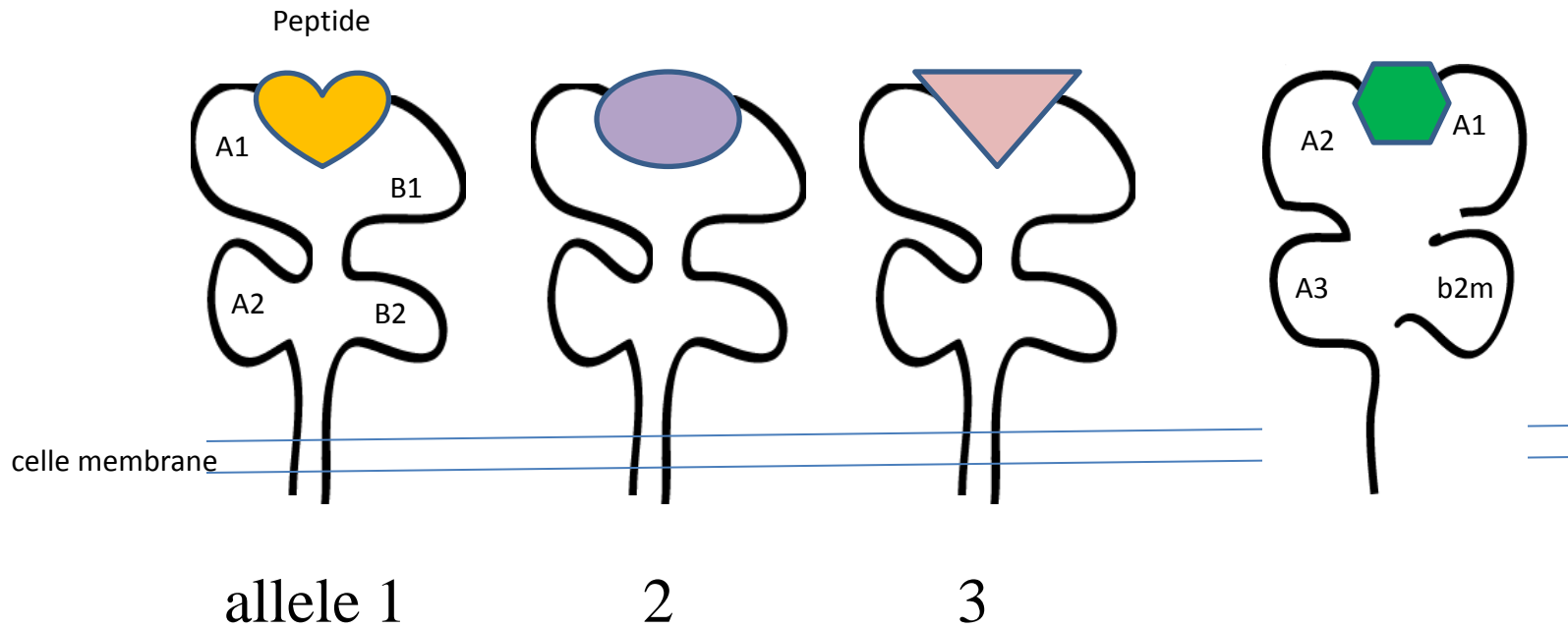
hos laks

# Adaptiv immunitet og MHC

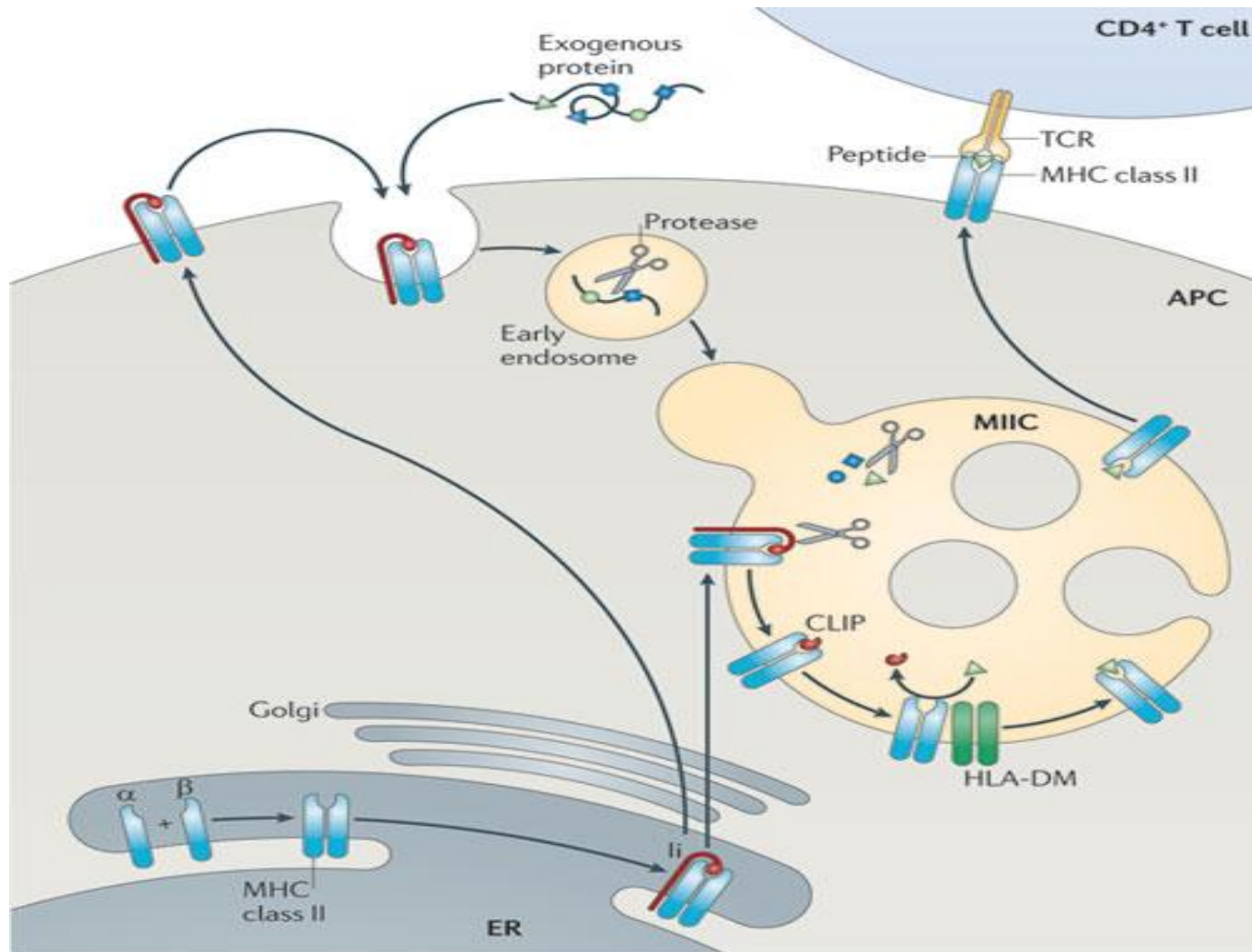


# MHC Class II

# MHC Class I

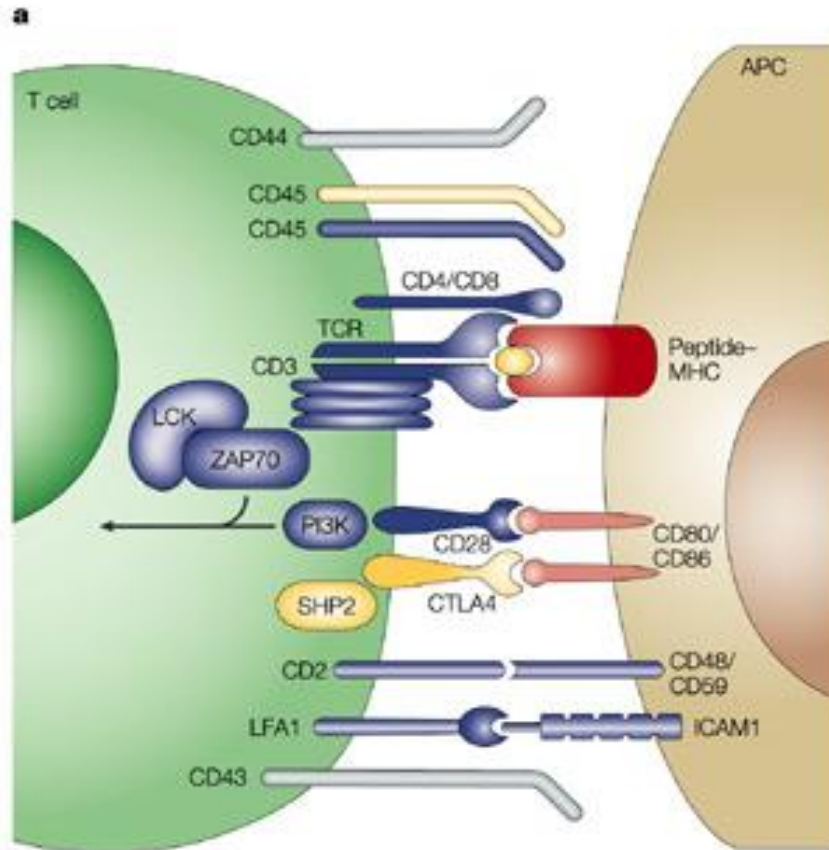


# Peptide capture MHC class II





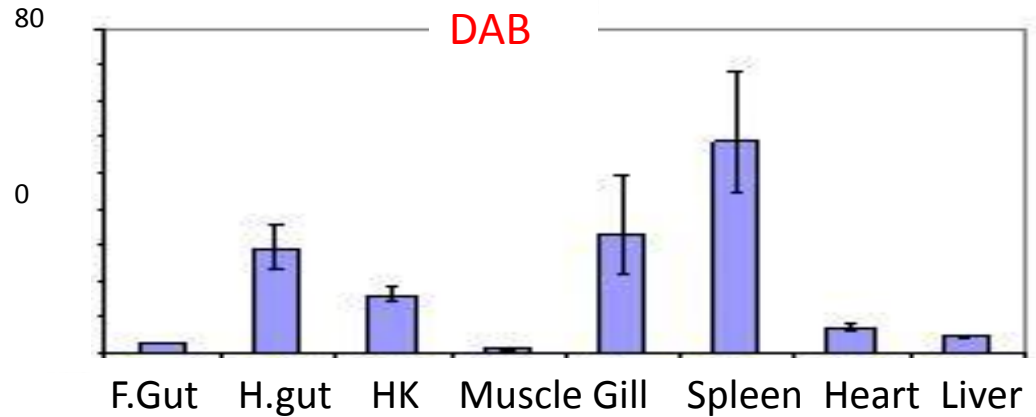
# MHC-TcR signalling\_ Immun synapse



Immun respons mot  
Patogent peptid

# Laks MHCII

Gen	# alleler
DAA	21
DAB	42



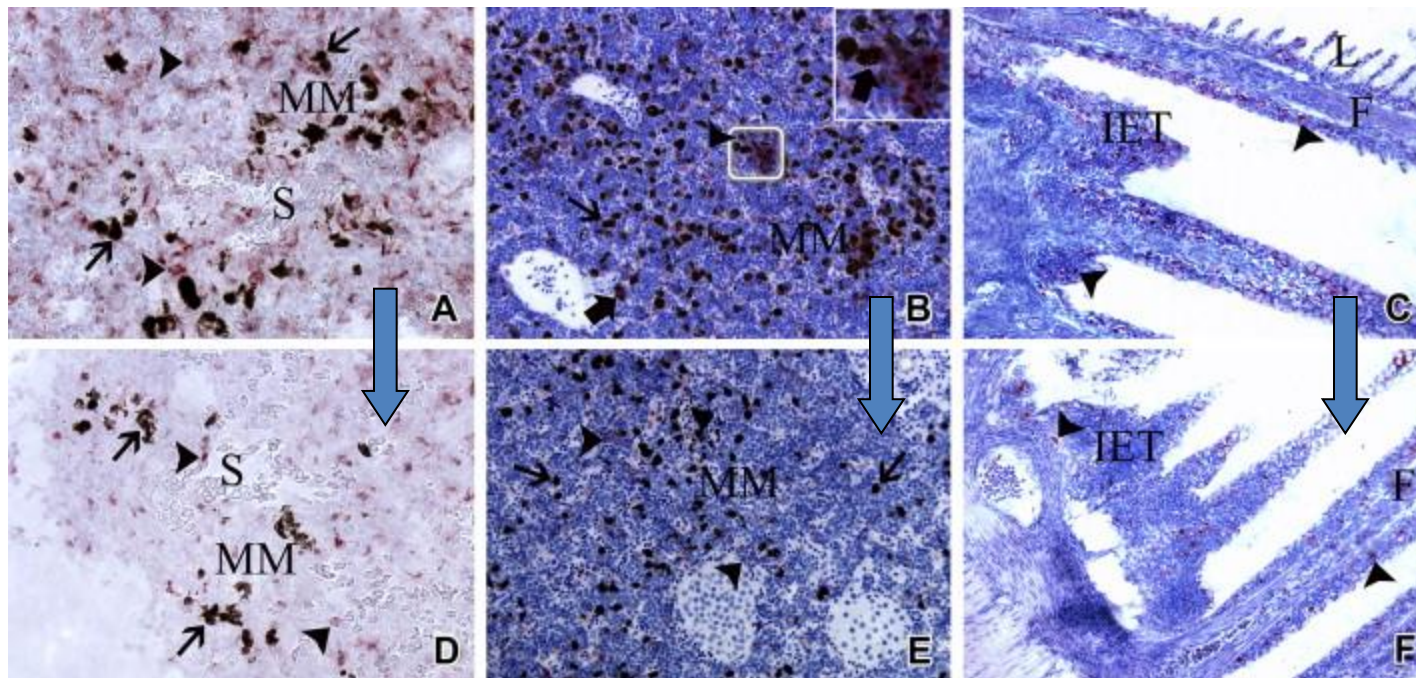
MHC II DAB\*0301- DAA\*0501 påvirker resistens mot furunkulose

# 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

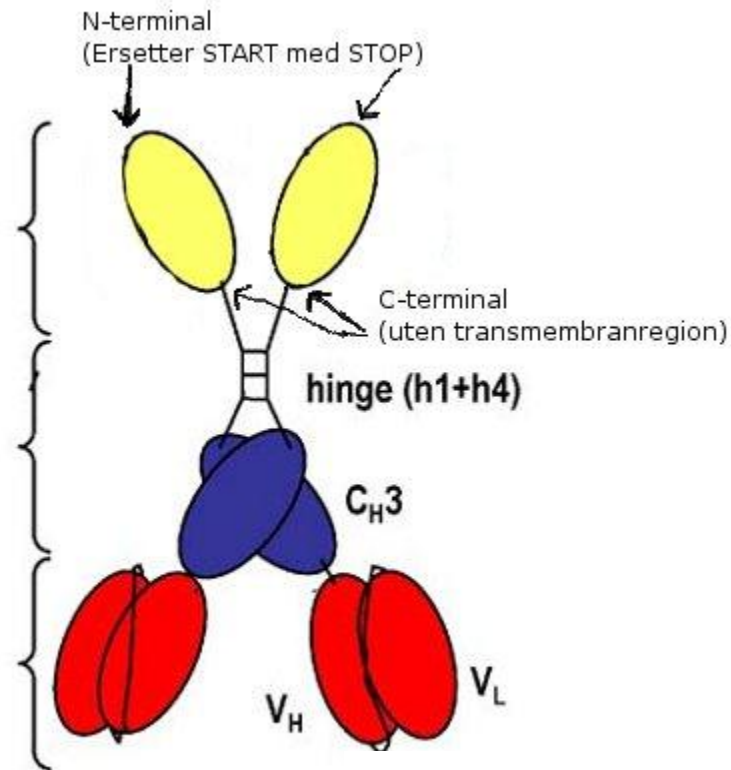
## Targeting units:

scFv specific for MHC class II on APC

## dimerization units:

hinge (h1 and h4 exon) and C<sub>H</sub>3 from human IgG3

## Antigenic units:



Promoter

Target

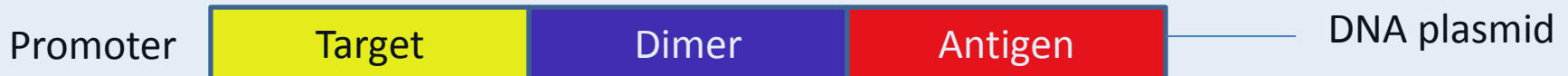
Dimer

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

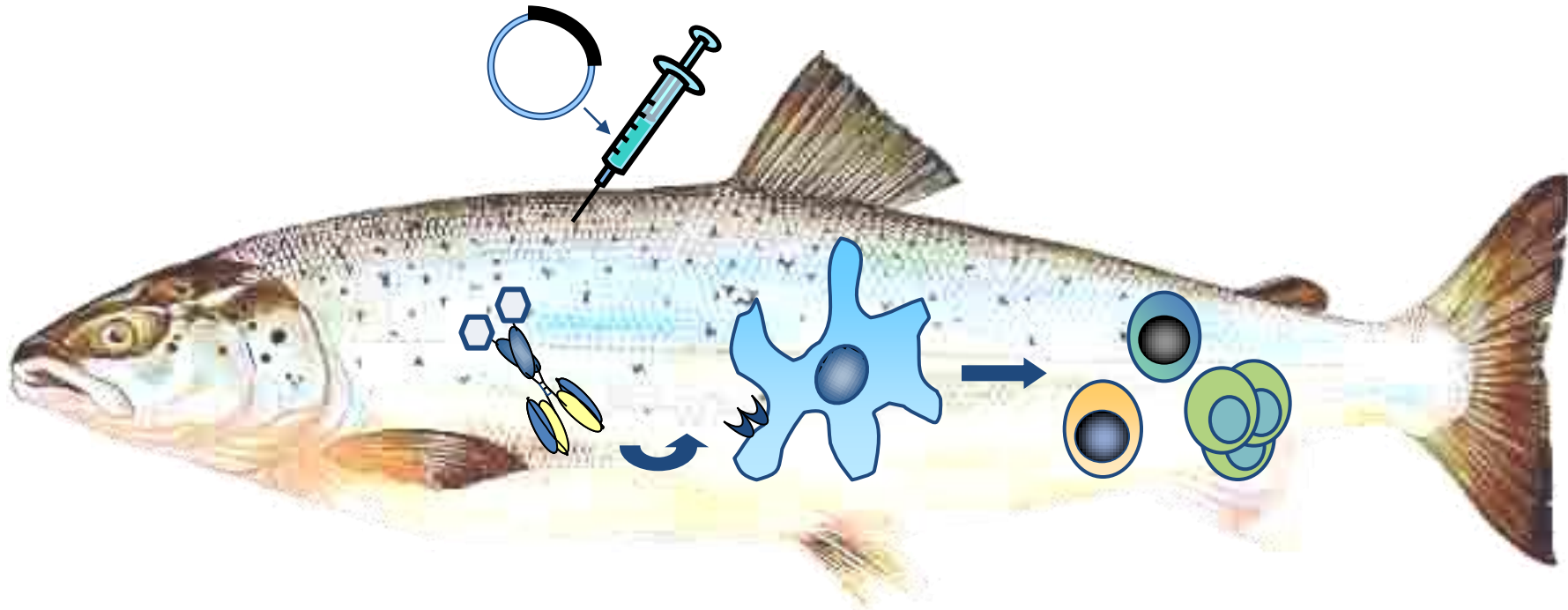




# Adaptere fra pattedyr til laks

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

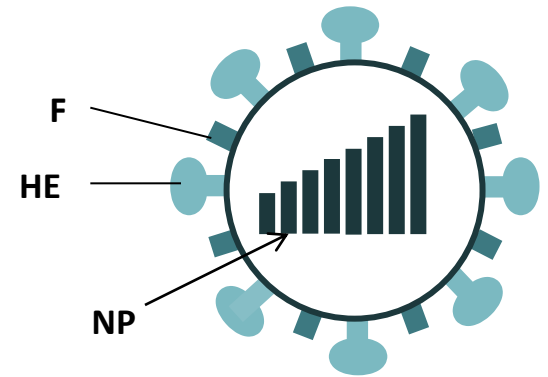
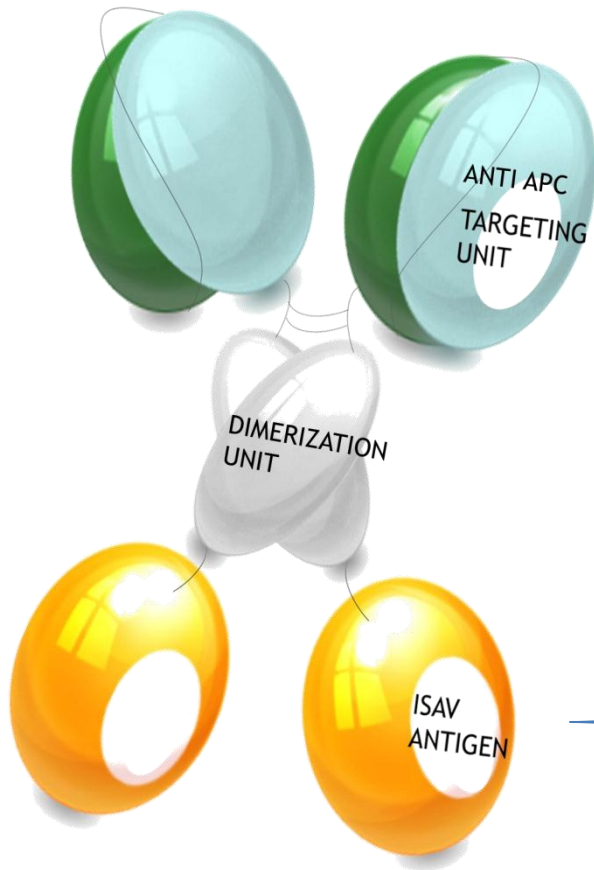
# Lakse vaccibodies



## 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

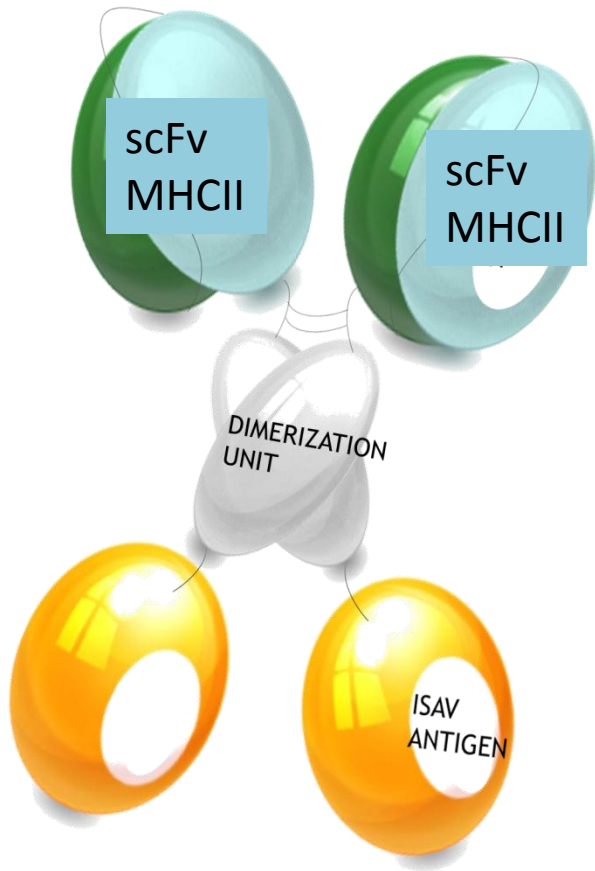
# Hvilke antigener skal vi bruke?



## 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)

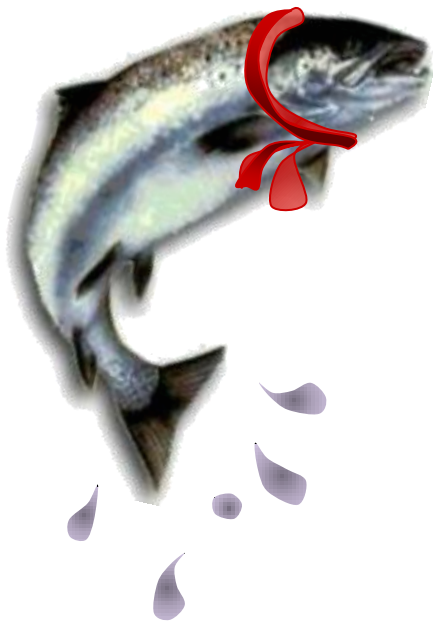
Alle APC'er vil potensielt kunne ta opp en MHCII-  
målstyrt vaccibody

# Vaccibodies og vyer



## Fordeler:

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



## **A CURE FOR THE SALMON FLU?**

Takk for oppmerksomheten!