

POCT-NeutCov – neutralisierende Antikörper bestimmen

Der Nachweis von COVID-19-Immunität soll durch nanotechnologiebasierte neuartige Schnelltests möglich gemacht werden.

Prof. Dr. Antje J. Baeumner, Institut für Analytische Chemie, Chemo- und Biosensorik, Universität Regensburg



Direktorin Prof. Dr. Antje J. Baeumner

In der COVID-19-Pandemie wird deutlich, wie notwendig analytische Schnelltests und diagnostische Schnellverfahren sind, um eine Gesellschaft sicher durch die gefährlichen Fahrwasser von sich rasch ausbreitenden Infektionen, möglicher Überlastung des Gesundheitssystems und resultierenden Todesfällen zu navigieren. So wurden im Jahr 2020 mit beeindruckender Geschwindigkeit weltweit diagnostische Testsysteme für SARS-Coronavirus-2 (SARS-CoV-2) auf den Markt gebracht, mit deren Hilfe Antikörper, Antigene und Virus-RNA nachgewiesen werden können. Die grundlegenden Detektionstechnologien waren alle bereits in Form von Lateral-Flow-Assays (LFAs), Immuntests auf der Basis des Enzyme-Linked-ImmunoAssays (ELISA) und Verfahren mit der Polymerasekettenreaktion (PCR) seit Jahrzehnten bekannt und mussten „nur“ noch an den neuen pathogenen Krankheitserreger, das SARS-CoV-2, angepasst werden. Natürlich bedarf es hier weiterer Innovation, damit nicht nur in zentralen, analytischen Laboren hochspezifische, genaue und verlässliche Messungen durchgeführt werden können, sondern damit gleichwertige Ergebnisse auch an mobilen Teststationen oder vom Verbraucher selber zu Hause oder unterwegs mit Schnelltests einfach erzielbar sind.

Immunstatus nach Erkrankung und Impfung ermitteln

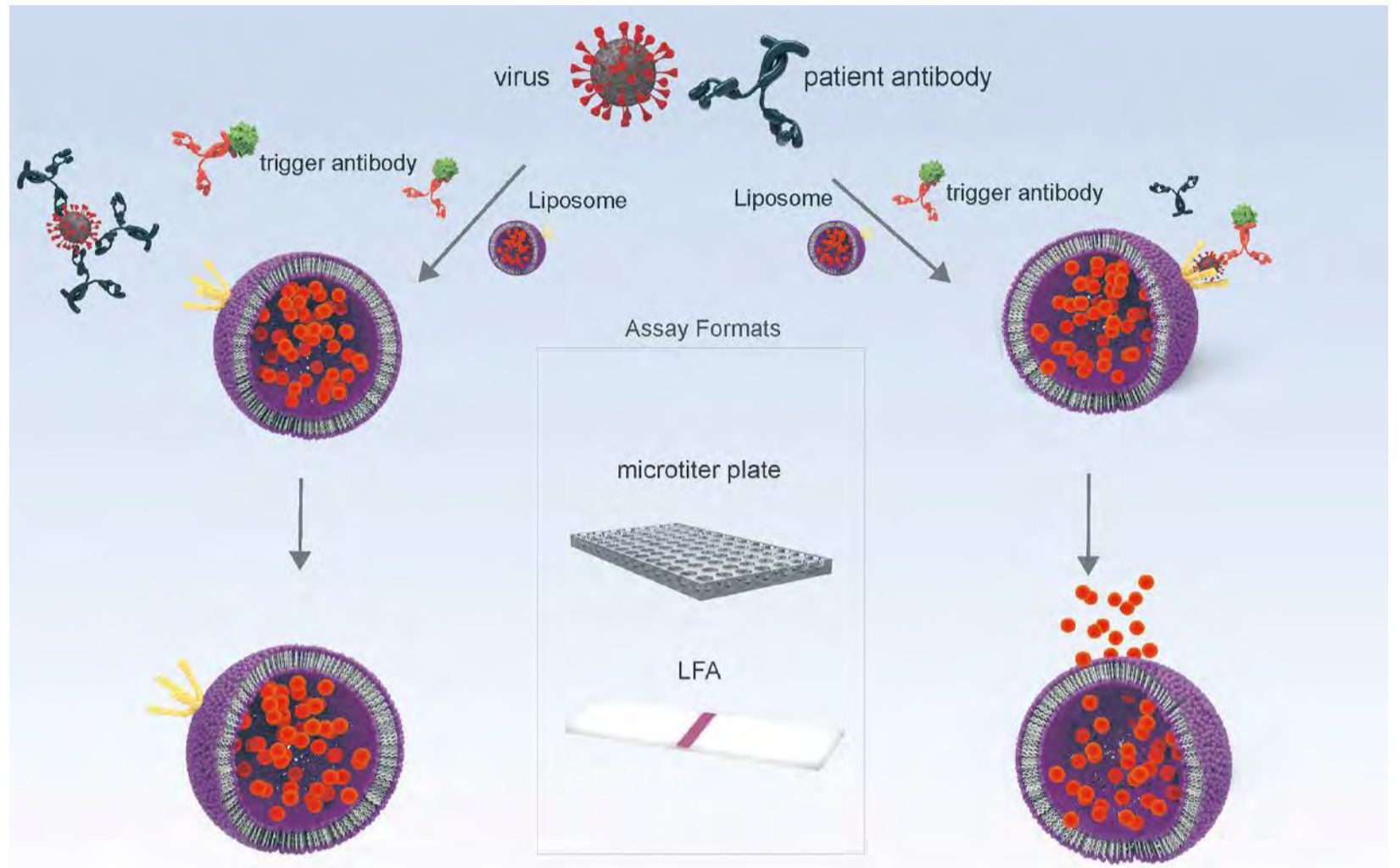
Der sichere Nachweis einer bestehenden oder überstandenen Infektion mit einem Krankheitserreger reicht aber nicht aus, sondern es ist ebenso wichtig zu wissen, ob die Betroffenen im Anschluss immun gegen eine weitere Infektion sind. Die gleiche Frage muss auch für den Immunstatus nach einer erfolgreichen Impfung geklärt werden. Existierende Testverfahren, die Neutralisationstests, bestimmen, ob

Patientenseren verhindern können, dass das Virus an seinen Zellrezeptor, dem ACE2-Protein, bindet und nachfolgend diese Zelle infiziert. Vereinfacht wird somit vom Vorhandensein neutralisierender Antikörper im Gegensatz zu „nur“ bindenden Antikörpern gesprochen, wobei letztere keine Aussage zur Immunität eines Patienten geben können.

Schnelltests oder skalierbare Hochdurchsatztestsysteme (HTS), mit denen so ein Neutralisationstest in einfachen Laboren durchgeführt werden, gibt es nur ansatzweise. So wurden Ende 2020 und Anfang 2021 hier die ersten Produkte vorgeschlagen. Besonders wichtig ist dabei die Entwicklung von nicht-infektiösen Virus-ähnlichen Partikeln (virus like particles, VLPs), welche, wie das Virus selber, spezifisch an ACE2 binden, aber keine Krankheitserreger sind und somit außerhalb von Speziallaboren eingesetzt werden können. Ebenso wichtig sind die Entwicklung von einfachen, jedoch hochsensitiven Ausleseverfahren und Testkomponenten, die günstig hergestellt werden können und robust sind. Ohne diese Eigenschaften sind keine Neutralisations-Schnelltests für den Gebrauch außerhalb des analytischen Labors oder skalierbare Hochdurchsatzsysteme zur Routineanalyse ganzer Bevölkerungsgruppen möglich.

POCT-NeutCov – Projekt der Forschungsstiftung

Genau diesen Herausforderungen stellt sich das Team des POCT-NeutCov-Projektes. Gefördert durch die Bayerische Forschungsstiftung, liegt die Projektleitung am Institut für Analytische Chemie,



Liposomen-basierter Test für neutralisierende Antikörper (nAK). Virus (oder VLPs) und Liposomen werden mit Patientenserum inkubiert. (l) Sind Patientenantikörper vor allem als nAK vorhanden, verhindern sie das Binden des Virus an ihren Rezeptor auf den Liposomen. Die Liposomen bleiben intakt. (r) Sind keine nAK vorhanden, bindet das Virus an seinen Rezeptor. Ein nun zugefügtes Triggermolekül bindet das Virus. Die räumliche Nähe des Triggermoleküls zum Liposom führt zu dessen Zerstörung, sodass die im Liposom eingeschlossenen Farbstoffmoleküle herausgelassen werden. Leere und volle Liposomen können direkt in einem Hochdurchsatzverfahren in der Mikrotiterplatte oder in einem Schnelltest als Lateral-Flow-Assay (LFA) unterschieden werden.

Foto: Baeumner, 2021

Chemo- und Biosensorik der Universität Regensburg. Zusammen mit Experten der Virologie im Arbeitskreis von Herrn Prof. Ralf Wagner (Universität Regensburg), der Immunologie im Arbeitskreis von Frau Prof. Diana Pauly (Universität Marburg/Universitätsklinikum Regensburg), der pharmazeutischen Technologie von Frau Prof. Miriam Breunig (Universität Regensburg) und den Industriekooperationspartnern Microcoat Biotechnologies sowie Mikrogen entwickelt das Team einen Schnelltest und ein Hochdurchsatzverfahren zum Nachweis von neutralisierenden Antikörpern auf der Basis von Nanomaterialien. So werden Liposomen, Nanovesikel mit einer biologischen Membran mit einem Durchmesser zwischen 100 und 200 nm, als stabiles, synthetisch herstellbares Surrogat für Zellen

verwendet. Silikananopartikel werden als anorganische VLPs entwickelt. Das Prinzip des Bioassays ist in der obigen Abbildung dargestellt und erklärt.

Innovative Testkomponenten erfolgreich eingesetzt

Besonders wichtige Eigenschaften der avisierten Testsysteme sind (i) die Einfachheit des Testablaufs, da keine mehrfachen Pipettier- und Waschschritte, sondern nur ein einfaches Mischen aller Testkomponenten, 1- bis 2-stündiger Inkubation und anschließendes Auslesen notwendig sind. Weitere Alleinstellungsmerkmale sind (ii) die Silikananopartikel, die mit SARS-CoV-2-Proteinen spezifisch belegt werden. Diese anorganischen VLPs sind günstig herzustellen und einfach und stabil zu lagern,

ganz im Gegensatz zu den normalerweise verwendeten biologischen VLPs. Schließlich sind (iii) die Liposomen ein zentraler Bestandteil des Assayprinzips. Synthetisch einfach herzustellen, werden Liposomen häufig in Medikamenten, Cremes und anderen Kosmetika benutzt. Da die Oberfläche der Liposomen mithilfe gängiger Kopplungsschemie mit dem ACE2 dekoriert werden kann, in das innere Volumen große Mengen an Signalgebern einschlossen werden können und sie aus einer biologischen Membran bestehen, bieten sie eine einzigartige Möglichkeit, als signalgebendes Zellsurrogat zu fungieren. Der Einschluss eines Farbstoffes (Sulforhodamin B) erlaubt sowohl eine visuelle Auslesung im Schnelltestformat als auch eine hochsensitive, fluoreszente Messung im Hochdurchsatztest.

Auch auf andere neue Erreger schnell reagieren

Die Wissenschaftler des interdisziplinären Projektteams forschen Hand in Hand im Zusammenspiel von akademischer, kreativer Innovation und industrieller, realitätsbezogener Routine mit der Vision, schon bald diese ganz neuartigen Testsysteme zur Verfügung zu stellen, um in der derzeitigen Pandemie allen Betroffenen ein wichtiges Tool in die Hand zu geben und ungetrübtere Normalität wieder in den Alltag einziehen zu lassen. In der Zukunft ist dieses neue Produkt zum Nachweis neutralisierender Antikörper gegen SARS-CoV-2 eine geeignete Grundlage, um schnell auch auf andere neu auftretende Krankheitserreger zu reagieren.

| www.uni-regensburg.de |

Point-of-Care-Diagnostik von Roche

Präzise, effizient und vollvernetzt

Blutzuckerdiagnostik

Accu-Chek® Inform II System

Ketosure™ POC System

Gerinnungsmanagement

Multiplate® Analyser

CoaguChek® Pro II System

Klinische Chemie

cobas® b 101 System

Blutgasanalyse

cobas® b 221 System

cobas® b 123 System

Infektionsdiagnostik

Kardiale Marker

cobas® h 232 System

SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test

Molekulare Diagnostik

cobas® Liat® System

Urinalyse

Urisys® 1100 System

cobas® infinity POC solution

Mehr erfahren unter: [roche.de/poc](https://www.roche.de/poc)

Veröffentlicht von: Roche Diagnostics Deutschland GmbH | Sandhofer Straße 116 | 68305 Mannheim