



Fonte: [UNIVERSITÀ STATALE DELL'IOWA](#) presentata al 

UNA NUOVA TECNOLOGIA PER IL VACCINO A MRNA PER LA PREVENZIONE DEL VIRUS RESPIRATORIO SINCIZIALE BOVINO

Istituzione promotrice	Istituto Nazionale per l'Alimentazione e l'Agricoltura	Stato del progetto	Nuovo
Adesione n.	1027610	Fonte di finanziamento	SALUTE ANIMALE
Progetto n.	IOWV024007-00003	Frequenza di segnalazione	Annuale
Multistato n.	(N / A)	Concessione n.	(N / A)
Data di inizio del progetto	ottobre 1, 2021	Proposta n.	(N / A)
Anno di sovvenzione	(N / A)	Codice del programma	(N / A)
		Data di fine del progetto	Settembre 30, 2026

Direttore del progetto

[VERHOEVEN, DA](#), .

Organizzazione dei destinatari

[UNIVERSITÀ STATALE DELL'IOWA](#)

2229 Via Lincoln
AMES, IA 50011

Dipartimento di spettacolo

Microbiologia Veterinaria e Medicina Preventiva

Sintesi non tecnica

Il virus respiratorio sinciziale bovino (RSV) è un importante patogeno virale delle giovani mucche ed è un componente chiave del complesso delle malattie respiratorie e spesso porta a polmonite batterica secondaria. Prefusion F ha recentemente dimostrato di essere altamente efficace nelle vacche esposte a RSV stabulate in barriere. Tuttavia, la difficoltà nel generare F prefusione insieme al costo della sua produzione rappresentano un ostacolo all'adozione da parte dell'azienda agricola. Anche l'immunità all'RSV tende a svanire rapidamente e, date le complicazioni dei bovini allevati in campo o in recinti e i loro fattori di stress e altre malattie circolanti, il vaccino a proteico potrebbe non rivelarsi altamente efficace nel mondo reale. Qui testeremo un nuovo sistema di vaccino a mRNA che abbiamo sviluppato che abbassa sostanzialmente il prezzo per gli animali da produzione e potrebbe portare a trascrizioni più stabili termicamente compatibili con la vaccinazione in allevamento. Anche l'uso di un sistema di somministrazione alternativo rispetto alle nanoparticelle lipidiche ridurrà i costi del vaccino. Ci aspettiamo di dimostrare l'efficacia della piattaforma vaccinale utilizzando inizialmente i topi come prova di principio prima di passare a un sistema completo di vaccinazione e provocazione della mucca nel secondo anno. Il nostro obiettivo generale è testare un nuovo sistema di mRNA per indurre protezione immunologica dall'infezione da RSV bovina. Ipotizziamo che un mRNA F prefusione fornito continuamente dall'impianto del vaccino porterà a un'immunità cellulare e anticorpale prolungata e robusta. Qui ottimizzeremo ulteriormente il nostro vaccino e poi testeremo i potenziali correlati di protezione da esaminare nelle vacche eventualmente infette.

Componente Salute Animale 100%

Categorie di sforzo di ricerca

Di base 100%
Applicato (N / A)
Sviluppo (N / A)

Classificazione

Area della conoscenza (KA)	Oggetto dell'indagine (SOI)	Settore scientifico (FOS)	Per cento
311	3310	1090	100%

Area della conoscenza
[311 - Malattie degli animali](#);

Oggetto dell'indagine

3310 - Bovini da carne, animali vivi;

Campo della scienza

1090 - Immunologia;

Parole chiave

RSV

bovino

Vaccino

mrna

Scopi/obiettivi

Lo sviluppo di una nuova piattaforma di mRNA economicamente efficiente e termostabile aprirà la strada alla vaccinazione degli animali da produzione con questa tecnologia. Qui svilupperemo la piattaforma per un vaccino bovino contro il virus RSV F come prova di principio per lo sviluppo di vaccini contro questo agente patogeno ma anche come piattaforma tecnologica anche per altri vaccini. L'obiettivo 1 sarà lo sviluppo della tecnologia e l'obiettivo 2 ne testerà l'efficacia in vivo.

Metodi di progetto

Obiettivo 1. Esprimere e caratterizzare la proteina BRSV F utilizzando la nostra tecnologia mRNA. Abbiamo già identificato una buona cassetta di espressione di mRNA utilizzando gli UTR fiancheggiati TPAV 5' e 3' esaminati sopra. Abbiamo anche già a disposizione F bovino selvatico e F prefusione sintetizzati commercialmente come plasmidi utilizzando oligo sovrapposti e ora li abbiamo inseriti nel nostro sistema di espressione TPAV. Mentre i vaccini COVID hanno esplorato la prefusione rispetto alla post-fusione rispetto ad altri formati per la stabilizzazione durante il loro sviluppo, si è scoperto che l'mRNA che genera mRNA utilizzando principalmente RNA wild-type (insieme all'ottimizzazione del codone) mantiene il dominio transmembrana era il più efficace negli studi sugli animali prima test sugli esseri umani. Tuttavia, l'RSV potrebbe non essere così semplice poiché la proteina F è molto più metastabile delle proteine spike del coronavirus che portano alla scissione spontanea nella conformazione post-fusione meno favorevole. Pertanto, è necessario determinare la conformazione ottimale (pre o post-fusione) per l'RSV F in un formato di vaccino mRNA. Non ci limiteremo a utilizzare la post-fusione perché se l'mRNA è più simile all'RNA virale di tipo selvaggio, siamo più distanti dai formati F brevettati pre-fusione. Semplicemente non sapremo quanto bene i due si confrontano finché non li testiamo. La proteina del picco COVID ha mantenuto il dominio transmembrana, il che ne aumenta la sicurezza poiché la proteina è altamente tossica per le cellule e farla produrre dai vaccini mRNA nel corpo e poi farla circolare nel sangue o nei tessuti sarebbe piuttosto dannosa. I trascritti F senza il dominio transmembrana possono esprimersi in modo più extracellulare ed evocare una risposta delle cellule B più robusta o, come il picco, trattenere sulla superficie cellulare sarà più che sufficiente l'esposizione alle cellule presentanti l'antigene e alle cellule B per innescare una vigorosa risposta anticorpale funzionale. Ancora una volta, non lo sapremo finché non lo testeremo. Obiettivo 1a: testare le conformazioni pre e post-fusione dell'mRNA che esprime conformazioni wild-type o prefusione. Testeremo i nostri costrutti trasferendo cellule epiteliali polmonari A549 con mRNA compreso tra 0,1 e 5 mg di mRNA. La conformazione della F sarà determinata mediante western blotting utilizzando anticorpi AM14/D25 (prefusione) o motavizumab (entrambi). Poiché sappiamo che il nostro antigene vaccinale mRNA continua ad esprimersi fino ad almeno otto giorni dopo la trasfezione, testeremo una serie di punti temporali dopo la trasfezione dal giorno 0-d12 per i cambiamenti nella conformazione proteica durante l'espressione. Questa prova a tempo sarà importante per sapere solo per quanto tempo si esprime il nostro mRNA ma anche in quale conformazione e per quanto tempo. Obiettivo 1b: Costruire mRNA F per prefusione o wild-type senza dominio transmembrana. Poiché potremmo ottenere cellule B migliori e Per rispondere alle risposte delle cellule T da una F che secerne dalle cellule, dobbiamo sviluppare questa versione dei nostri vaccini mRNA per i test. Nello specifico, elimineremo il dominio transmembrana dai nostri costrutti mediante PCR clonando il dominio esterno e lo sostituiremo all'interno delle nostre cassette di espressione. Verrà quindi effettuata una qualificazione simile a quella 1a. Obiettivo 2. Esplorare modi ottimali per aumentare l'mRNA target negli EV ed esplorare la loro termostabilità dopo la liofilizzazione come bolo o bastoncini di polianidride. Obiettivo 2a: EV utilizzando il nostro mRNA F prefusione (probabilmente qualsiasi altro formato di mRNA lo farà seguire l'esempio) saranno trasferiti mediante DEAE-Destrano e shock di glicerolo utilizzando trascritti generati dalla PCR sotto un promotore T7. Le nostre linee cellulari stabili della polimerasi T7 inizieranno quindi a produrre le nostre trascrizioni di mRNA TPAV/F e a incorporarle negli EV. Qualificheremo gli EV mediante nanosight per la concentrazione per ml dopo la raccolta 3 giorni dopo la trasfezione e l'ultracentrifugazione, li immagineremo scansando EM per la conformazione della struttura e quantificheremo le nostre trascrizioni di mRNA mediante qRT-PCR rispetto a un calibratore F. Raccoglieremo anche l'RNA totale da tutti i veicoli elettrici per garantire che la maggior parte dei veicoli elettrici porti il nostro mRNA e non il cellulare. Proveremo anche altre due cose per aumentare ulteriormente sia gli EV che il nostro mRNA all'interno di quegli EV. (1) Sottoporremo a shock termico le nostre cellule dopo la trasfezione (402.?