

2006/06/21

EBERHARD KARLS
UNIVERSITÄT
TÜBINGEN



Inhibition of respiratory syncytial virus infection with intranasal siRNA nanoparticles targeting the viral NS1 gene

Zhang W. et al, Nature med. 11, 56-62 (2005)

Virologie Seminar
Stefan Mogk

Übersicht

- Respiratory Syncytial Virus
- RNA Interferenz / Gene silencing
- siNS1 Inhibition
- Einfluss von siNS1 auf den Interferon Pathway
- Einfluss von siNS1 auf Zellen des Immunsystems
- siNS1 Nanopartikel in Mäusen
- siNS1 Nanopartikel als Prophylaxe oder Therapeutikum
- Zusammenfassung



Respiratory Syncytial Virus (RSV)

- umhülltes Virus mit helikalem Kapsid
- einzelsträngige RNA
negative Polarität,
15.2 kb
- Tröpfcheninfektion,
kurze Inkubationszeit
rezidivierende Infektion möglich, da keine Immunität
- Risikofaktoren:
kardiale Arrhythmie,
angeborene Herzkrankheiten,
Immunsuppression (HIV, nach Transplantationen)

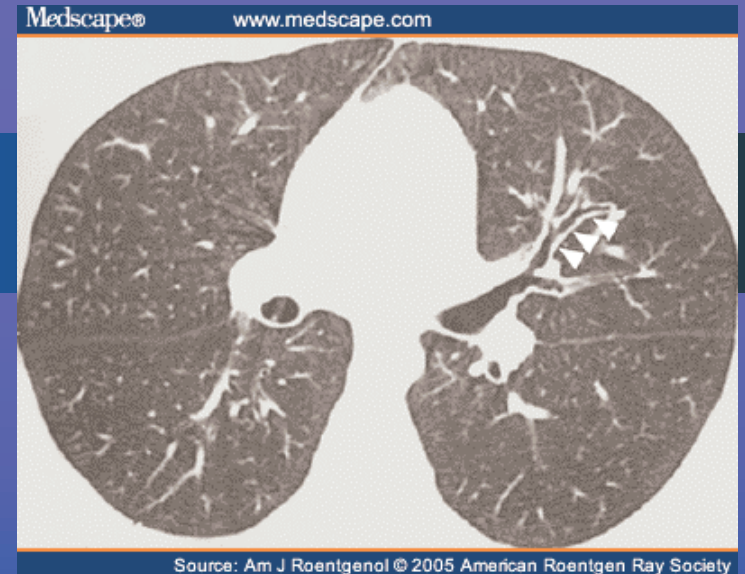
Baltimore-Gruppe: V (-)
ssRNA, helikal, umhüllt

Ordnung: Mononegavirales
Familie: Paramyxoviridae
Gattung: *Pneumovirus*
Art: Human RSV

RSV

Erkrankungen:

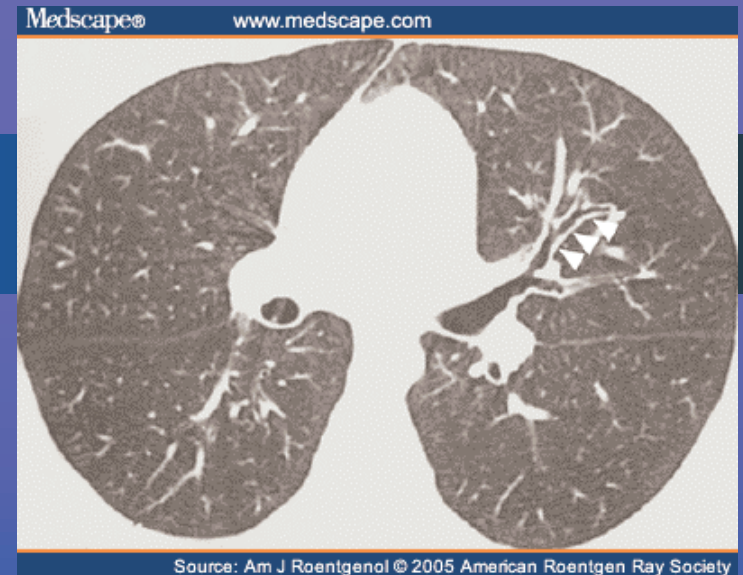
- respiratorische Infektionen
- Bronchiolitis mit Anschwellen der kleinen Bronchien, so dass eine alveolare Entlüftung erschwert wird



RSV

Erkrankungen:

- respiratorische Infektionen
- Bronchiolitis mit Anschwellen der kleinen Bronchien, so dass eine alveolare Entlüftung erschwert wird

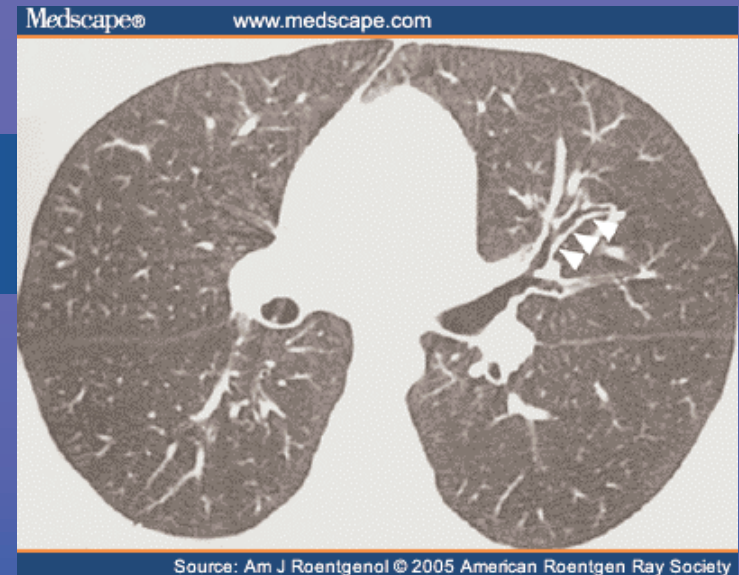


- Otitis media (insbesondere bei Kindern)
- Pneumonie (Alte, Immunsupprimierte)
- Risiko allergischer / asthmoider Erkrankungen

RSV

Erkrankungen:

- respiratorische Infektionen
- Bronchiolitis mit Anschwellen der kleinen Bronchien, so dass eine alveolare Entlüftung erschwert wird



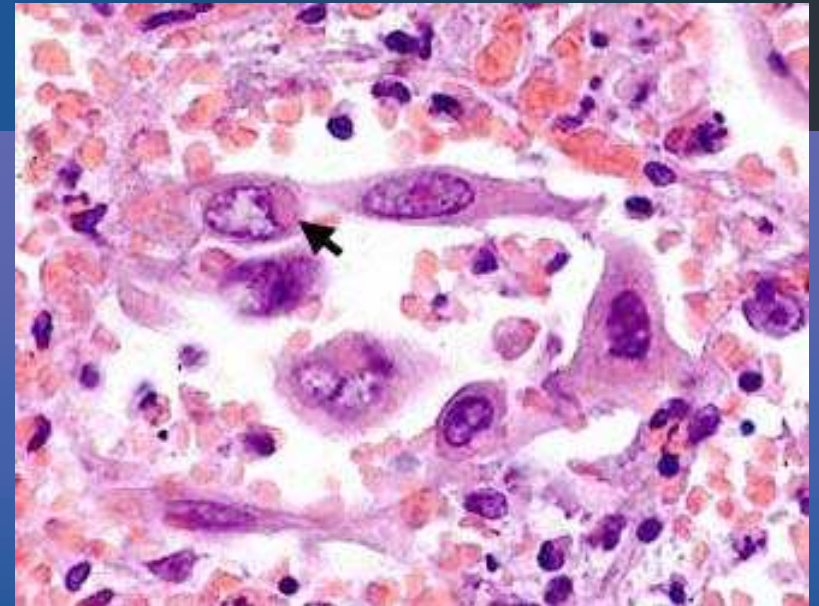
- Otitis media (insbesondere bei Kindern)
- Pneumonie (Alte, Immunsupprimierte)
- Risiko allergischer / asthmoider Erkrankungen

1991 – 1998 : jährlich 17000 +

RSV

- **Vorbeugung:**
passive Immunisierung mit
monoklonalen AK
nur für Hochrisiko-Patienten
keine Vaccine
- **Behandlung:**
meist nur symptomatisch

Ribavirin (Nucleosidanalogen)
Effektivität in Blindstudien nicht bewiesen



Respiratory Syncytial Virus

(-) ssRNA



10 mRNA Transkripte



11 verschiedene Proteine

→ 9 Strukturproteine
(inkl. Enzymapparat)

→ 2 Nicht-Strukturproteine

✂ Deletion führt zu
abgeschwächtem
Verlauf der Infektionen



wichtig für
virale Replikation,
Einfluss auf Interferon
Stoffwechsel

→ NS1 / NS2

Übersicht

- Respiratory Syncytial Virus
- RNA Interferenz / Gene silencing
- siNS1 Inhibition
- Einfluss von siNS1 auf den Interferon Pathway
- Einfluss von siNS1 auf Zellen des Immunsystems
- siNS1 Nanopartikel in Mäusen
- siNS1 Nanopartikel als Prophylaxe oder Therapeutikum
- Zusammenfassung



RNA Interferenz

antisense RNA

≠

siRNA

small interfering RNA
„silencing RNA“

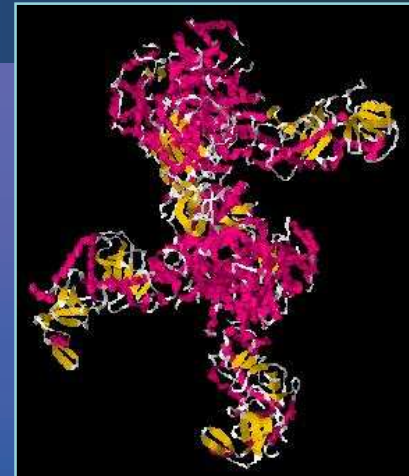
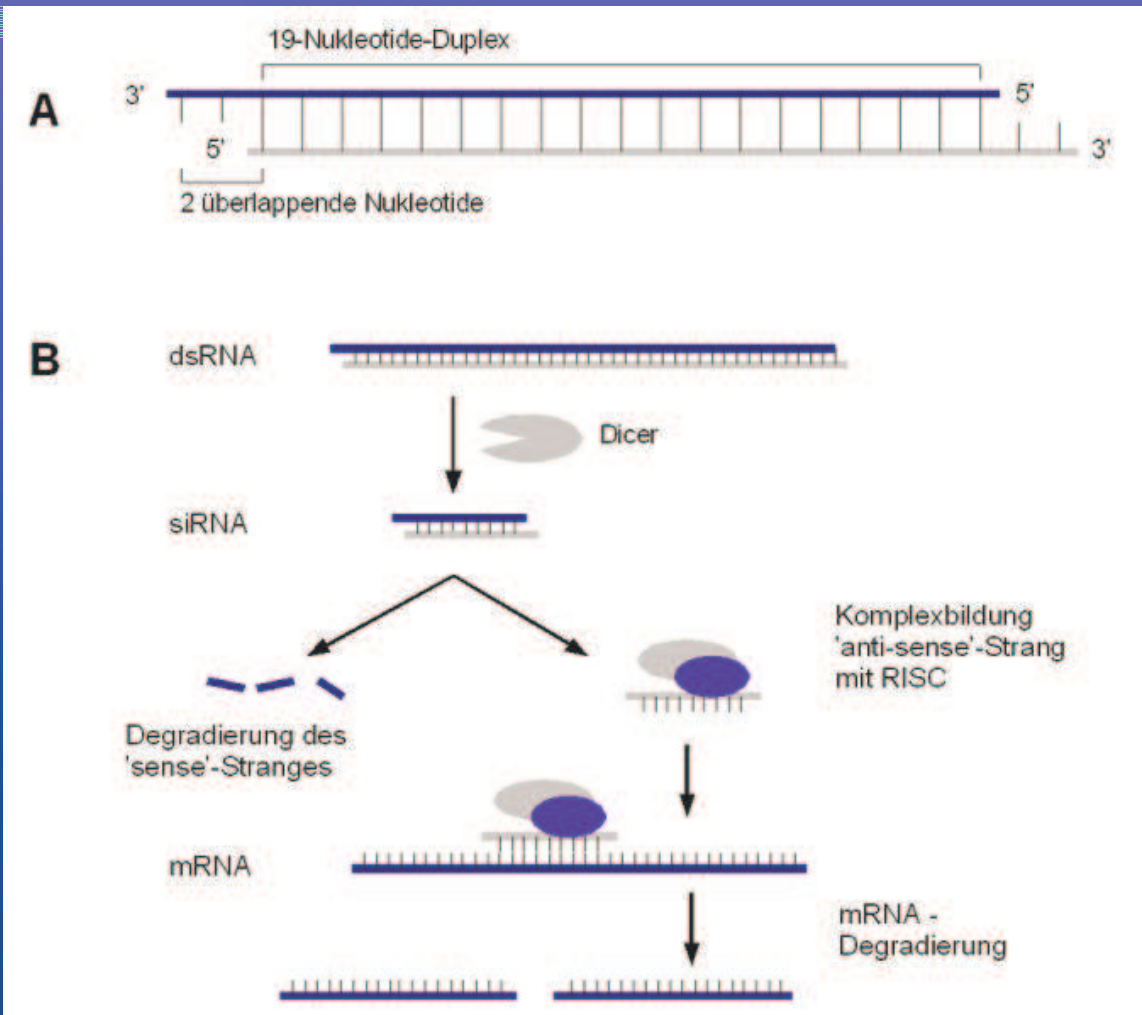
Zellkern

Zytoplasma

verhindert post-transkriptionelle
Prozessierung von hnRNA

Abbau von mRNA

RNA Interferenz



Dicer (Struktur)

**RISC = RNA induced
silencing complex**

Übersicht

- Respiratory Syncytial Virus
- RNA Interferenz / Gene silencing
- siNS1 Inhibition
- Einfluss von siNS1 auf den Interferon Pathway
- Einfluss von siNS1 auf Zellen des Immunsystems
- siNS1 Nanopartikel in Mäusen
- siNS1 Nanopartikel als Prophylaxe oder Therapeutikum
- Zusammenfassung



siNS1 Inhibition rekombinanter RSV Infektionen

Verwendete Konstrukte:

Zellen		
A549 ● permanente Zelllinie (Karzinom) ● Lungenepithel ● normale Interferon (IFN) Expression		

siNS1 Inhibition rekombinanter RSV Infektionen

Verwendete Konstrukte:

Zellen		
A549 ● permanente Zelllinie (Karzinom) ● Lungenepithel ● normale Interferon (IFN) Expression		
Vero ● IFN Typ I (α & β) defizient		

siNS1 Inhibition rekombinanter RSV Infektionen

Verwendete Konstrukte:

Zellen	Viren	
A549 ● permanente Zelllinie (Karzinom) ● Lungenepithel ● normale Interferon (IFN) Expression Vero ● IFN Typ I (α & β) defizient	RSV ● Wildtyp	

siNS1 Inhibition rekombinanter RSV Infektionen

Verwendete Konstrukte:

Zellen	Viren	
A549 ● permanente Zelllinie (Karzinom) ● Lungenepithel ● normale Interferon (IFN) Expression Vero ● IFN Typ I (α & β) defizient	RSV ● Wildtyp rgRSV ● rekombiniertes RSV ● exprimiert green fluorescent protein (GFP)	

siNS1 Inhibition rekombinanter RSV Infektionen

Verwendete Konstrukte:

Zellen	Viren	Plasmide / siRNA Insertionen
A549 ● permanente Zelllinie (Karzinom) ● Lungenepithel ● normale Interferon (IFN) Expression Vero ● IFN Typ I (α & β) defizient	RSV ● Wildtyp rgRSV ● rekombiniertes RSV ● exprimiert green fluorescent protein (GFP)	pSMWZ-1 siNS1 gegen NS1 siNS1a siE7 gegen HPV siPBZ gegen Influenza siUR keine Homologie zu Säugierzellen

siNS1 Inhibition rekombinanter RSV Infektionen

Verwendete Konstrukte:

Zellen	Viren	Plasmide / siRNA Insertionen
A549 ● permanente Zelllinie (Karzinom) ● Lungenepithel ● normale Interferon (IFN) Expression Vero ● IFN Typ I (α & β) defizient	RSV ● Wildtyp rgRSV ● rekombiniertes RSV ● exprimiert green fluorescent protein (GFP)	pSMWZ-1 siNS1 gegen NS1 siNS1a siE7 gegen HPV siPBZ gegen Influenza siUR keine Homologie zu Säugierzellen pEGFP

siNS1 Inhibition rekombinanter RSV Infektionen

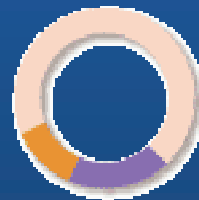
- rgRSV-Infizierte Zellen sollen im Folgenden mit siRNA „geheilt“ werden; kranke Zellen erkennt man an der Expression des GFP

- Vorversuch:

Verändert eines der siRNA-Konstrukte selbst die Expression des GFP ?



A549



pEGFP



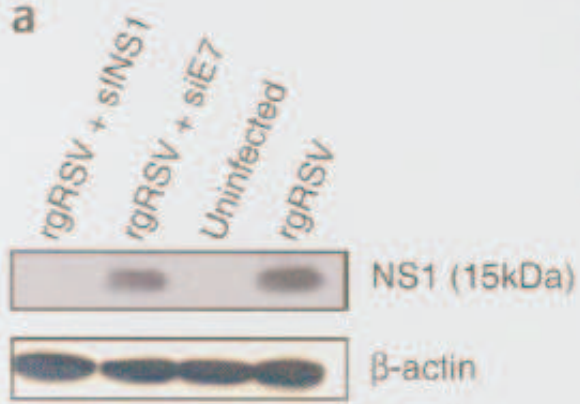
alle siRNA Konstrukte

- Ergebnis:

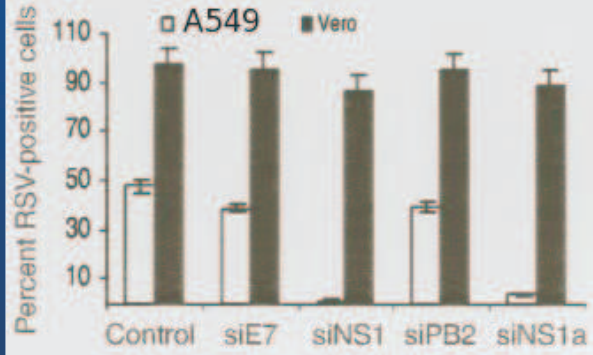


GFP wird konstant exprimiert und kann zur Visualisierung einer Infektion benutzt werden.

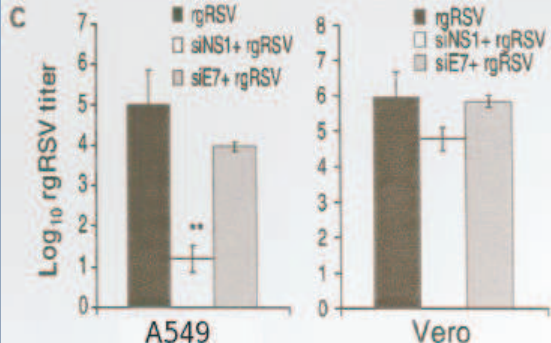
siNS1 Inhibition rekombinanter RSV Infektionen

Fragestellung	Methode	Ergebnis
● reduziert siNS1 die Expression von NS1 ? ● werden andere virale Proteine weiterhin exprimiert? ● haben Negativkontrollen Einfluss auf die NS1-Expression ?	Immunoblotting  A549  rgRSV  siNS1 / siE7 (- Kontrolle)	siNS1 reduziert NS1, siE7 nicht a 

siNS1 Inhibition rekombinanter RSV Infektionen

Fragestellung	Methode	Ergebnis																		
• schwächt siNS1 die virale Infektion von A549 Zellen? → grüne (infizierte) und farblose Zellen werden gezählt • schwächt siNS1 die virale Infektion von IFN-defizienten Vero-Zellen ?	Flow cytometry (FACS)  A549 / Vero  rgRSV  siNS1 / siRNAs (- Kontr.)	• A549 Infektion geschwächt • Vero Infektion stabil  <table border="1"> <caption>Percent RSV-positive cells</caption> <thead> <tr> <th>Treatment</th> <th>A549 (%)</th> <th>Vero (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Control</td> <td>~48</td> <td>~100</td> </tr> <tr> <td>siE7</td> <td>~38</td> <td>~100</td> </tr> <tr> <td>siNS1</td> <td>~2</td> <td>~88</td> </tr> <tr> <td>siPB2</td> <td>~38</td> <td>~100</td> </tr> <tr> <td>siNS1a</td> <td>~5</td> <td>~90</td> </tr> </tbody> </table>	Treatment	A549 (%)	Vero (%)	Control	~48	~100	siE7	~38	~100	siNS1	~2	~88	siPB2	~38	~100	siNS1a	~5	~90
Treatment	A549 (%)	Vero (%)																		
Control	~48	~100																		
siE7	~38	~100																		
siNS1	~2	~88																		
siPB2	~38	~100																		
siNS1a	~5	~90																		

siNS1 Inhibition rekombinanter RSV Infektionen

Fragestellung	Methode	Ergebnis												
● reduziert siNS1 den Virentiter im Überstand? → Verdünnung und Infektion frischer Zellen, 5 Tage Kultivieren, Plaques zählen (Plaque-forming-units) ● E7- Negativkontrolle ?	Plaque Assay  A549 / Vero  rgRSV  siNS1 / siE7 (- Kontrolle)	Virentiter ist bei siNS1 geringer, aber nicht bei siE7 / Vero C <table><thead><tr><th>Cell Type</th><th>rgRSV</th><th>siNS1+rgRSV</th><th>siE7+rgRSV</th></tr></thead><tbody><tr><td>A549</td><td>~5.0</td><td>~1.2**</td><td>~4.0</td></tr><tr><td>Vero</td><td>~6.0</td><td>~5.0</td><td>~5.8</td></tr></tbody></table>	Cell Type	rgRSV	siNS1+rgRSV	siE7+rgRSV	A549	~5.0	~1.2**	~4.0	Vero	~6.0	~5.0	~5.8
Cell Type	rgRSV	siNS1+rgRSV	siE7+rgRSV											
A549	~5.0	~1.2**	~4.0											
Vero	~6.0	~5.0	~5.8											

Übersicht

- Respiratory Syncytial Virus
- RNA Interferenz / Gene silencing
- siNS1 Inhibition
- Einfluss von siNS1 auf den Interferon Pathway
- Einfluss von siNS1 auf Zellen des Immunsystems
- siNS1 Nanopartikel in Mäusen
- siNS1 Nanopartikel als Prophylaxe oder Therapeutikum
- Zusammenfassung

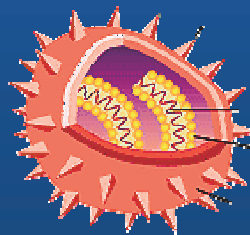


Einfluss von siNS1 auf IFN-pathway

- Da A549, nicht jedoch die IFN-defizienten Vero Zellen auf siNS1 Behandlung reagieren, wurde vermutet, dass NS1 mit dem Typ 1-Interferon (IFN α , IFN β) Stoffwechsel interagiert.
- Nachweis: **Immunoblotting von IFN- β**



A549



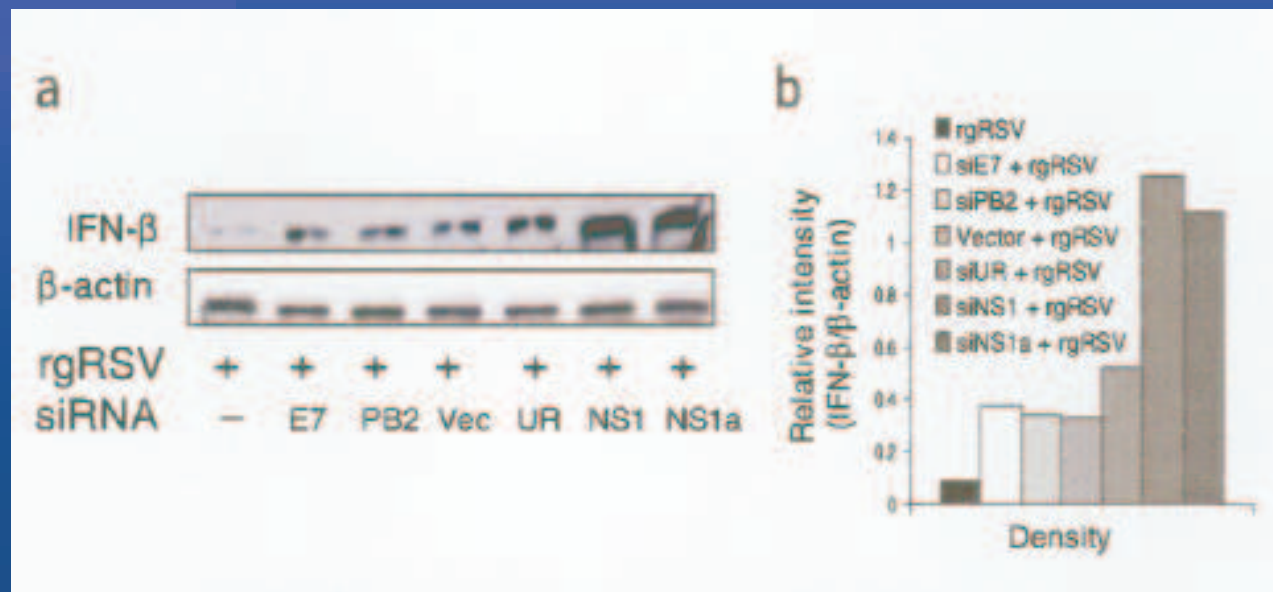
RSV



siNS1
siNS1a
siE1
siPBZ

Einfluss von siNS1 auf IFN-pathway

- Ergebnis:
NS1 antagonisiert die IFN-Antwort des Wirts,
siNS1 knocked NS1 aus und reaktiviert IFN-Produktion



Einfluss von siNS1 auf IFN-pathway

- Typ 1 IFNe stehen am Anfang einer Kaskade von Interferon-induzierbaren Genen, deren Expression nun mittels einem **Mikroarray-Screening** beobachtet werden soll.
- Ergebnis:
siNS1 Behandlung erhöht die Expression von 25 IFN-induzierbaren Genen um den Faktor ≥ 6

darunter STAT1-P, STAT1, IRF1, IRF3, ISGF-3 γ , MxA

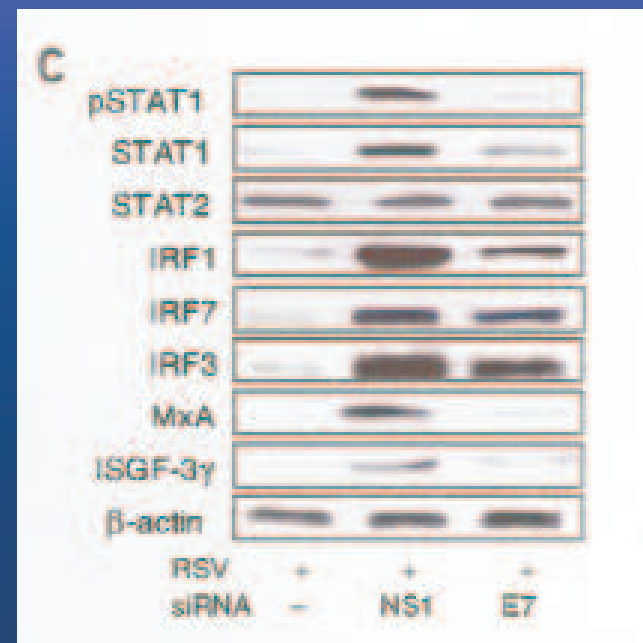


Table 1 IFN-inducible genes change more than sixfold in RSV-infected A549 cells

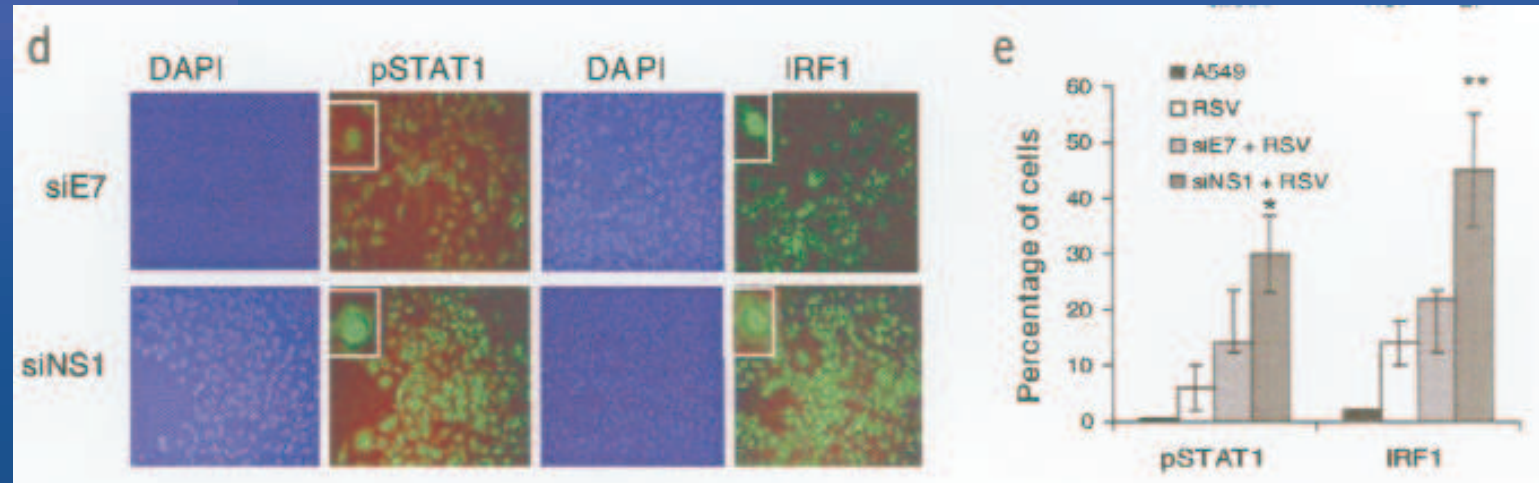
GenBank accession number	Gene	Function	Fold change (FC) ^a	Comparison ^b	
				rgRSV	rgRSV + siNS1
NM_007315	STAT1	signal transducer and activator of transcription 1	6	D	I
NM_002198	IRF1	interferon regulatory factor 1	6	D	I
NM_001571	IRF3	interferon regulatory factor 3	6	NC	I
NM_004030	IRF7	interferon regulatory factor 7	6	D	I
NM_006084	IRF9	ISGF3G (p48)	6	D	I
NM_005531	IFI16	interferon gamma-inducible protein 16	6	D	I
NM_005532	IFI27	interferon, alpha-inducible protein 27	6	D	I
NM_006332	IFI30	interferon gamma-inducible protein 30	6	D	I
BF338947	IFITM2	interferon induced transmembrane protein 2	6	D	I
AL121994	1-8U	contains a pseudogene similar to IFITM3 (interferon induced transmembrane protein 3, STSS and GSSs)	6	D	I
BE049439	IFI44	interferon-induced, hepatitis C-associated microtubular aggregate protein (44kD)	8	D	I
NM_004509	IFI41	SP110 nuclear body protein (interferon-induced protein 75, 52kD)	6	D	I
NM_003641	PTS	6-pyruvoyltetrahydropterin synthase- interferon induced transmembrane protein 1 (9-27) (IFITM1)	6	D	I
NM_005101	ISG15	interferon alpha-inducible protein (clone IFI-15K)	6	D	I
NM_002201	ISG20	interferon stimulated gene (20kD) (ISG20)	6	D	I
NM_022147	IFRG28	28kD interferon responsive protein	8	D	I
NM_002176	IFNB1	interferon beta 1, fibroblast	8	D	I
NM_002462	MxA	interferon-regulated resistance GTP-binding protein	6	D	I
NM_002463	MxB	interferon-regulated resistance GTP-binding protein	7	D	I
NM_016817	OAS2	2'-5'-oligoadenylate synthetase 2, 69/71kDa	8	D	I
NM_003733	OASL	2'-5'-oligoadenylate synthetase-like	6	D	I
NM_016816	OAS1	2',5'-oligoadenylate synthetase 1, 40/46kDa	6	D	I
NM_006187	OAS3	2'-5'-oligoadenylate synthetase 3, 100kDa	6	D	I
NM_001550	IFRD1	interferon-related developmental regulator 1	6	D	I
NM_001547	IFIT2	interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 2	8	D	I

^aValue for the fold change in expression calculated by the Microarray Suite 5.0 (MAS 5.0) program. ^bThe data were compared to arrays of rgRSV-infected A549 cells either with or without siNS1 treatment. I, increased; NC, not changed; D, decreased.

Einfluss von siNS1 auf IFN-pathway

- Da Interferon eine Translokation von STAT1 aus dem Zytoplasma in den Zellkern auslösen kann, soll die Verteilung von STAT1 in der Zelle sichtbar gemacht werden.

Immunfluoreszenzfärbung der fixierten Zellen mit AK gegen STAT1:



NS1 scheint den Transport von STAT1 und IRF1 in den Zellkern zu blockieren.

Einfluss von siNS1 auf IFN-pathway

Hintergrund:

Janus-Kinasen

Die Translokation von STAT in den Zellkern findet rezeptorvermittelt statt:

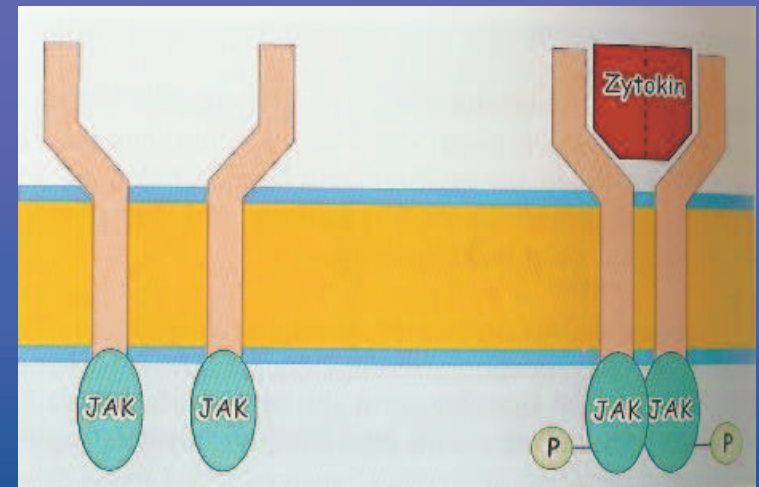
Virale Infektion mit Auftreten von dsRNA



Initial parakrine unspezifische Abwehr mit Zytokin-Ausschüttung (IFN)



Monomere JAKs (ursprünglich „Jet-Another-Kinase“) bilden mit IFN Dimere



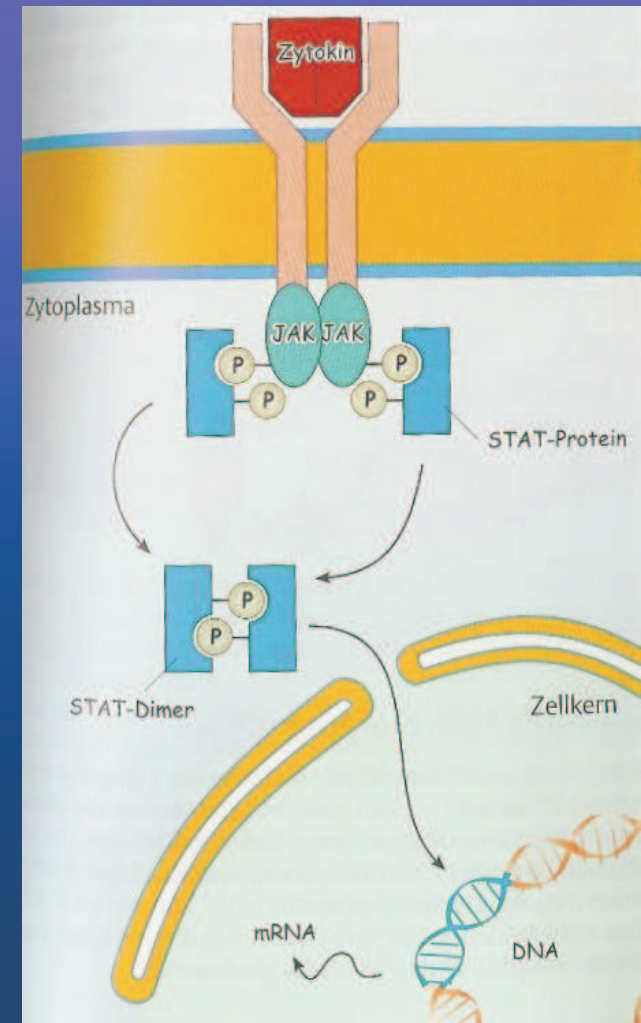
Janus und die Dimere:

römischer Gott der Ein- und Ausgänge, des Anfangs und des Endes

In der Mythologie wird Janus stets mit zwei Köpfen dargestellt

Einfluss von siNS1 auf IFN-pathway

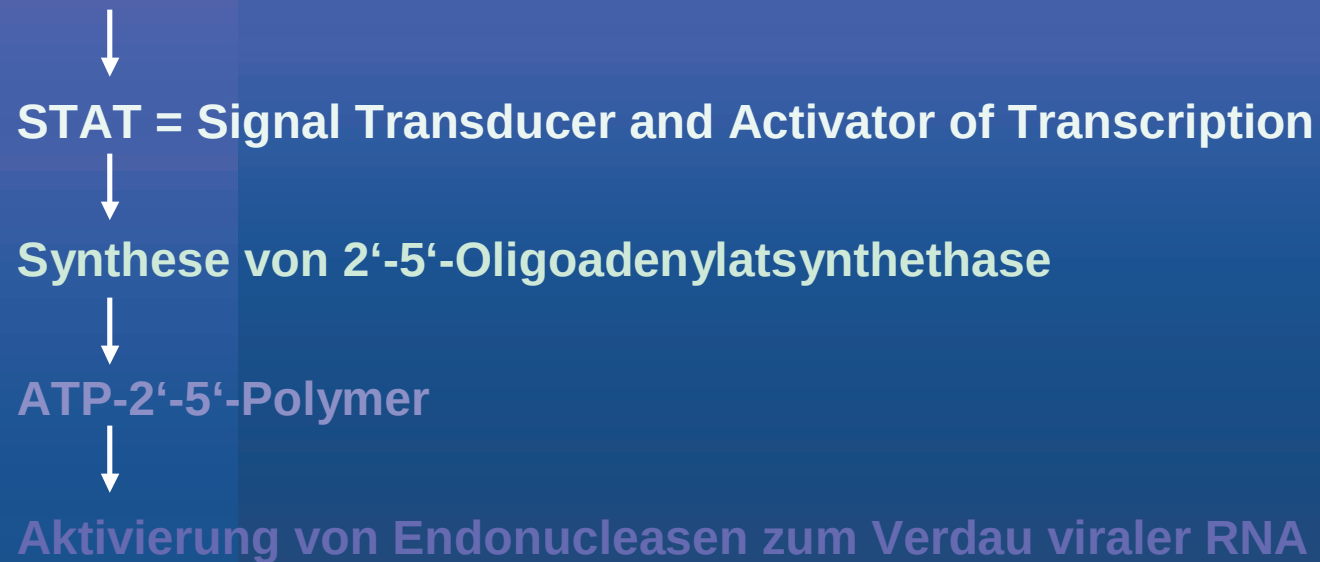
- Binden zwei Liganden an die Rezeptoren, bilden je zwei Monomere ein Dimer.
- Es kommt zu einer Annäherung der JAKs, die sich am zytoplasmatischen Teil der Rezeptoren befinden.
- Durch eine Transphosphorylierung werden die Janus-Kinasen aktiviert.
- Bindet ein STAT-Protein an einen aktivierten Rezeptor, so wird es phosphoryliert.
- Je zwei STATs dimerisieren und werden in den Zellkern transportiert.



Einfluss von siNS1 auf IFN-pathway

STAT im Zellkern, und dann ?

einige theoretische Überlegungen über Sinn und Zweck



Übersicht

- Respiratory Syncytial Virus
- RNA Interferenz / Gene silencing
- siNS1 Inhibition
- Einfluss von siNS1 auf den Interferon Pathway
- Einfluss von siNS1 auf Zellen des Immunsystems
- siNS1 Nanopartikel in Mäusen
- siNS1 Nanopartikel als Prophylaxe oder Therapeutikum
- Zusammenfassung



Einfluss von NS1 auf Zellen des Immunsystems

Humane Monozyten
aus peripherem Blut

(Vorläufer der Makrophagen
und DCs)

Dendritische Zellen

(Einzige Zellen, die
ausschließlich Antigene
präsentieren [MHC-2])

RSV
→
siNS1

Typ 1 IFN ↗

(im Vgl. zu Kontrollen
ohne siNS1)

T-Helfer-Zellen Typ 1

↗ Interferon- γ
↘ Interleukin-4

allogene naive
CD4+ Zellen

Hintergrund:

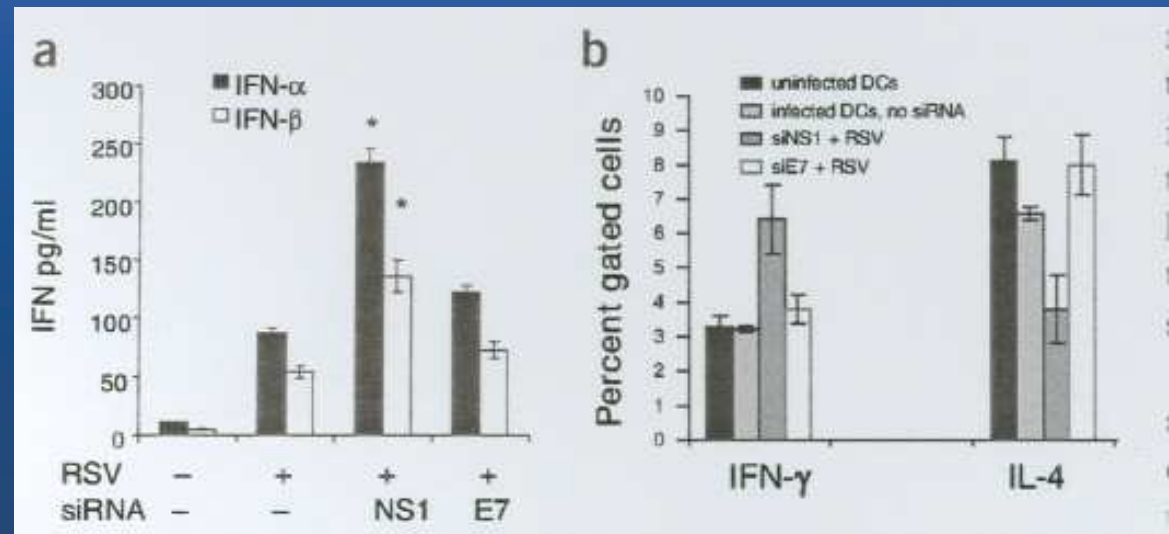
(CD4 interagiert mit MHC-2 in T-Helfer-Zellen)

(CD8 interagiert mit MHC-1 in zytotoxischen T-Zellen)

Einfluss von NS1 auf Zellen des Immunsystems

Ergebnis:

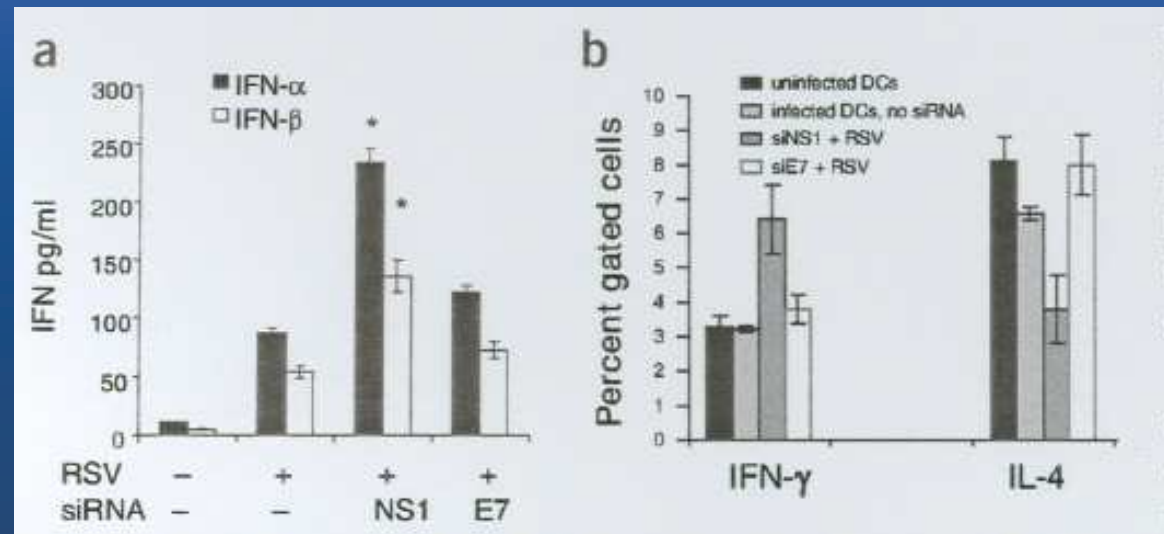
- RSV (NS1) versucht die DCs bezüglich ihrer Aktivierung und Antigenpräsentation zu beeinflussen.



Einfluss von NS1 auf Zellen des Immunsystems

Ergebnis:

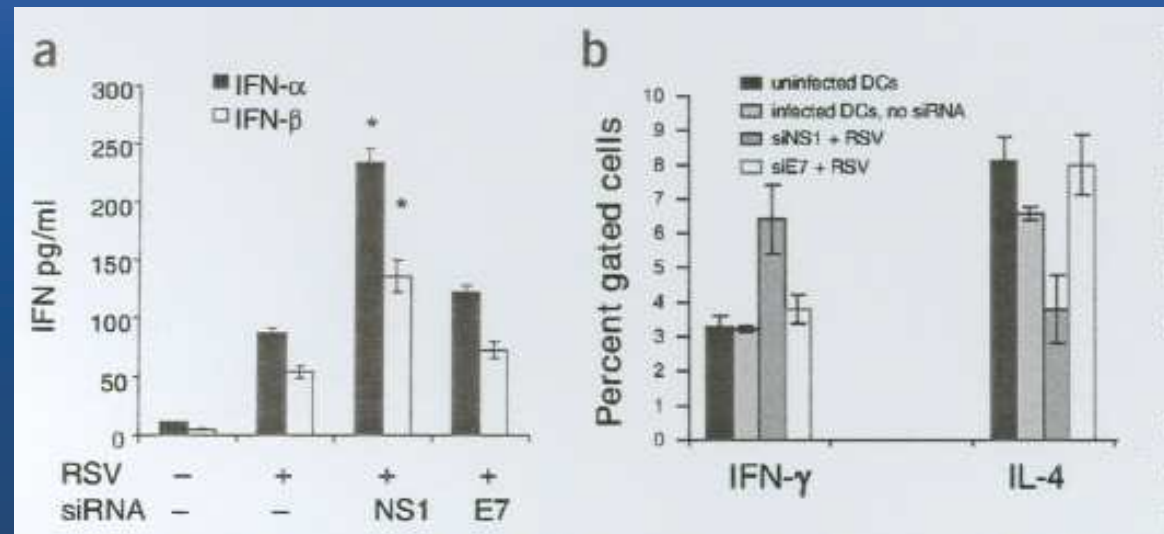
- RSV senkt die Fähigkeit der DCs, IFN- γ in naiven T-Zellen zu induzieren.
- Dies könnte ein Grund für die verspätete Immunantwort sein und eine Immunität verhindern.



Einfluss von NS1 auf Zellen des Immunsystems

Ergebnis:

- Ausschalten von NS1 führt zu mehr Typ 1 IFN in DCs, wodurch naive CD4⁺ Zellen zu T-Helferzellen differenzieren.

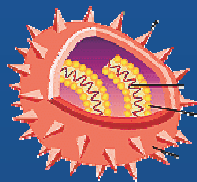
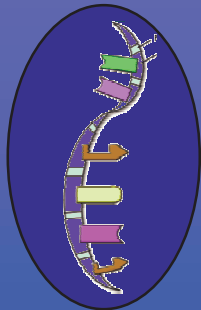


Übersicht

- Respiratory Syncytial Virus
- RNA Interferenz / Gene silencing
- siNS1 Inhibition
- Einfluss von siNS1 auf den Interferon Pathway
- Einfluss von siNS1 auf Zellen des Immunsystems
- siNS1 Nanopartikel in Mäusen
- siNS1 Nanopartikel als Prophylaxe oder Therapeutikum
- Zusammenfassung



siNS1 Nanopartikel in Mäusen



pSMWZ-1-siNS1 an nanochitosan polymer
(Chitin-Derivat Nanogene NG042)
biokompatibel und biologisch abbaubar

Inokulation durch Nasentropfen

BALB/c Maus

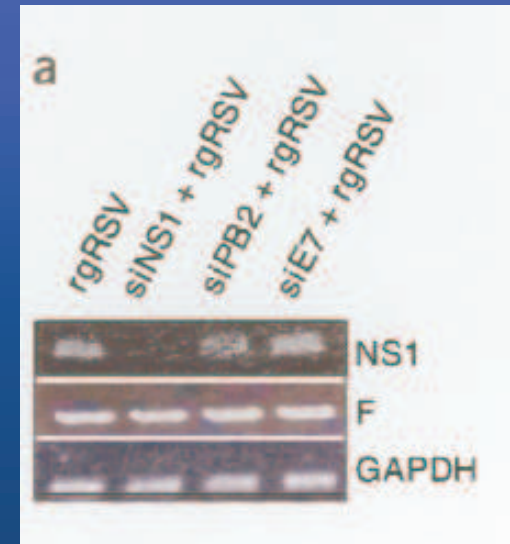
2 Tage

RSV-Infektion

siNS1 Nanopartikel in Mäusen

18 h

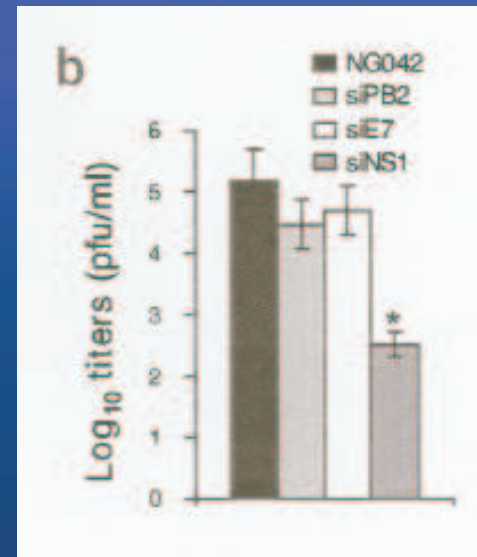
- Fragestellung:
Pulmonale NS1 Expression ?
- Methode:
RNA Detektion durch **RT-PCR**
- Ergebnis:
siNS1 blockiert RSV NS1
kein Knockdown des Kontrollproteins RSV F



siNS1 Nanopartikel in Mäusen

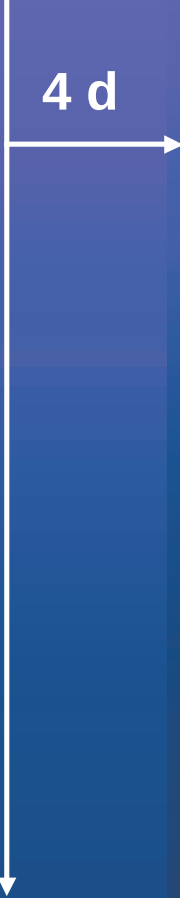
18 h

- Fragestellung:
Virentiter im Überstand homogenisierter Lungen?
- Methode:
Plaque Assay
- Ergebnis:
mit siNS1 reduzierter Virentiter



siNS1 Nanopartikel in Mäusen

4 d

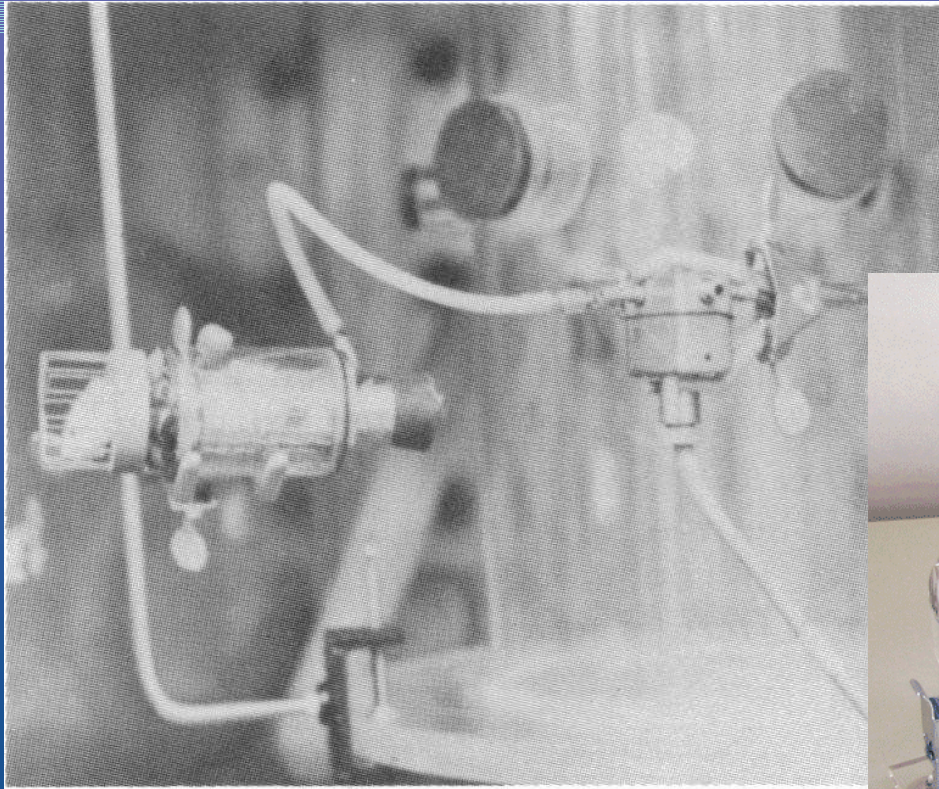


- **Fragestellung:**
Hyperreagibles Bronchialsystem ?
- **Methode:**
Metacholin challenge
(wirkt ähnlich wie Histamin, allerdings kumulativ,
führt zur Bronchokonstriktion
interagiert direkt mit den muscarinischen Ac-Cholin-Rezeptoren)

Lungenfunktionstest
(Atemfrequenz, Lungenvolumen,
Penh = Enhanced pause Volume)

$$\text{Penh} = \text{pause} \times \left[\frac{p(\text{Expiration, max})}{p(\text{Inspirationsdruck, max})} \right]$$
$$\text{pause} = \frac{t(\text{Expiration d. letzten 30\% des Lungenvol.})}{t(\text{Exp, ges.})}$$

siNS1 Nanopartikel in Mäusen



Plethysmograph 1972

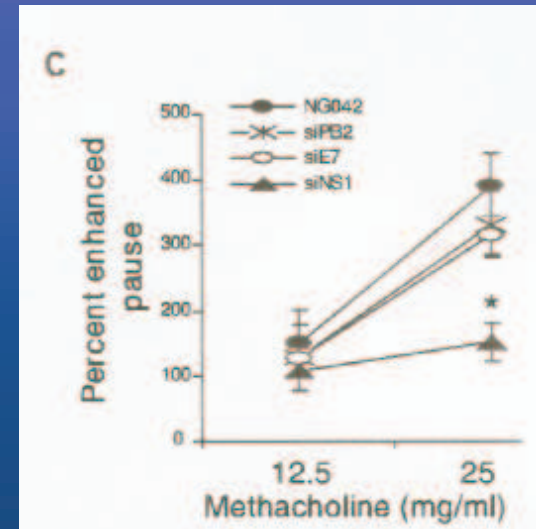
Plethysmograph 2006



siNS1 Nanopartikel in Mäusen

4 d

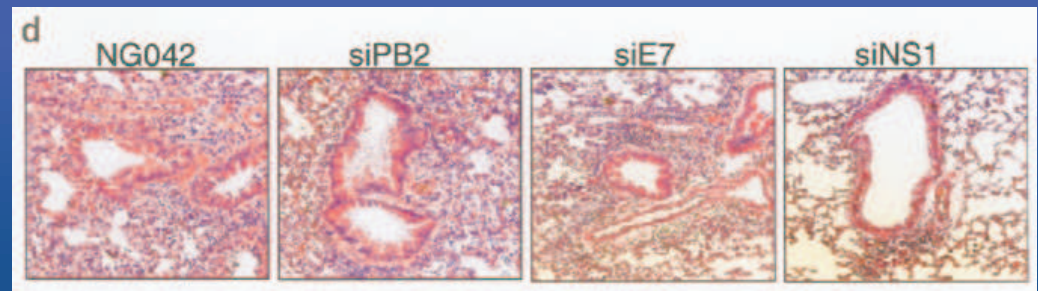
- Fragestellung:
Hyperreagibles Bronchialsystem ?
- Methode:
Metacholin challenge
Lungenfunktionstest
- Ergebnis:
nicht infizierte Mäuse → 0 %
RSV infiziert + siNS1 → 100 %
RSV infizierte Mäuse → 400 %



siNS1 Nanopartikel in Mäusen

- Fragestellung:
Pulmonale Infektion ? Pokalzell-Hyperplasie ?

- Methode:
Histologie
(Hämatoxylin- /
Eosin- Färbung)



- Ergebnis:
siNS1 reduziert pulmonale Infektionen,
Abnahme von Hyperplasien
Abnahme von infiltrierenden inflammatorischen Zellen im
Interstitium

siNS1 Nanopartikel in Mäusen

24 h

- Fragestellung:
Interferon-Antwort in der Maus

- Methode:
IFN- β : RT-PCR
IFN- α : ELISA

- Ergebnis:
IFN- β ↗ mit siNS1-Behandlung
IFN- α ↗ mit siNS1-Behandlung

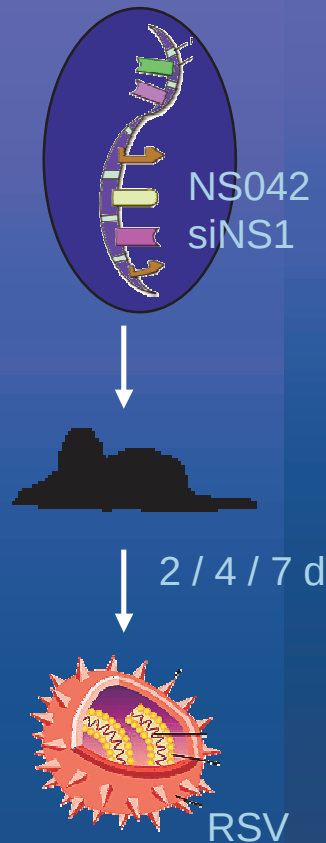


Übersicht

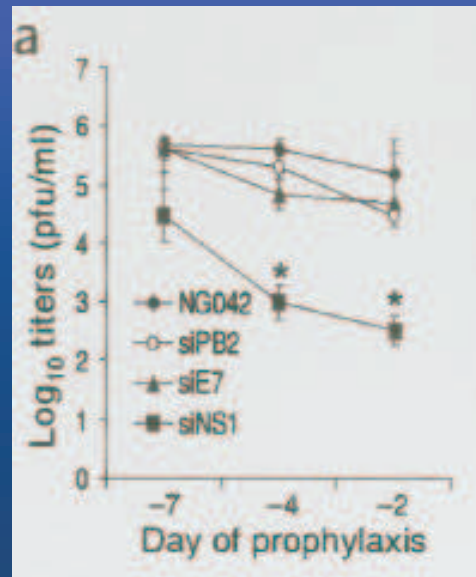
- Respiratory Syncytial Virus
- RNA Interferenz / Gene silencing
- siNS1 Inhibition
- Einfluss von siNS1 auf den Interferon Pathway
- Einfluss von siNS1 auf Zellen des Immunsystems
- siNS1 Nanopartikel in Mäusen
- siNS1 Nanopartikel als Prophylaxe oder Therapeutikum
- Zusammenfassung



siNS1 Nanopartikel als Prophylaxe oder Therapeutikum



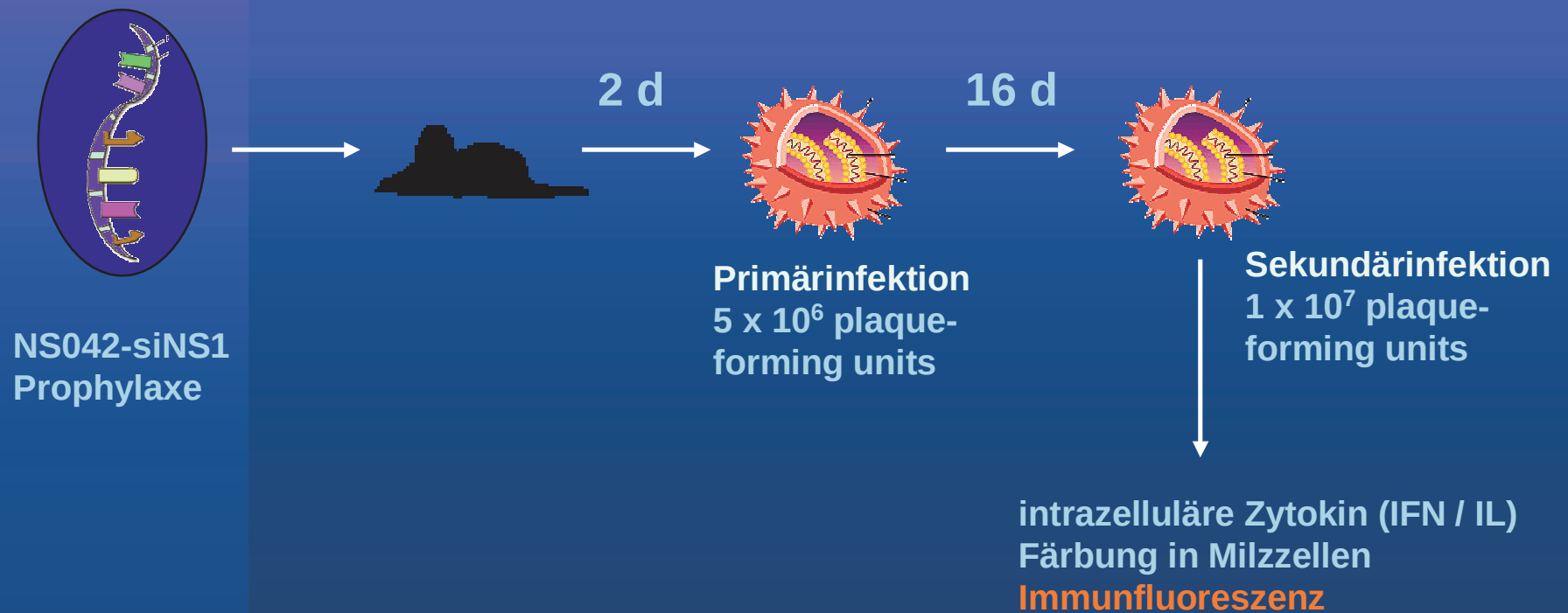
- Wie lange wirkt eine siNS1 Prophylaxe ?
(Plaque Assay)



nach 2 Tagen Prophylaxe: 1000-fach geringerer Virentiter
nach 7 Tagen Prophylaxe: 10-fach geringerer Virentiter

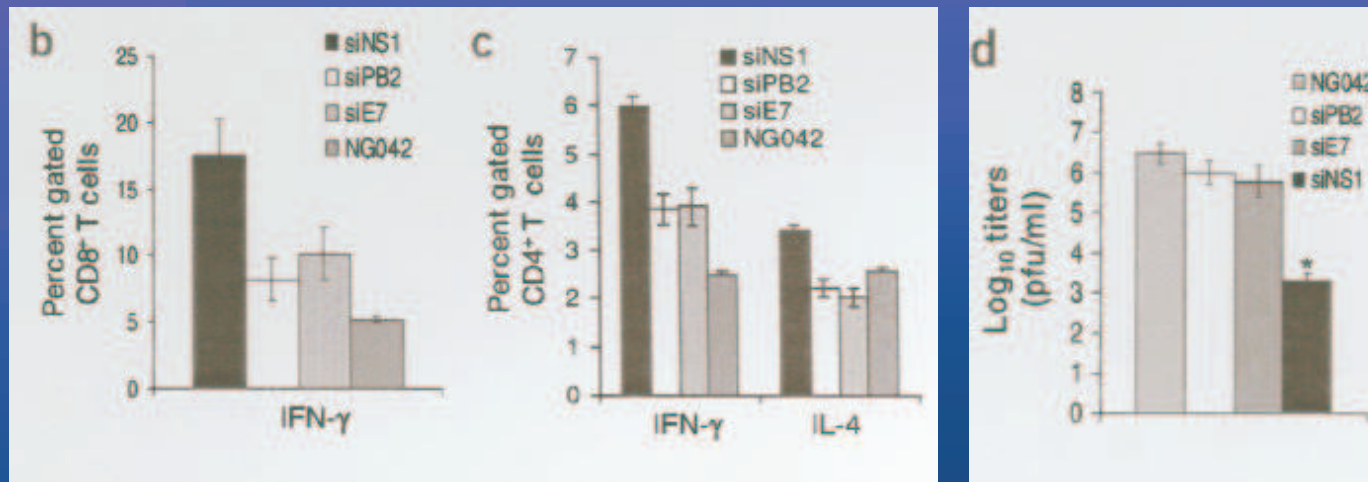
siNS1 Nanopartikel als Prophylaxe oder Therapeutikum

- Führt eine Infektion mit physiologischer Interferon-Antwort zur Immunität ?



siNS1 Nanopartikel als Prophylaxe oder Therapeutikum

- Führt eine Infektion mit physiologischer Interferon-Antwort zur Immunität ?



siNS1 führt zu - IFN- γ $\nearrow$ in CD4⁺ und CD8⁺ Zellen
- IL-4 $\nearrow$ in CD4⁺ Zellen

virale Titer $\searrow$ bei
Sekundärinfektion
nach siNS1 Behandlung

Primärinfektion mit siNS1 erhöht zelluläre
Immunität und abgeschwächter Sekundärinfektion

siNS1 Nanopartikel als Prophylaxe oder Therapeutikum



RSV

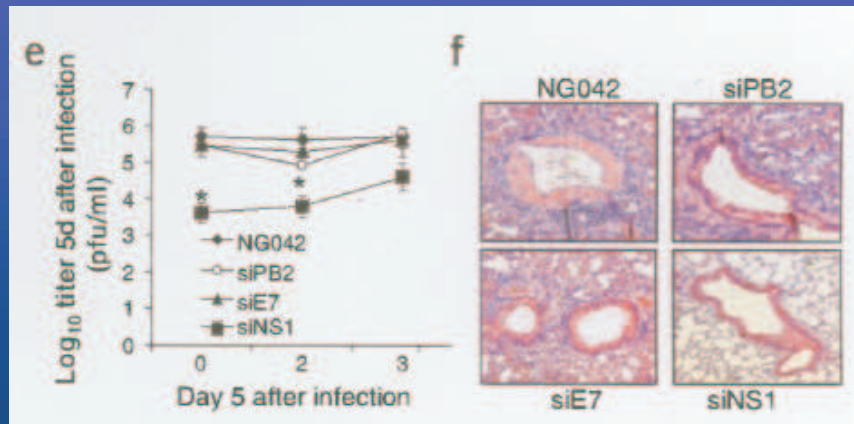


0 / 2 / 3 d



NS042
siNS1

• siNS1 als Therapeutikum ? (Plaque Assay, Histologie)



sofortige Medikation:

signifikant geringerer Virentiter

Medikation nach 2 Tagen:

reduzierte inflammatorische Reaktion:
geringere Pokalzell-Hyperplasie
geringere Infiltration inflamm. Zellen

Medikation nach 3 Tagen:

marginal geringerer Virentiter

Übersicht

- Respiratory Syncytial Virus
- RNA Interferenz / Gene silencing
- siNS1 Inhibition
- Einfluss von siNS1 auf den Interferon Pathway
- Einfluss von siNS1 auf Zellen des Immunsystems
- siNS1 Nanopartikel in Mäusen
- siNS1 Nanopartikel als Prophylaxe oder Therapeutikum
- Zusammenfassung



Zusammenfassung

RSV NS1 antagonisiert die IFN-Antwort des Wirts ;
unbekannter Mechanismus

- siNS1
 - A549, IFN-produzierende Z. → reduziert RSV Replikation
 - Vero, IFN-defiziente Zellen → (ohne Wirkung)
- siNS1 → IFN- β $\nearrow$, IFN-induzierbare Gene in A594 $\nearrow$
 - translokalisiert STAT1 in den Zellkern
 - Typ1 IFN in DCs $\nearrow$ → naive CD4+ Z. → T-Helfer-Zellen
- RSV Titer in Mäusen nimmt nach siNS1-Nanopartikel Medikation ab

Referenzen

- Inhibition of respiratory syncytial virus infection with intranasal siRNA nanoparticles targeting the viral NS1 gene, Zhang W. et al., Nature med. 11, 56-62 (2005)
- Kumar, M. et al., Intranasal gene transfer by chitosan-DNA nanospheres protects BALB/C mice against acute respiratory syncytial virus infection, Hum. Gene Ther. 13, 1415-1425 (2002)
- Horn, F. et al., Biochemie des Menschen, 2. Auflage, Thieme Verlag
- HyperCLDB Cell line Descriptions, <http://www.biotech.ist.uni.it/cldb/cl206.htm>
- FreshPatents, Nanogene therapy for cell proliferation disorders, <http://www.freshpatents.com/Nanogene-therapy-for-cell-proliferationdt20051201ptan20050266093.php>
- Interferon pathway, http://www.grt.kyushu-u.ac.jp/spad/pathway/ifn_alpha.html
- RNA-Interference, Wikipedia, <http://de.wikipedia.org/wiki/RNAi>

alle online verfügbaren Quellen Stand 20. Juli 2006



Inhibition of respiratory syncytial virus infection with intranasal siRNA nanoparticles targeting the viral NS1 gene

Zhang W. et al, nature med. 11, 56-62, 2005

Danke für Ihre Aufmerksamkeit...