

[Zum Hauptinhalt springen](#)

[Alle Journale anzeigen](#)

• [Suche](#)

• [Mein Konto](#)

[Inhalt erkunden](#)

• **[Journal Informationen](#)**

• **[Mit uns veröffentlichen](#)**

[Für Alarmer anmelden](#)

• **[RSS-Feed](#)**

1. [Natur](#)

2. [Natur-Immunologie](#)

3. [Artikel](#)

4. [Artikel](#)

• [Artikel](#)

• [Veröffentlicht: 30. September 2020](#)

SARS-CoV-2-abgeleitete Peptide definieren heterologe und COVID-19-induzierte T-Zell-Erkennung

- [Annika Nelde](#) [ORCID:orcid.org/0000-0001-8504-84811](https://orcid.org/0000-0001-8504-84811)^{2,3} na1,
- [Tatjana Bilich](#) [ORCID:orcid.org/0000-0002-8107-04191](https://orcid.org/0000-0002-8107-04191)^{2,3} na1,
- [Jonas S. Heitmann](#)^{1,3} na1,

- [Yacine Maringer^{1,2,3}](#),
- [Helmut R. Salih^{1,3,4}](#),
- [Malte Roerden](#) ORCID:orcid.org/0000-0001-7283-97782^{3,5},
- [Maren Lübke²](#),
- [Jens Bauer](#) ORCID:orcid.org/0000-0003-3731-23851²,
- [Jonas Rieth^{1,2}](#),
- [Marcel Wacker^{1,2}](#),
- [Andreas Peter⁶](#),
- [Sebastian Hörber](#) ORCID:orcid.org/0000-0002-5718-15306,
- [Bjoern Traenkle⁷](#),
- [Philipp D. Kaiser⁷](#),
- [Ulrich Rothbauer](#) ORCID:orcid.org/0000-0001-5923-89867⁸,
- [Matthias Becker](#) ORCID:orcid.org/0000-0002-9243-42577,
- [Daniel Junker⁷](#),
- [Gérard Krause](#) ORCID:orcid.org/0000-0003-3328-88089^{10,11},
- [Monika Strengert^{9,10}](#),
- [Nicole Schneiderhan-Marra](#) ORCID:orcid.org/0000-0001-6785-181X7,
- [Markus F. Templin](#) ORCID:orcid.org/0000-0002-6569-64897,
- [Thomas O. Joos⁷](#),
- [Daniel J. Kowalewski](#) ORCID:orcid.org/0000-0003-0482-992712,
- [Vlatka Stos-Zweifel¹²](#),
- [Michael Fehr²](#),
- [Armin Rabsteyn^{3,13}](#),
- [Valbona Mirakaj¹⁴](#),
- [Julia Karbach¹⁵](#),
- [Elke Jäger¹⁵](#),
- [Michael Graf¹⁶](#),
- [Lena-Christin Gruber¹](#),
- [David Rachfalski¹](#),

- [Beate Preuß⁵](#),
- [Ilona Hagelstein^{1,3}](#),
- [Melanie Märklin ORCID:\[orcid.org/0000-0002-2920-38941\]\(https://orcid.org/0000-0002-2920-38941\)³](#),
- [Tamam Bakchoul ORCID:\[orcid.org/0000-0002-6797-681217\]\(https://orcid.org/0000-0002-6797-681217\)](#),
- [Cécile Gouttefangeas^{2,3,4}](#),
- [Oliver Kohlbacher ORCID:\[orcid.org/0000-0003-1739-459816\]\(https://orcid.org/0000-0003-1739-459816\)^{18,19,20}](#),
- [Reinhild Klein⁵](#),
- [Stefan Stevanović^{2,4}](#),
- [Hans-Georg Rammensee^{2,3,4}](#) &
- [Juliane S. Walz ORCID:\[orcid.org/0000-0001-6404-73911\]\(https://orcid.org/0000-0001-6404-73911\)^{2,3}](#)

[Nature Immunology](#) **Band 22**, Seiten74-85(2021)[Diesen Artikel zitieren](#)

• **78k** Zugriffe

• **33** Zitate

• **2424** Altmetriken

• [Metrikdetails](#)

Themen

• [Virale Infektion](#)

Abstrakt

Die T-Zell-Immunität ist zentral für die Kontrolle viraler Infektionen. Zur Charakterisierung der T-Zell-Immunität, aber auch für die Entwicklung von Impfstoffen, ist die Identifizierung von exakten viralen T-Zell-Epitopen von grundlegender Bedeutung. Hier identifizieren und charakterisieren wir mehrere dominante und subdominante SARS-CoV-2 HLA-Klasse-I- und HLA-DR-Peptide als potentielle T-Zell-Epitope in COVID-19 rekonvaleszenten und nicht exponierten Personen. SARS-CoV-2-spezifische Peptide ermöglichten den Nachweis einer postinfektiösen T-Zell-Immunität, sogar bei seronegativen rekonvaleszenten Personen. Kreuzreaktive SARS-CoV-2-Peptide wiesen bei 81 % der nicht exponierten Personen bereits vorhandene T-Zell-Antworten nach und bestätigten die Ähnlichkeit mit Erkältungs-Coronaviren, was eine funktionelle Grundlage für die heterologe Immunität bei SARS-CoV-2-Infektionen liefert. Die Diversität der SARS-CoV-2 T-Zell-Antworten war mit milden Symptomen von COVID-19 assoziiert und

lieferte den Beweis, dass die Immunität die Erkennung mehrerer Epitope erfordert. Zusammengenommen ermöglichen die vorgeschlagenen SARS-CoV-2 T-Zell-Epitope die Identifizierung der heterologen und postinfektiösen T-Zell-Immunität und erleichtern die Entwicklung von diagnostischen, präventiven und therapeutischen Maßnahmen für COVID-19.

Haupt

T-Zellen kontrollieren virale Infektionen und sorgen für ein immunologisches Gedächtnis, das einen lang anhaltenden Schutz ermöglicht^{1,2,3}. Während CD4⁺ Helfer-T-Zellen die Immunantwort orchestrieren und B-Zellen befähigen, Antikörper zu produzieren, eliminieren CD8⁺ zytotoxische T-Zellen virusinfizierte Zellen. Für beide ist die Erkennung von viralen Antigenen in Form von kurzen Peptiden, die auf HLAs präsentiert werden, von grundlegender Bedeutung. Folglich ist die Charakterisierung solcher viraler T-Zell-Epitope^{4,5,6} entscheidend für das Verständnis der Immunabwehrmechanismen, aber auch eine Voraussetzung für die Entwicklung von Impfstoffen und Immuntherapien^{3,7,8,9}.

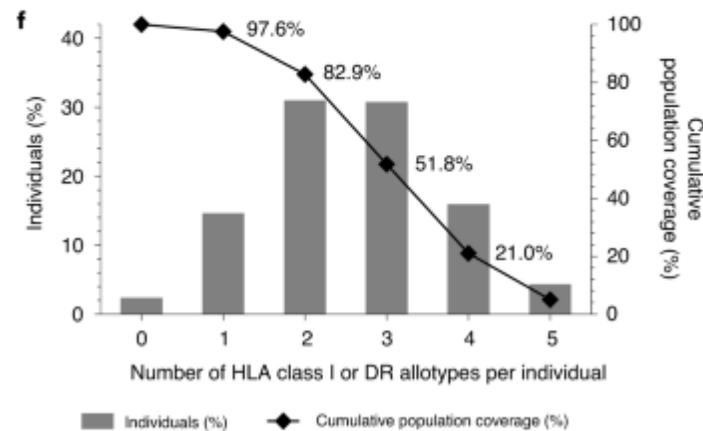
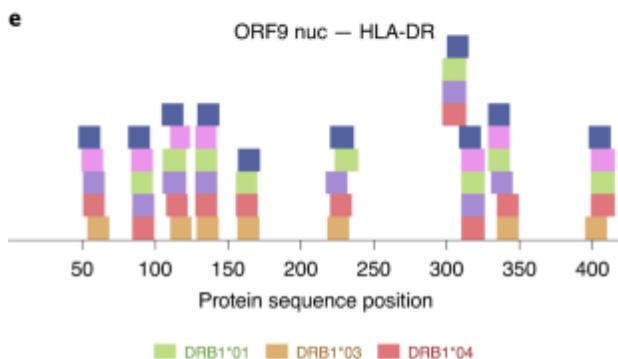
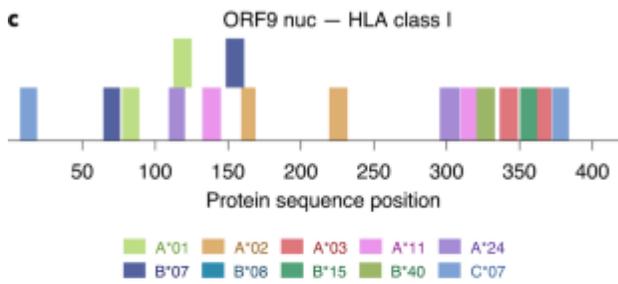
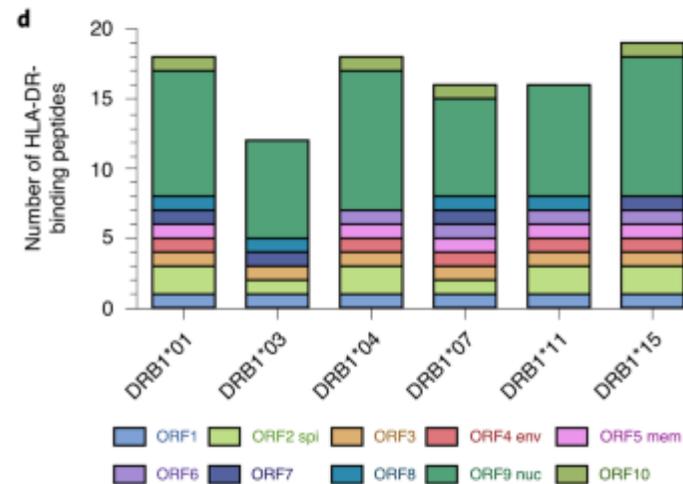
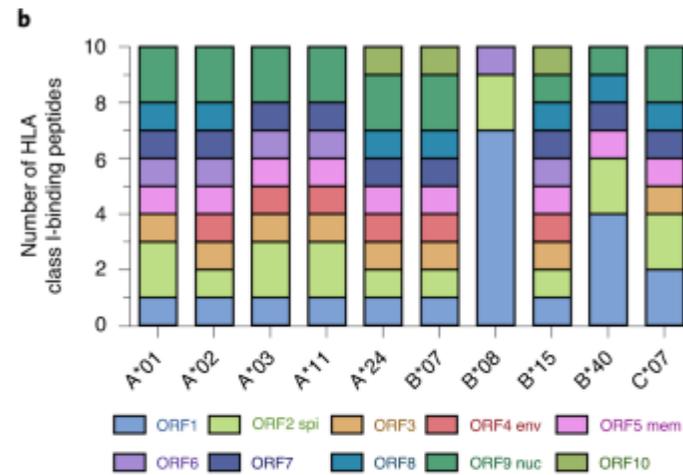
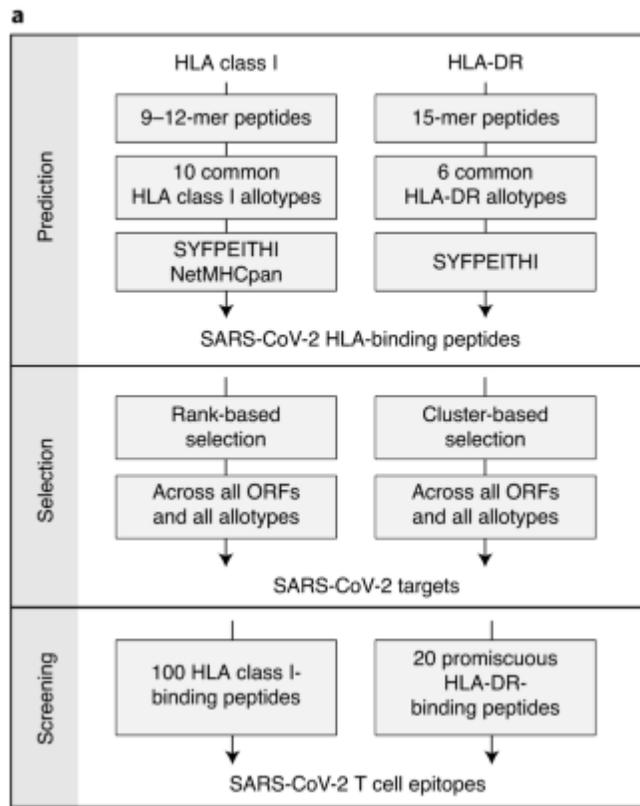
Das Coronavirus SARS-CoV-2 verursacht COVID-19, das sich zu einer weltweiten Pandemie mit dramatischen sozioökonomischen Folgen entwickelt hat^{10,11}. Die verfügbaren Behandlungsmöglichkeiten sind begrenzt, und trotz intensiver Bemühungen ist ein Impfstoff bisher nicht verfügbar. Erkenntnisse aus den beiden anderen zoonotischen Coronaviren SARS-CoV-1 und MERS-CoV weisen darauf hin, dass die coronavirus-spezifische T-Zell-Immunität eine wichtige Determinante für die Genesung und den Langzeitschutz ist^{12,13,14,15}. Diese T-Zell-vermittelte Immunantwort ist sogar noch wichtiger, da Studien zur humoralen Immunität gegen SARS-CoV-1 den Nachweis erbrachten, dass Antikörperantworten nur von kurzer Dauer sind und sogar virusassoziierte Lungenpathologie verursachen oder verschlimmern können^{16,17}. In Bezug auf SARS-CoV-2 beschrieben jüngste Studien^{18,19,20} CD4⁺ und CD8⁺ T-Zell-Antworten auf virale Peptid-Megapools bei Spendern, die sich von COVID-19 erholt hatten, und bei Personen, die nicht mit SARS-CoV-2 exponiert waren, wobei letzteres ein Hinweis auf eine mögliche T-Zell-Kreuzreaktivität ist^{21,22}. Die genauen viralen Epitope, die diese T-Zell-Antworten gegen SARS-CoV-2 vermitteln, wurden in diesen Studien jedoch nicht im Detail identifiziert und charakterisiert. Sie sind jedoch Voraussetzung, um (1) die Rolle der postinfektiösen und heterologen T-Zell-Immunität bei COVID-19 abzugrenzen, (2) diagnostische Werkzeuge zur Identifizierung der SARS-CoV-2-Immunität zu etablieren und, was am wichtigsten ist, (3) Zielstrukturen für die Entwicklung von SARS-CoV-2-spezifischen Impfstoffen und Immuntherapien zu definieren. In dieser Studie definieren wir SARS-CoV-2-spezifische und kreuzreaktive CD4⁺ und CD8⁺ T-Zell-Epitope in einer großen Sammlung von SARS-CoV-2 rekonvaleszenten sowie nicht-exponierten Individuen und deren Relevanz für die Immunität und den Verlauf der COVID-19 Erkrankung.

Ergebnisse

Identifizierung von SARS-CoV-2-abgeleiteten Peptiden

Ein neuer Vorhersage- und Selektions-Workflow, basierend auf der Integration der Algorithmen SYFPEITHI und NetMHCpan, identifizierte 1.739 und 1.591 vielversprechende, von SARS-CoV-2 abgeleitete HLA-Klasse-I- und HLA-DR-bindende Peptide über alle zehn viralen Open-Reading-Frames (ORFs) (Abb. [1a](#) und Extended Data Abb. [1a,b](#)). Vorhersagen wurden für die zehn und sechs häufigsten HLA-Klasse I (HLA-A*01:01, -A*02:01, -A*03:01, -A*11:01, -A*24:02, -B*07:02, -B*08:01, -B*15:01, -B*40:01 und -C*07:02) und HLA-DR (HLA-DRB1*01:01, -DRB1*03:01, -DRB1*04:01, -DRB1*07:01, -DRB1*11:01 und -DRB1*15:01) Allotypen, die 91,7% bzw. 70,6% der Weltbevölkerung mit mindestens einem Allotyp^{23,24} (Erweiterte Daten Abb. [1c](#) und [2a](#)). Um breit anwendbare T-Zell-Epitope von SARS-CoV-2 zu identifizieren, wählten wir 100 von SARS-CoV-2 abgeleitete HLA-Klasse-I-bindende Peptide, bestehend aus zehn Peptiden pro HLA-Klasse-I-Allotyp über alle zehn viralen ORFs hinweg, für das Immunogenitätsscreening aus (Bereich 3-20 Peptide pro ORF, Mittelwert 10; Abb. [1b,c](#), erweiterte Daten Abb. [1d-m](#) und ergänzende Tabelle [1](#)). Zusätzlich wurden 20 von SARS-CoV-2 abgeleitete promiskuitive HLA-DR-bindende Peptide über alle ORFs aus Peptidclustern verschiedener HLA-DR-Allotyp-Restriktionen einbezogen, die 99 verschiedene Peptid-Allotyp-Kombinationen repräsentieren (Abb. [1d,e](#), erweiterte Daten Abb. [2b-k](#) und [ergänzende](#) Tabellen [2](#) und [3](#)). Von diesen HLA-DR-bindenden Peptiden enthielten 14 von 20 (70 %) eingebettete SARS-CoV-2-abgeleitete HLA-Klasse-I-bindende Peptide für 7 von 10 HLA-Klasse-I-Allotypen. Das komplette Panel von 120 SARS-CoV-2-abgeleiteten Peptiden umfasste 10 % des gesamten SARS-CoV-2-Proteoms (57 % bzw. 12 % des Nukleokapsid- und Spike-Proteins; Erweiterte Daten Abb. [2l](#)) und zeigte eine gleichmäßige Verteilung der Herkunft von strukturellen ORF-Proteinen (61 von 120 (51 %)), die Spike-, Hüll-, Membran- und Nukleokapsid-Proteine sowie nicht-strukturelle oder akzessorische ORFs (59 von 120 (49 %)) umfassen. Die breite HLA-Klasse-I- und HLA-DR-Allotyp-Restriktion der ausgewählten SARS-CoV-2-abgeleiteten Peptide, die zehn gängige HLA-Klasse-I- und sechs gängige HLA-DR-Allotypen abdeckt, ermöglichte eine Gesamtabdeckung von mindestens einem HLA-Allotyp bei 97,6 % der Individuen der Weltbevölkerung (Abb. [1f](#)). Wiederkehrende Mutationen von SARS-CoV-2 (refs. [25,26](#)) betrafen nur eine Minderheit ausgewählter SARS-CoV-2-abgeleiteter Peptide mit 14 von 120 (12 %) Sequenzen (1,7 % an der Ankerposition), einschließlich der gemeldeten Mutationsstellen (ergänzende Abb. [1](#) und ergänzende Tabellen [4](#) und [5](#)). Insgesamt haben wir für die häufigsten HLA-Allotypen SARS-CoV-2-abgeleitete Peptide über alle zehn viralen ORFs vorhergesagt und 100 HLA-Klasse I- und 20 HLA-DR-restringierte Epitopkandidaten für die weitere immunologische Charakterisierung ausgewählt.

Abb. 1: Identifizierung und Auswahl von SARS-CoV-2-abgeleiteten HLA-Klasse I- und HLA-DR-bindenden Peptiden.



a, Schematischer Überblick über unseren Vorhersage- und Selektionsansatz und Arbeitsablauf zur Identifizierung und schließlich Auswahl von 120 breit anwendbaren SARS-CoV-2 HLA-Klasse-I- und HLA-DR-bindenden Peptiden für weiteres Screening und Validierung als T-Zell-Epitope. **b**, Ausgewählte HLA-Klasse-I-bindende Peptide für die zehn häufigsten HLA-Klasse-I-Allotypen. Jede Farbe steht für einen bestimmten ORF. spi, Spike-Protein; env, Hüllprotein; mem, Membranprotein; nuc, Nukleokapsidprotein. **c**, Verteilung der HLA-Klasse-I-Peptide innerhalb des ORF9-Nukleokapsidproteins (für ORF1-ORF8 und ORF10, siehe Abb. [1e-m](#), Erweiterte Daten). Jede Farbe steht für einen bestimmten HLA-Klasse-I-Allotyp. **d**, Ausgewählte HLA-DR-bindende Peptide für die sechs häufigsten HLA-DR-Allotypen. Jede Farbe steht für einen bestimmten ORF. **e**, HLA-DR-Peptidcluster-Verteilung innerhalb des ORF9-Nukleokapsidproteins (für ORF1-ORF8 und ORF10, siehe Abb. [2c-k](#), Erweiterte Daten). Jede Farbe steht für einen bestimmten HLA-DR-Allotyp. **f**, Populationsabdeckung, die durch die Auswahl von zehn gängigen HLA-Klasse-I- und sechs gängigen HLA-DR-Allotypen für das SARS-CoV-2-T-Zellepitop-Screening im Vergleich zur Weltbevölkerung erreicht wurde. Der Prozentsatz der Individuen in der Weltbevölkerung, die bis zu fünf HLA-Klasse-I- oder HLA-DR-Allotypen tragen (x-Achse), ist als graue Balken auf der linken y-Achse dargestellt. Der kumulative Prozentsatz der Bevölkerungsabdeckung ist als schwarze Punkte auf der rechten y-Achse dargestellt.

[Quelldaten](#)

[Bild in voller Größe](#)

Charakterisierung von SARS-CoV-2-abgeleiteten T-Zell-Epitopen

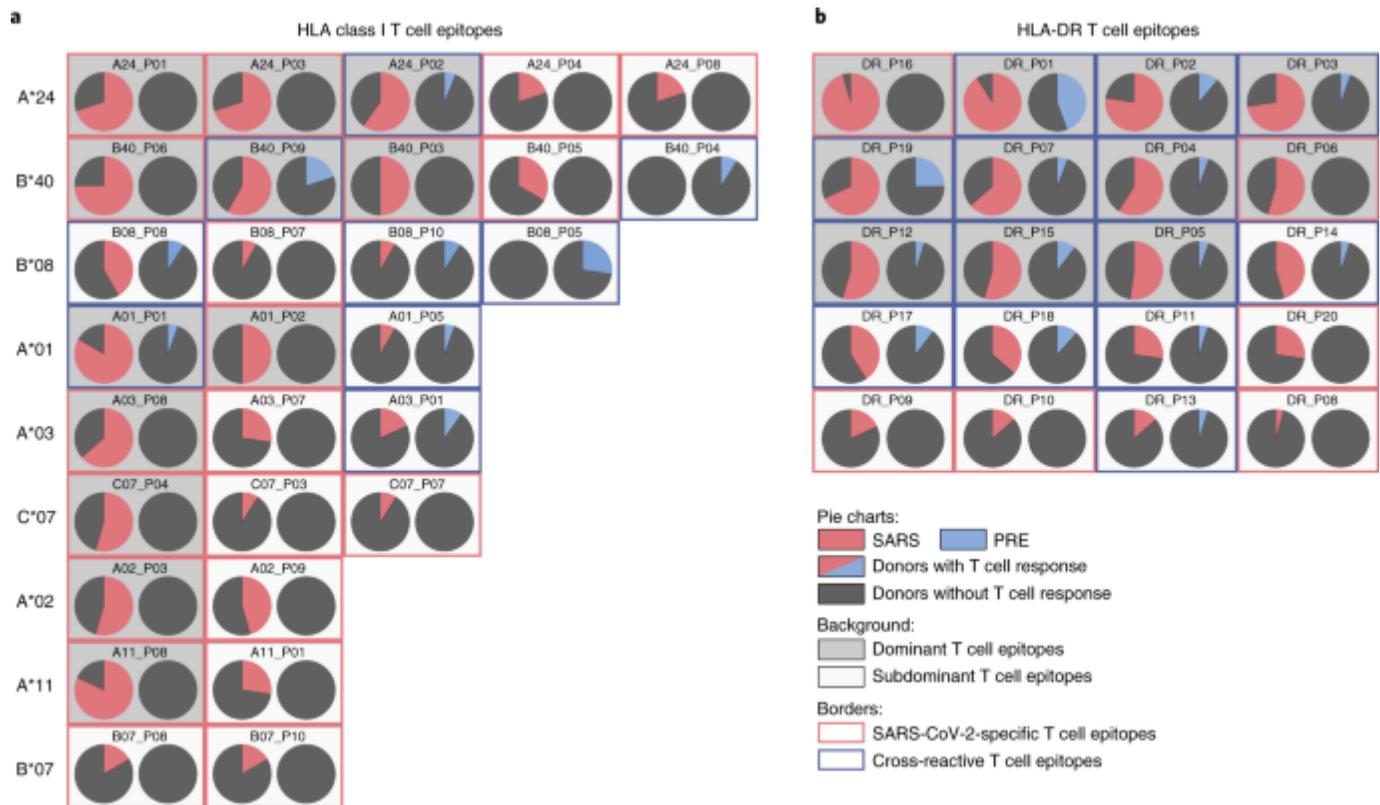
Interferon (IFN)- γ -ELISPOT-Screening von in vitro amplifizierten T-Zellen von Patienten, die von SARS-CoV-2 rekonvaleszieren (SARS-Gruppe 1, $n = 116$, Tabelle [1](#) und ergänzende Tabelle [6](#)) und von Spendern, die nie SARS-CoV-2 ausgesetzt waren (PRE-Gruppe A, $n = 104$, Proben, die vor der SARS-CoV-2-Pandemie gesammelt wurden; Tabelle [1](#) und ergänzende Tabelle [7](#)) validierten 29 von 100 (29%) SARS-CoV-2-abgeleitete HLA-Klasse-I-Bindungspeptide (3 von 10 HLA-A*01; 2 von 10 HLA-A*02; 3 von 10 HLA-A*03; 2 von 10 HLA-A*11; 5 von 10 HLA-A*24; 2 von 10 HLA-B*07; 4 von 10 HLA-B*08; 0 von 10 HLA-B*15; 5 von 10 HLA-B*40; und 3 von 10 HLA-C*07) und 20 von 20 (100%) HLA-DR-bindende Peptide als natürlich vorkommende T-Zell-Epitope (Abb. [2a,b](#), [3a,b](#), Tabellen [2](#) und [3](#), ergänzende Abb. [2](#) und [3](#) und ergänzende Tabelle [8](#)). Zusätzliche durchflusszytometrische Analysen für ausgewählte SARS-CoV-2-abgeleitete T-Zell-Epitope zeigten, dass T-Zell-Antworten, die gegen HLA-Klasse-I-bindende Peptide gerichtet waren, hauptsächlich von CD8⁺ T-Zellen angetrieben wurden und dass HLA-DR-bindende Peptide von CD4⁺ T-Zellen erkannt wurden, insbesondere bei einem einzelnen Spender auch von CD8⁺ T-Zellen (Abb. [3c,d](#) und ergänzende Tabelle [9](#)). Amplifizierte CD4⁺ T-Zellen zeigten häufig Multifunktionalität (Expression von IFN- γ , Tumor-Nekrose-Faktor (TNF) und CD107a),

während CD8+ T-Zellen nach Peptidstimulation überwiegend nur IFN- γ produzierten (Abb. [3e](#) und ergänzende Tabelle [9](#)). Zwölf von 29 (41%) und 11 von 20 (55%) SARS-CoV-2-abgeleiteten CD8+ und CD4+ T-Zell-Epitopen waren dominante Epitope (erkannt von $\geq 50\%$ der SARS-Spender) mit Erkennungshäufigkeiten bis zu 83% (A01_P01) bzw. 95% (DR_P16) (Abb. [2a,b](#) und Tabellen [2](#) und [3](#)). Die T-Zell-Antworten zeigten eine hohe interindividuelle sowie interpeptidische Intensitätsvariation (in Form von Spot-Zahlen pro 5×10^5 Zellen). Insgesamt war die Intensität der HLA-DR-spezifischen T-Zell-Antworten in der SARS-Gruppe ausgeprägter im Vergleich zu denen, die gegen HLA-Klasse-I-T-Zellepitope gerichtet waren (Abb. [4a,b](#)). Alle von SARS-CoV-2 abgeleiteten HLA-DR-bindenden Peptide erwiesen sich als immunogen, unabhängig vom Quell-ORF. Die von SARS-CoV-2 abgeleiteten HLA Klasse I T-Zell-Epitope zeigten eine gleichmäßig verteilte Herkunft von strukturellen (13 von 29 (45%)) und nicht-strukturellen oder akzessorischen (16 von 29 (55%)) ORFs (Tabelle [2](#)). Allerdings wurden ORF-spezifische Unterschiede hinsichtlich des Anteils validierter HLA Klasse I T-Zell-Epitope beobachtet, wobei die höchsten Häufigkeiten für ORF9 (50%, Nukleokapsidprotein), ORF1 (45%) und ORF3 (38%; Abb. [4c](#)) festgestellt wurden. Die höchste Erkennung bei SARS-Spendern wurde für HLA-Klasse-I-T-Zellepitope beobachtet, die von ORF2 (55%, Spike-Protein), ORF5 (52%, Membranprotein) und ORF3 (45%) abgeleitet sind, sowie für HLA-DR-T-Zellepitope, die von ORF5 (95%, Membranprotein), ORF8 (68%) und ORF4 (55%, Hüllprotein; Abb. [4d](#)) abgeleitet sind. Zusammenfassend haben wir mehrere dominante und subdominante, von SARS-CoV-2 abgeleitete HLA-Klasse-I- und HLA-DR-T-Zellepitope bei Patienten, die von COVID-19 rekonvaleszieren, identifiziert und charakterisiert.

Tabelle 1 Spendermerkmale

[Tisch in voller Größe](#)

Abb. 2: Validierung von SARS-CoV-2-abgeleiteten HLA Klasse I und HLA-DR T-Zell-Epitopen.

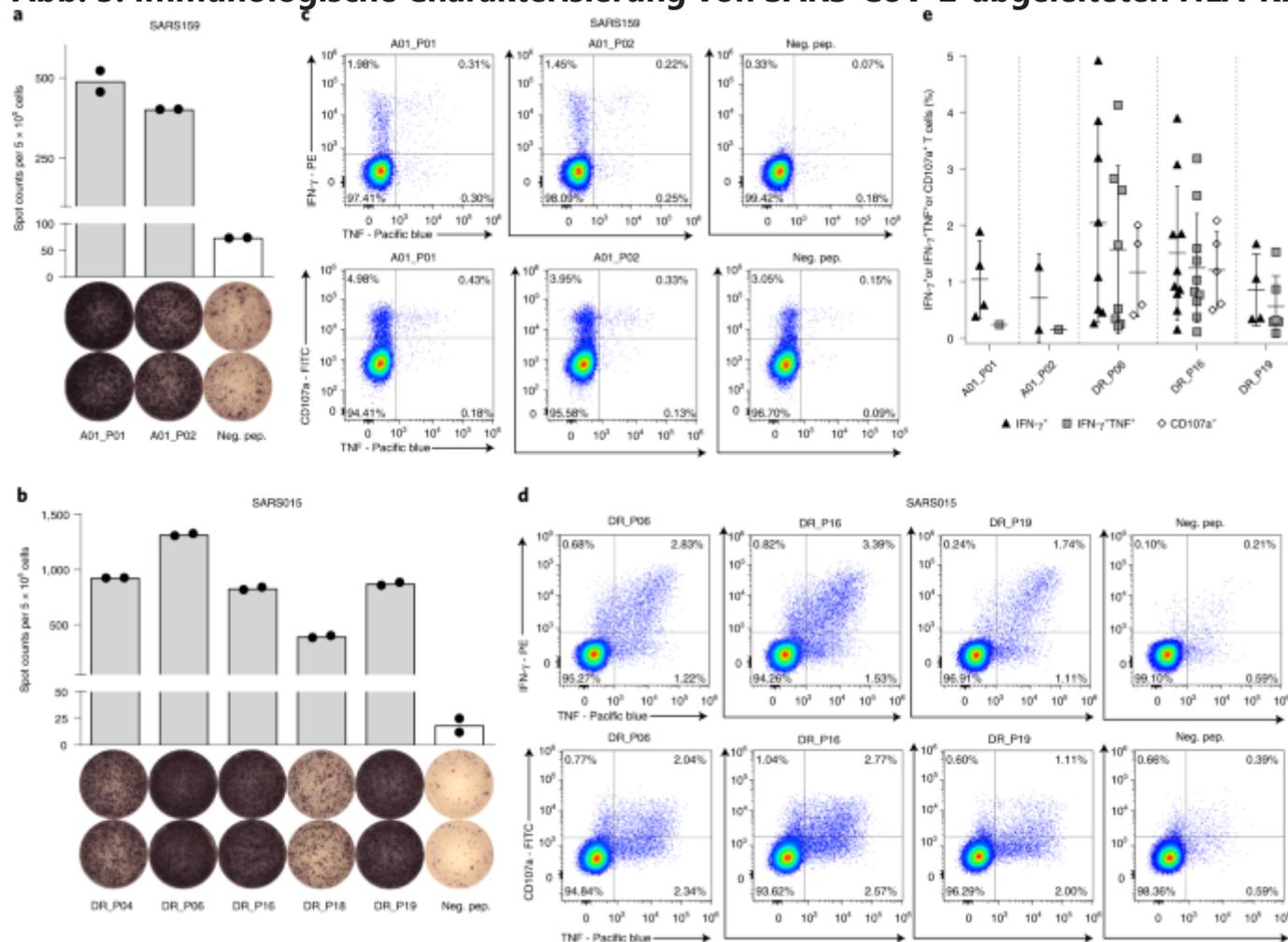


a,b, Erkennungshäufigkeits- und Allotyp-sortierte Tortendiagramme von SARS-CoV-2-abgeleiteten HLA-Klasse I (**a**) und HLA-DR (**b**) T-Zell-Epitopen. Die Erkennungshäufigkeit von T-Zell-Epitopen (Spender mit T-Zell-Antworten/getestete Spender) in Gruppen von HLA-Klasse I-angepassten rekonvaleszenten Spendern mit SARS-CoV-2-Infektion (SARS-Gruppe 1, insgesamt $n = 116$, linkes Tortendiagramm, rot) und Spendern, die nie mit SARS-CoV-2 exponiert waren (PRE-Gruppe A, insgesamt $n = 104$, rechtes Tortendiagramm, blau), wurden mittels ELISPOT-Assays nach einer 12-tägigen In-vitro-Vorstimulation untersucht. Dominante (Immunantworten bei $\geq 50\%$ der SARS-Spender) und subdominante T-Zell-Epitope sind mit dunkelgrauem bzw. hellgrauem Hintergrund markiert. SARS-CoV-2-spezifische T-Zell-Epitope mit Antworten, die ausschließlich in der SARS-Gruppe nachgewiesen wurden, sind mit einem roten Rahmen markiert, kreuzreaktive Epitope mit Immunantworten, die in der PRE-Gruppe nachgewiesen wurden, sind mit einem blauen Rahmen markiert.

[Quelldaten](#)

[Bild in voller Größe](#)

Abb. 3: Immunologische Charakterisierung von SARS-CoV-2-abgeleiteten HLA-Klasse-I- und HLA-DR-T-Zellepitopen.



a-d, IFN- γ -ELISPOT-Assay (**a,b**) und durchflusszytometrische Charakterisierung (**c,d**) von Peptid-spezifischen T-Zellen von rekonvaleszenten SARS-Spendern nach 12-d In-vitro-Vorstimulation mit SARS-CoV-2-abgeleiteten HLA-Klasse I- (**a,c**) und HLA-DR-bindenden (**b,d**) Peptiden. Durchflusszytometrische Daten der angegebenen Zytokine und Oberflächenmarker sind für CD8+ (**c**) und CD4+ (**d**) T-Zellen gezeigt. T-Zell-Antworten wurden als positiv angesehen, wenn die mittlere Spot-Zahl in ELISPOT-Assays oder die detektierte Häufigkeit in der intrazellulären Zytokinfärbung mindestens dreimal höher war als bei der negativen Kontrolle. ELISPOT-Daten werden als Streupunktdiagramm mit Mittelwert dargestellt. Neg. pep., Negativkontrolle unter Verwendung eines irrelevanten HLA-angepassten Peptids. **e**, Prozentsatz der IFN- γ $^+$, IFN- γ +TNF $^+$ oder CD107a $^+$ CD8 $^+$ (für HLA-Klasse-I-Peptide) oder CD4 $^+$ T-Zellen (für HLA-DR-Peptide) über mehrere Spender. Der angegebene Prozentsatz zeigt die Häufigkeit in der mit dem Testpeptid

stimulierten Probe abzüglich der Häufigkeit der negativen Kontrolle, die mit einem irrelevanten Kontrollpeptid stimuliert wurde. Jeder Datenpunkt repräsentiert einen einzelnen Spender, der in einem einzelnen Experiment analysiert wurde. Die horizontalen Linien zeigen den Mittelwert mit s.d. (Fehlerbalken). Die für die Auswertung der in dieser Abbildung dargestellten durchflusszytometrisch gewonnenen Daten angewandte Gating-Strategie ist in der ergänzenden Abb. [5](#) dargestellt.

[Quelldaten](#)

[Bild in voller Größe](#)

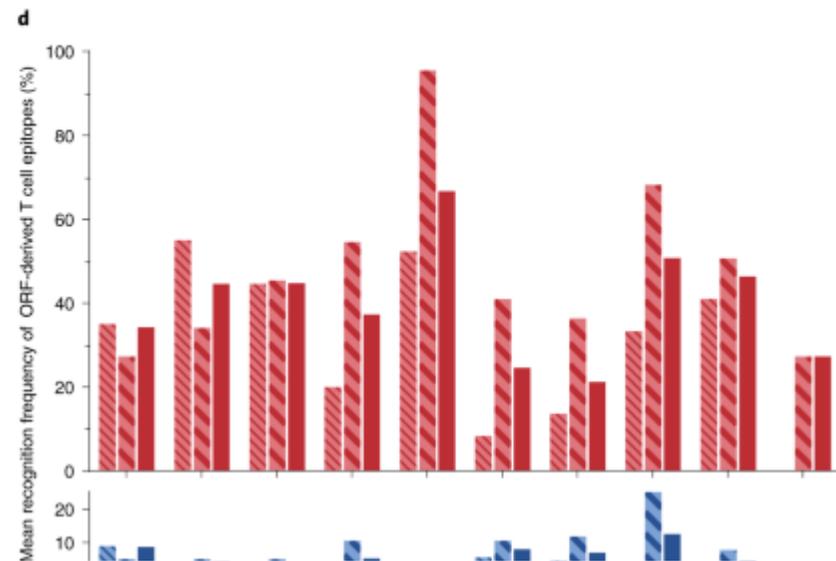
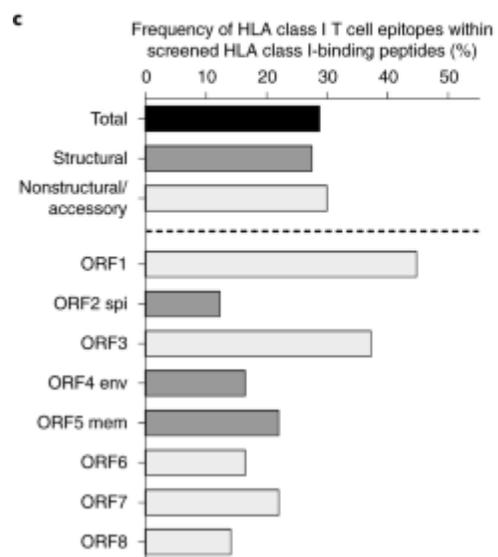
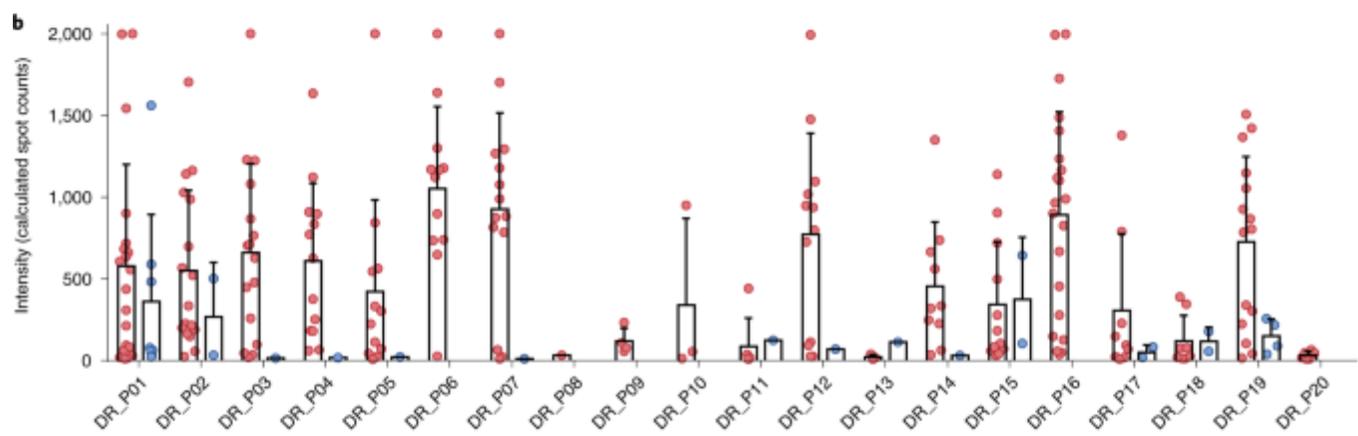
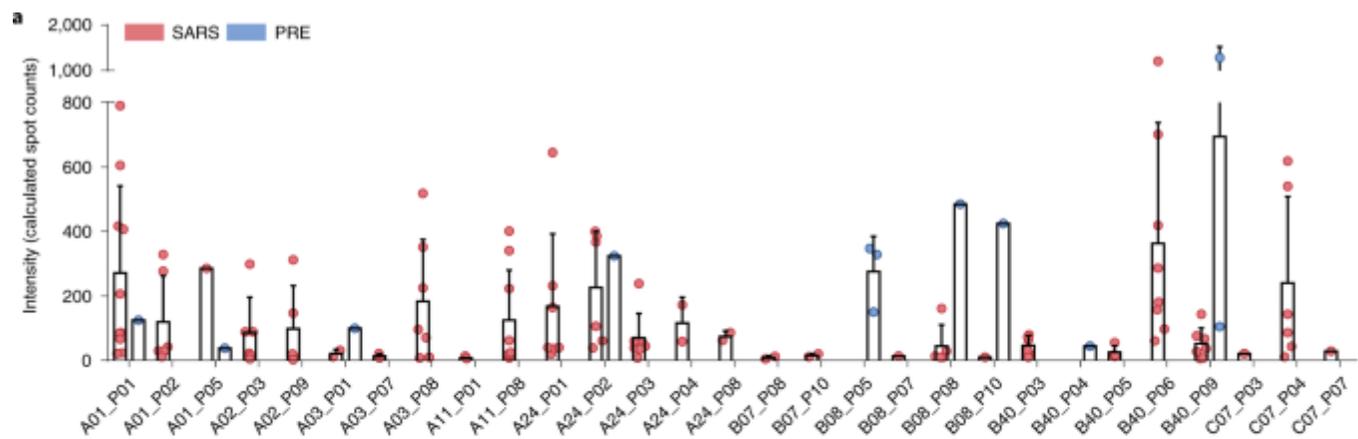
Tabelle 2 Immunogene SARS-CoV-2-abgeleitete HLA Klasse I T-Zell-Epitope

[Tisch in voller Größe](#)

Tabelle 3 Immunogene SARS-CoV-2-abgeleitete HLA-DR T-Zell-Epitope

[Tisch in voller Größe](#)

Abb. 4: Intensität der T-Zell-Antworten gegen SARS-CoV-2 HLA Klasse I und HLA-DR T-Zell-Epitope und Immunogenität verschiedener SARS-CoV-2 ORFs.



a,b, Intensität der T-Zell-Antworten in Form von berechneten Spot-Zahlen in IFN- γ -ELISPOT-Assays nach 12-d Vorstimulation gegen die jeweiligen SARS-CoV-2 HLA-Klasse I (**a**) und HLA-DR (**b**) T-Zell-Epitope unter Verwendung von peripheren mononukleären Blutzellen (PBMCs) von rekonvaleszenten SARS-CoV-2-infizierten Spendern (SARS) sowie nicht exponierten Spendern (PRE). Die Punkte stellen Daten von einzelnen Spendern dar. Balken stellen Mittelwerte mit s.d. (Fehlerbalken) dar. **c**, Häufigkeit der validierten HLA-Klasse-I-T-Zellepitope für strukturelle (dunkelgrau) und nicht-strukturelle/akzessorische (hellgrau) ORFs. **d**, Mittlere Erkennungshäufigkeit von HLA-Klasse-I- und HLA-DR-T-Zellepitopen durch SARS- (rot) und PRE-Spender (blau) innerhalb der verschiedenen ORFs.

[Quelldaten](#)

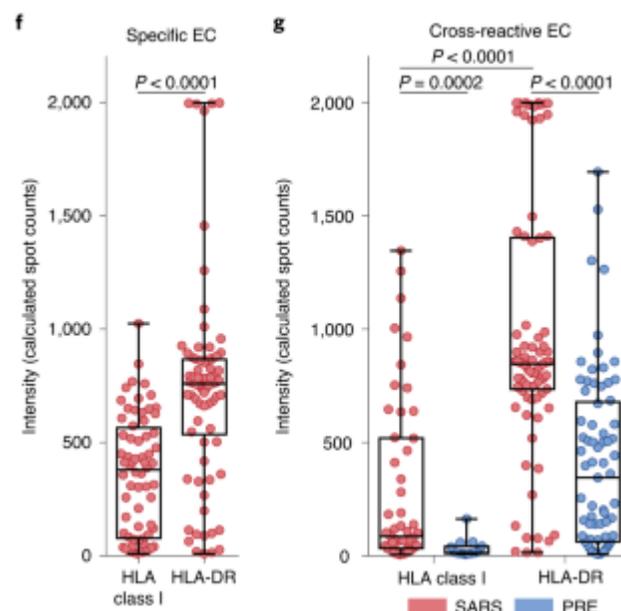
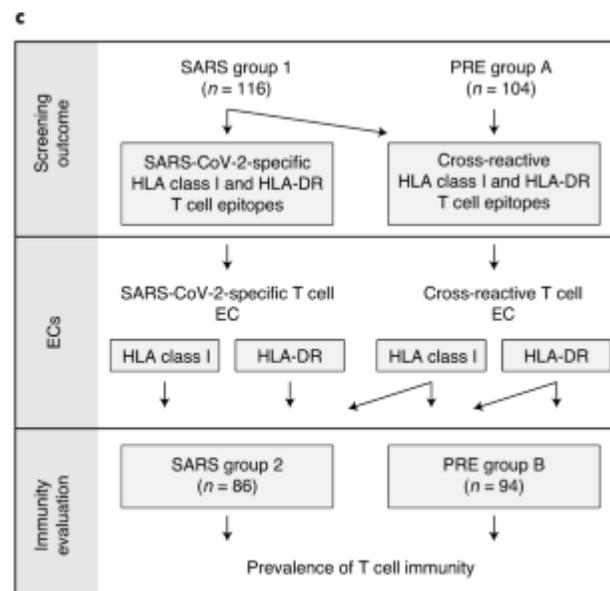
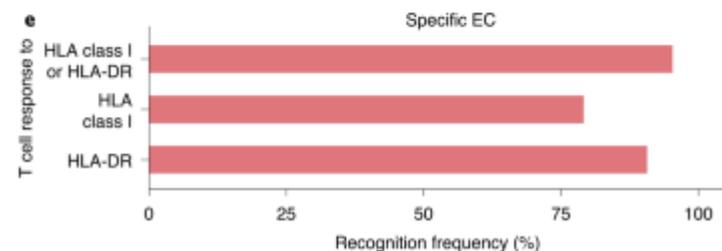
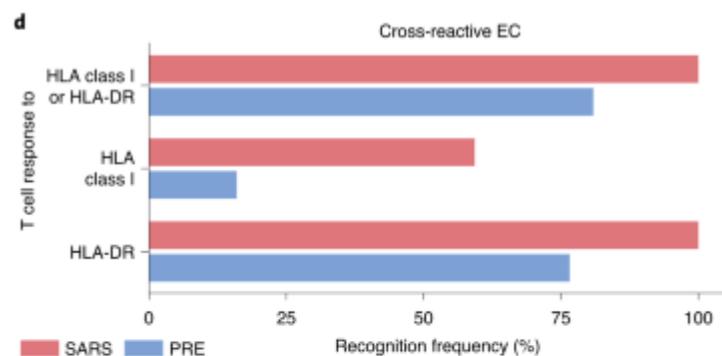
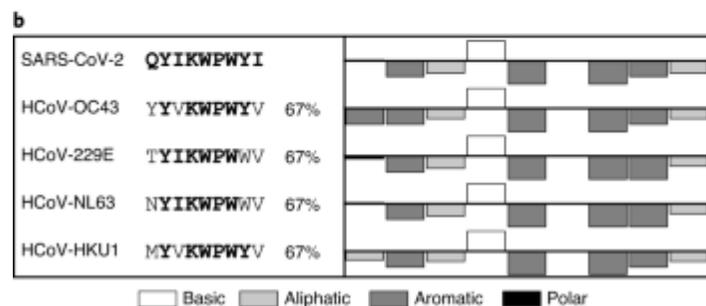
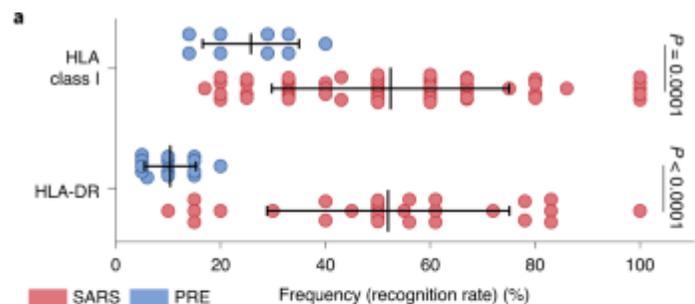
[Bild in voller Größe](#)

Kreuzreaktive T-Zell-Reaktionen bei nicht exponierten Personen

Beim Screening der PRE-Gruppe A wurden kreuzreaktive T-Zell-Reaktionen auf 9 von 29 (31 %) der validierten HLA-Klasse-I- und auf 14 von 20 (70 %) HLA-DR-T-Zellepitopen nachgewiesen. Die Erkennungshäufigkeiten (Spender mit T-Zell-Antworten normalisiert auf alle getesteten Spender) einzelner SARS-CoV-2 HLA-Klasse-I- und HLA-DR-T-Zellepitope in der PRE-Gruppe A waren im Vergleich zu denen der SARS-Gruppe 1 niedriger (bis zu 27 % für B08_P05 und 44 % für DR_P01; Abb. [2a,b](#), Tabellen [2](#) und [3](#) und ergänzende Abb. [4](#)). Die Erkennungshäufigkeiten von HLA-Klasse-I- und HLA-DR-T-Zellepitopen bei einzelnen Spendern unterschieden sich innerhalb der verschiedenen ORFs deutlich zwischen der PRE- und der SARS-Gruppe. Von ORF1 abgeleitete HLA-Klasse-I- (9 %) und von ORF8 abgeleitete HLA-DR- (25 %) T-Zell-Epitope wiesen in der PRE-Gruppe die höchsten Erkennungshäufigkeiten auf, während keines der bei SARS-Spendern häufig erkannten T-Zell-Epitope aus ORF5 (Membranprotein) und ORF10 von T-Zellen in PRE-Spendern erkannt wurde (Abb. [4d](#)). Spenderspezifische Erkennungsraten (erkannte Peptide/getestete Peptide) von HLA-Klasse I und HLA-DR SARS-CoV-2 T-Zellepitopen waren in der PRE-Gruppe signifikant niedriger (HLA-Klasse I, Mittelwert 26 ± 9 ; HLA-DR, Mittelwert 10 ± 5) als in der SARS-Gruppe (HLA-Klasse I, Mittelwert 52 ± 23 ; HLA-DR, Mittelwert 52 ± 23 ; Abb. [5a](#)). Alignments der SARS-CoV-2 T-Zell-Epitope, die von nicht exponierten Personen erkannt wurden, zeigten Ähnlichkeiten zu den vier saisonalen humanen Erkältungs-Coronaviren (HCoV-OC43, HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-HKU1) in Bezug auf Aminosäuresequenzen, physiochemische und/oder HLA-Bindungseigenschaften für 14 von 20 (70 %) der Epitope und lieferten damit eindeutige Hinweise auf eine SARS-CoV-2 T-Zell-Kreuzreaktivität (Abb. [5b](#), ergänzende Tabellen [10](#) und [11](#) und ergänzende Daten [1](#)). Insgesamt wurden kreuzreaktive T-Zell-Antworten auf SARS-CoV-2 HLA-Klasse I und HLA-DR T-Zell-

Epitope bei nicht exponierten Personen identifiziert. Diese kreuzreaktiven Peptide zeigten Ähnlichkeit mit Erkältungs-Coronaviren, was eine funktionelle Grundlage für die heterologe Immunität bei SARS-CoV-2-Infektion darstellt.

Abb. 5: Nachweis und Charakterisierung von T-Zell-Antworten auf von SARS-CoV-2 abgeleitete HLA-Klasse-I- und HLA-DR-T-Zellepitope bei nicht exponierten Personen.



a, Erkennungsrate von HLA-Klasse-I- und HLA-DR-SARS-CoV-2-T-Zellepitopen (erkannte Peptide/getestete Peptide) in Proben von Spendern der SARS-Gruppe 1 ($n = 116$) bzw. der PRE-Gruppe A ($n = 104$) (Daten dargestellt für Spender mit T-Zell-Reaktionen, Mittelwert mit s.d. (Fehlerbalken), zweiseitiger Mann-Whitney U -Test). **b**, Repräsentative Sequenz- und physiochemische

Eigenschafts-Alignments des kreuzreaktiven SARS-CoV-2 T-Zell-Epitops A24_P02 mit den vier saisonalen humanen Erkältungs-Coronaviren (HCoV-OC43, HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-HKU1; für andere kreuzreaktive Peptide siehe ergänzende Tabellen [10](#) und [11](#) und ergänzende Daten [1](#)). Die physiochemischen Eigenschaften wurden mit der Software PepCalc berechnet.

Säulenrichtungen (aufwärts versus abwärts) zeigen die Hydrophilie gemäß der Hopp-Woods-Skala an. **c**, Schematische Übersicht über die Definition von SARS-CoV-2-spezifischen und kreuzreaktiven ECs für die standardisierte Auswertung von SARS-CoV-2-T-Zellantworten in einer Gruppe rekonvaleszenter Personen nach SARS-CoV-2-Infektion (SARS-Gruppe 2, $n = 86$) und einer Gruppe nicht exponierter Personen (PRE-Gruppe B, $n = 94$). **d,e**, Erkennungshäufigkeit (Spender mit T-Zell-Antworten/getestete Spender) von kreuzreaktiven (**d**) und SARS-CoV-2-spezifischen (**e**) ECs durch T-Zellen in der SARS-Gruppe 2 und PRE-Gruppe B. **f,g**, Berechnete Spotzahlen für SARS-CoV-2-spezifische (HLA-Klasse I, $n = 68$; HLA-DR, $n = 78$) (**f**) und kreuzreaktive ECs (**g**) in der SARS-Gruppe 2 (HLA-Klasse I, $n = 51$; HLA-DR, $n = 86$) und PRE-Gruppe B (HLA-Klasse I, $n = 15$; HLA-DR, $n = 73$) (Kästchen stellen Median und 25. bis 75. Perzentile dar, Whisker sind Minimum bis Maximum, zweiseitiger Mann-Whitney *U*-Test).

[Quelldaten](#)

[Bild in voller Größe](#)

T-Zell-Reaktionen bei rekonvaleszenten und nicht exponierten Personen

Das Epitop-Screening bei SARS- und PRE-Spendern ermöglichte die Identifizierung von SARS-CoV-2-spezifischen T-Zell-Epitopen, die ausschließlich von rekonvaleszenten Patienten nach einer SARS-CoV-2-Infektion erkannt werden, und von kreuzreaktiven T-Zell-Epitopen, die sowohl von rekonvaleszenten Patienten als auch von SARS-CoV-2-unbelasteten Personen erkannt werden. Um eine standardisierte Auswertung und Bestimmung der T-Zell-Reaktionshäufigkeiten auf SARS-CoV-2 zu ermöglichen, entwarfen wir breit anwendbare HLA-Klasse-I- und HLA-DR-SARS-CoV-2-spezifische und kreuzreaktive T-Zell-Epitop-Zusammensetzungen (ECs) (Abb. [5c](#) und erweiterte Daten Abb. [6](#)). Diese ECs wurden für IFN- γ -ELISPOT-Assays nach 12-d In-vitro-Vorstimulation in Gruppen von rekonvaleszenten Patienten (SARS-Gruppe 2, $n = 86$; Tabelle [1](#) und ergänzende Tabelle [6](#)) und nicht exponierten Spendern (PRE-Gruppe B, $n = 94$; Tabelle [1](#) und ergänzende Tabelle [7](#)) verwendet. Von den SARS-Spendern zeigten 100% T-Zell-Antworten auf kreuzreaktive und/oder spezifische ECs (HLA-Klasse I 86%, HLA-DR 100%; Abb. [5d,e](#)), während 81% der PRE-Spender T-Zell-Antworten auf kreuzreaktive ECs der HLA-Klasse I (16%) und/oder HLA-DR (77%) zeigten (Abb. [5d](#)). In Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Screening-Gruppe (SARS-Gruppe 1) war die Intensität (ausgedrückt als Spotanzahl pro 5×10^5 Zellen) der HLA-Klasse-I-T-Zellantworten im Vergleich zu den HLA-DR-T-Zellantworten signifikant niedriger, sowohl für spezifische (mediane berechnete Spotanzahl HLA-Klasse I 379, HLA-DR 760) als auch für kreuzreaktive ECs (mediane berechnete Spotanzahl HLA-Klasse I

86, HLA-DR 846; Abb. [5f,g](#)). In Übereinstimmung mit den Unterschieden in den Erkennungsraten, die zwischen der SARS-Gruppe 1 und der PRE-Gruppe A beobachtet wurden, war die Intensität der T-Zell-Antworten auf kreuzreaktive ECs in der PRE-Gruppe signifikant niedriger (mediane berechnete Spotanzahl HLA-Klasse I 14, HLA-DR 346) als in der SARS-Gruppe (Abb. [5g](#)).

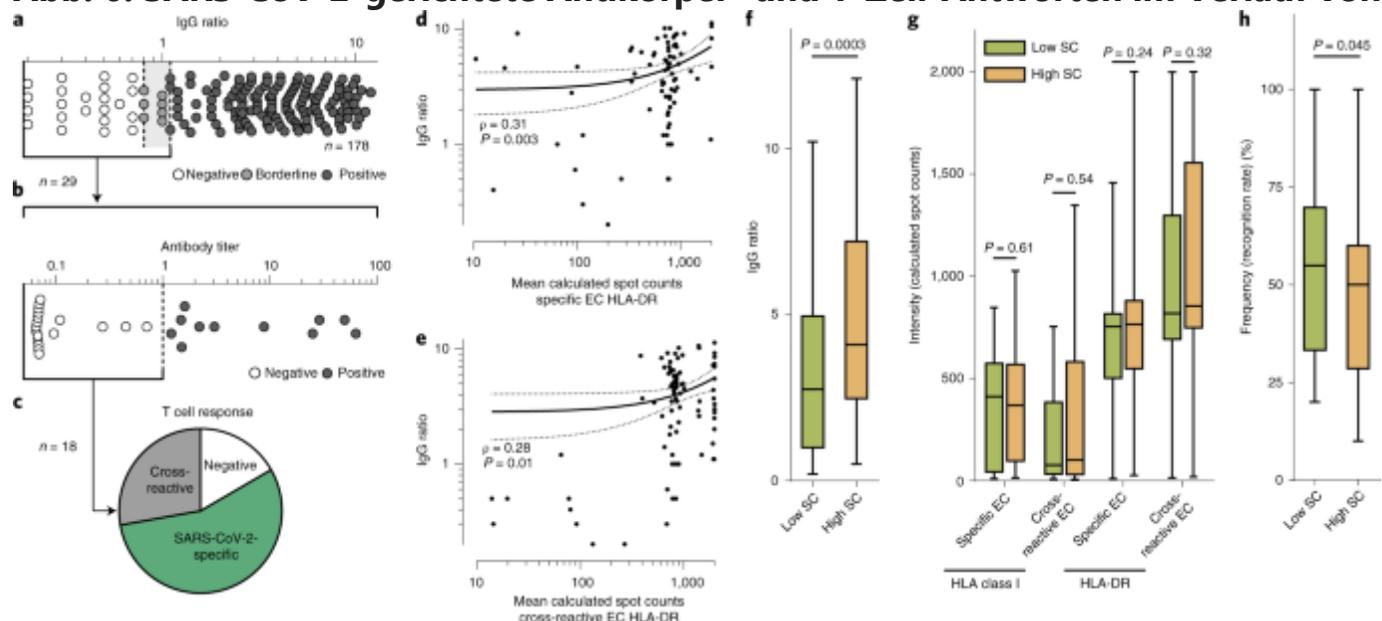
Zusätzlich haben wir die SARS-CoV-2 T-Zell-Antworten auf unsere ECs ex vivo ohne 12-d Vorstimulation ausgewertet. Während die niedrigfrequenten, präexistenten SARS-CoV-2 T-Zellen, die die kreuzreaktiven ECs detektieren, bei PRE-Spendern (0 von 42) ohne Vorstimulation nicht abgegrenzt werden konnten, wurden ex vivo T-Zell-Antworten auf SARS-CoV-2 kreuzreaktive und/oder spezifische ECs bei 96 % (45 von 47) der SARS-Spender beobachtet (58 % HLA-Klasse I, 96 % HLA-DR; Extended Data Abb. [3a,b](#)). Die Intensität der T-Zell-Antworten (in Form von Spot-Zahlen pro 5×10^5 Zellen) war in den Ex-vivo-Analysen geringer und zeigte eine signifikante Expansion der SARS-CoV-2-spezifischen T-Zellen nach der Vorstimulation (Erweiterte Daten Abb. [3c-f](#)). Zusätzlich zu unserer rekonvaleszenten SARS-Sammlung, die hauptsächlich Spender mit einem milden Verlauf von COVID-19 enthielt, haben wir die SARS-CoV-2 T-Zell-Immunität in einer Gruppe von hospitalisierten SARS-Spendern ($n = 21$; Erweiterte Daten Abb. [3g](#)) weiter untersucht. Bei 81 % (17 von 21) der schwer erkrankten Patienten konnten ex vivo T-Zell-Antworten gegen unsere spezifischen (71 %) oder kreuzreaktiven (76 %) ECs nachgewiesen werden (Erweiterte Daten Abb. [3h](#)). Im Vergleich zu den ex vivo analysierten Spendern der SARS-Gruppe 2 unterschieden sich die Erkennungshäufigkeiten in der hospitalisierten Gruppe am stärksten bei den kreuzreaktiven EC HLA-DR (94% nicht-hospitalisiert versus 71% hospitalisiert). Insgesamt ermöglichten die SARS-CoV-2-T-Zell-Epitope den Nachweis einer postinfektiösen T-Zell-Immunität bei 100 % der von COVID-19 rekonvaleszenten Personen und zeigten präexistente T-Zell-Reaktionen bei 81 % der nicht exponierten Personen.

Verhältnis von SARS-CoV-2 T-Zell- und Antikörperantworten

Die Anti-SARS-CoV-2-IgG-Reaktionen bei SARS-Spendern wurden in zwei unabhängigen Assays analysiert. Der Anti-SARS-CoV-2-S1-IgG-ELISA-Assay, der gegen die S1-Domäne des viralen Spike-Proteins, einschließlich der immunologisch relevanten Rezeptorbindungsdomäne, gerichtet war, ergab 149 von 178 (84 %), 7 von 178 (4 %) und 22 von 178 (12 %) Spendern mit positiver, grenzwertiger bzw. keiner Anti-S1-Reaktion (Abb. [6a](#)). Von den Borderline/Non-Respondern waren 18 von 29 (62 %) auch in einem zweiten, unabhängigen Anti-Nukleokapsid-Immunoassay negativ (Abb. [6b](#)). Bei 10 von 18 (56 %) der "Antikörper-Doppelnegativen" wurden jedoch SARS-CoV-2-spezifische CD8+ und/oder CD4+ T-Zell-Antworten nach einer 12-tägigen in-vitro-Vorstimulation nachgewiesen (Abb. [6c](#)). Die Intensität der SARS-CoV-2-spezifischen und kreuzreaktiven HLA-DR-T-Zellantworten korrelierte mit den Antikörpertitern (Abb. [6d,e](#)), während keine Korrelation mit den HLA-Klasse-I-T-Zellantworten beobachtet wurde (Erweiterte Daten Abb. [4a,b](#)). Es wurde keine Korrelation zwischen den Antikörpertitern, die gegen das Nukleokapsid der humanen

Erkältungscoronaviren (HCoV-229E, HCoV-NL63 und HCoV-OC43) gerichtet sind, wie sie mit Bead-basierten serologischen Multiplex-Assays bestimmt wurden, und der Intensität der kreuzreaktiven CD4+ und CD8+ T-Zell-Antworten in der SARS-Gruppe festgestellt (Erweiterte Daten Abb. 4c-h). Zusammenfassend lässt sich sagen, dass SARS-CoV-2-spezifische Peptide den Nachweis von postinfektiösen T-Zell-Antworten ermöglichen, sogar bei seronegativen Rekonvaleszenten.

Abb. 6: SARS-CoV-2-gerichtete Antikörper- und T-Zell-Antworten im Verlauf von COVID-19.



a,b, SARS-CoV-2-Serum-IgG-S1-Verhältnis (EUROIMMUN) bei SARS-Spendern ($n = 178$) (**a**) und Anti-Nukleokapsid-Antikörper-Titer (Elecsys Immunoassay) von SARS-Spendern mit grenzwertigen/negativen Reaktionen im EUROIMMUN-Assay ($n = 29$) (**b**). Spender mit negativen und grenzwertigen Reaktionen sind weiß bzw. grau markiert. **c**, Das Tortendiagramm zeigt die T-Zell-Reaktionen (positiv, $n = 15$; negativ, $n = 3$) auf SARS-CoV-2-spezifische ($n = 10$) und kreuzreaktive ($n = 5$) T-Zell-Epitope bei Spendern ohne Antikörper-Reaktionen ($n = 18$, bewertet in zwei unabhängigen Assays). **d,e**, Korrelationsanalyse der IgG-Verhältnisse (EUROIMMUN) zu SARS-CoV-2 mit den mittels ELISPOT-Assays ermittelten Spot-Zahlen für HLA-DR SARS-CoV-2-spezifische ($n = 78$) (**d**) und kreuzreaktive ($n = 86$) (**e**) ECs in der SARS-Gruppe 2 (gestrichelte Linien, 95% Konfidenzniveau, Spearman's rho (ρ) und P-Wert). **f,g**, IgG-Antikörper-Reaktion (EUROIMMUN) auf SARS-CoV-2 ($n = 178$) (**f**) und T-Zell-Reaktion auf SARS-CoV-2-spezifische (HLA-Klasse I, $n = 68$; HLA-DR, $n = 78$) (**g**) und kreuzreaktive ECs (HLA-Klasse I, $n = 51$; HLA-DR, $n = 86$) bei SARS-Spendern mit niedrigem und hohem SC (Kombination von objektiven (Fieber ≥ 38 °C) und subjektiven Krankheitssymptomen) im Verlauf von COVID-19. **h**, Erkennungsrate von T-Zell-Epitopen (erkannte Peptide/getestete Peptide) bei SARS-Spendern (Gruppe 1) mit

niedrigem und hohem SC im Verlauf von COVID-19 ($n = 84$). Kästen stellen Median und 25. bis 75. Perzentile dar, Whisker sind Minimum bis Maximum, zweiseitiger Mann-Whitney U -Test (**f,g**); Kästen stellen Median und 25. bis 75. Perzentile dar, Whisker sind Minimum bis Maximum, einseitiger Student's t -Test (**h**).

[Quelldaten](#)

[Bild in voller Größe](#)

Assoziation von Antikörper- und T-Zell-Reaktionen mit COVID-19

Schließlich wurde die Assoziation von Anti-SARS-CoV-2-Antikörper- und T-Zell-Antworten nach einer 12-tägigen in vitro-Vorstimulation mit dem Krankheitsschweregrad ermittelt, der anhand eines kombinatorischen Symptomscores (SC) aus objektiven (Fieber $\geq 38,0$ °C) und patienten-subjektiven Krankheitssymptomen beurteilt wurde (Tabelle [1](#)). Ähnlich wie bei kritisch kranken Patienten²⁷, unabhängig vom Alter: hohe Antikörperraten waren signifikant mit der Krankheitsschwere in unserer Sammlung rekonvaleszenter SARS-Spender ($n = 180$, Gruppe 1 und 2) assoziiert, die im Allgemeinen in guter Gesundheit waren und nicht hospitalisiert worden waren (Abb. [6f](#) und Extended Data Abb. [5a](#)). Weder die Intensität der SARS-CoV-2-spezifischen noch der kreuzreaktiven T-Zell-Antworten auf HLA-Klasse-I- oder HLA-DR-ECs korrelierte mit demografischen Merkmalen (Geschlecht, Alter oder Body-Mass-Index; ergänzende Tabellen [12](#) und [13](#)) oder der Krankheitsschwere (Abb. [6g](#)). Vielmehr war die Diversität der T-Zell-Antworten in Bezug auf die Erkennungsrate von SARS-CoV-2 T-Zell-Epitopen (Anzahl der erkannten Epitope normalisiert auf die Gesamtzahl der getesteten Epitope des jeweiligen Spenders) bei Patienten mit schwereren COVID-19-Symptomen vermindert (Abb. [6h](#) und Erweiterte Daten Abb. [5b](#)), was den Nachweis erbringt, dass die Entwicklung einer schützenden Immunität die Erkennung mehrerer SARS-CoV-2-Epitope erfordert.

Diskussion

Diese Studie berichtet über die Charakterisierung mehrerer breit anwendbarer SARS-CoV-2-spezifischer und kreuzreaktiver T-Zell-Epitope verschiedener HLA-Allotyp-Restriktionen über alle viralen ORFs hinweg, die in zwei großen Sammlungen von Spendern identifiziert wurden, die sich von einer SARS-CoV-2-Infektion erholt haben, sowie von nicht exponierten Personen. Unsere Ergebnisse helfen der SARS-CoV-2-Forschung im Hinblick auf das Verständnis der postinfektiösen und heterologen T-Zell-Antworten von SARS-CoV-2, aber auch im Hinblick auf die Entwicklung prophylaktischer und therapeutischer Maßnahmen.

Um den Nachweis selbst sehr kleiner SARS-CoV-2-Epitop-erkennender T-Zell-Populationen zu ermöglichen, insbesondere bei nicht exponierten Spendern, bei denen die SARS-CoV-2-kreuzreaktiven T-Zellen in Ex-vivo-Analysen unterhalb der Nachweisgrenze lagen, basierte die Epitopdefinition auf einem 12-d-Vorstimulationsprotokoll vor einem routinemäßigen 18-24-h-ELISPOT-Assay. Die Notwendigkeit dieses Vorstimulationsprotokolls wird durch eine neuere Arbeit zur Charakterisierung von T-Zell-Epitopen, die vom humanen Cytomegalovirus stammen, unterstützt, die einen Verlust, sogar von dominanten T-Zell-Epitopen, die vom humanen Cytomegalovirus stammen, zeigt, wenn T-Zell-Antworten ex vivo ohne vorherige Amplifikation analysiert werden⁵. Da jedoch die In-vitro-Kultur die Zytokinproduktion oder die Proportionen spezifischer T-Zell-Subsets verzerren könnte, müssen weitere Studien das physiologische Zytokinprofil und den Phänotyp der SARS-CoV-2-spezifischen T-Zellen in umfangreicheren Ex-vivo-Studien evaluieren. Eine weitere Validierung der vorgeschlagenen T-Zell-Epitope erfordert die Bestätigung der MHC-Bindung der jeweiligen Peptide, was durch Rückfaltungsexperimente zur Bildung von Monomeren (MHC-Peptid-Komplexe) mit anschließender Tetramer-Färbung von T-Zellen oder durch Zytotoxizitätsexperimente, z. B. mit SARS-CoV-2-infizierten Zelllinien, erreicht werden könnte.

Derzeit beruht die Bestimmung der Immunität gegen SARS-CoV-2 auf dem Nachweis von SARS-CoV-2-Antikörperreaktionen. Trotz der hohen Sensitivität, die für mehrere Assays berichtet wurde, gibt es jedoch immer noch einen erheblichen Prozentsatz von Patienten mit negativen oder grenzwertigen Antikörperantworten und somit unklarem Immunitätsstatus nach SARS-CoV-2-Infektion²⁸. Unsere SARS-CoV-2-spezifischen T-Zell-Epitope, die von T-Zellen nicht exponierter Spender nicht erkannt werden, ermöglichten den Nachweis spezifischer T-Zell-Antworten auch bei Spendern ohne Antikörperreaktionen und lieferten damit den Beweis für eine T-Zell-Immunität nach Infektion. In zusätzlichen Analysen der T-Zell-Immunität bei hospitalisierten Spendern konnten wir SARS-CoV-2 T-Zell-Antworten auch bei schwer kranken Patienten mit COVID-19 nachweisen.

In Übereinstimmung mit früheren Daten zu akuten und chronischen Virusinfektionen^{29,30} deuten unsere Daten auf eine wichtige Rolle von SARS-CoV-2 CD4+ T-Zell-Antworten im natürlichen Verlauf der Infektion hin, wobei mehrere dominante HLA-DR T-Zell-Epitope identifiziert wurden, die im Vergleich zu den HLA-Klasse I T-Zell-Epitopen eine häufigere und intensivere Immunantwort bei SARS-Spendern auslösen. Dies führt zur Auswahl von T-Zell-Epitopen für das Design von Impfstoffen, auch im Hinblick auf die CD4+ T-Zell-abhängige Stimulation einer schützenden Antikörperantwort.

Die Kreuzreaktivität von T-Zellen für verschiedene Virusspezies oder sogar zwischen verschiedenen Erregern ist ein bekanntes Phänomen^{31,32}, das postuliert wird, um eine heterologe Immunität gegen einen Erreger nach Exposition gegenüber einem nicht identischen Erreger zu ermöglichen^{21,22,33}. Diese heterologe Immunität, die durch kreuzreaktive T-Zell-Antworten ermöglicht wird,

kann entweder vorteilhafte oder nachteilige Wirkungen vermitteln^{34,35} wie z. B. bei der Epstein-Barr-Virus-Infektion, bei der die Influenza-Immunität und das kreuzreaktive T-Zell-Antigenrezeptor-Repertoire zu einer schützenden Immunität gegen die Epstein-Barr-Virus-Infektion³⁶ oder zu schweren Symptomen der infektiösen Mononukleose³⁷ führen können. Unter Verwendung von vorhergesagten oder zufälligen SARS-CoV-2-abgeleiteten Peptidpools berichteten jüngste Studien über bereits vorhandene SARS-CoV-2-gerichtete T-Zell-Antworten in kleinen Gruppen von nicht exponierten sowie von Personen, die seronegativ für SARS-CoV-2 sind, was auf eine Kreuzreaktivität zwischen humanen Erkältungs-Coronaviren und SARS-CoV-2 hindeutet (refs. [18:19:20](#)). In unserer Studie haben wir die genauen T-Zell-Epitope identifiziert und charakterisiert, die für die Kreuzreaktivität von SARS-CoV-2 verantwortlich sind, und die Ähnlichkeit mit humanen Erkältungs-Coronaviren in Bezug auf individuelle Peptidsequenzen, physiochemische und HLA-bindende Eigenschaften nachgewiesen^{38,39}. Insbesondere konnten wir SARS-CoV-2 kreuzreaktive T-Zellen in 81 % der nicht exponierten Personen nach einer 12-d-Vorstimulation nachweisen. Darüber hinaus wurde eine geringere Erkennungshäufigkeit kreuzreaktiver HLA-DR EC bei hospitalisierten Patienten im Vergleich zu Spendern mit mildem COVID-19-Verlauf nachgewiesen, was auf einen Mangel an präexistenten SARS-CoV-2 T-Zellen bei schwer kranken Patienten hindeuten könnte. Um festzustellen, ob expandierbare, kreuzreaktive T-Zellen tatsächlich eine vorteilhafte heterologe Immunität vermitteln und ob dies den relativ geringen Anteil schwer kranker oder sogar generell infizierter Patienten während dieser Pandemie erklärt^{40,41}, wäre eine spezielle Studie erforderlich, die z. B. ein gematchtes Fallkontroll- oder retrospektives Kohortendesign unter Anwendung unserer kreuzreaktiven SARS-CoV-2-T-Zellepitope verwendet. Darüber hinaus muss betont werden, dass der Ansatz der Sequenzalignments mittels National Center for Biotechnology Information (NCBI) BLAST^{42,43} hauptsächlich die Erkennung von kreuzreaktiven Epitopen mit hoher Sequenzähnlichkeit ermöglicht, während kreuzreaktive Epitope mit Ähnlichkeiten in den physiochemischen Eigenschaften innerhalb anderer ORFs von humanen Erkältungscoronaviren sowie in anderen humanen Viren wie Influenza⁴⁴ möglicherweise nicht identifiziert werden.

Unsere Beobachtung, dass die Intensität der T-Zell-Antworten und die Erkennungsrate der T-Zell-Epitope bei rekonvaleszenten Patienten im Vergleich zu nicht exponierten Personen signifikant höher war, deutet darauf hin, dass bei aktiver Infektion nicht nur eine Expansion, sondern auch eine Ausbreitung der Diversität der SARS-CoV-2 T-Zell-Antwort stattfindet.

Die pathophysiologische Beteiligung der Immunantwort am Verlauf von COVID-19 wird intensiv diskutiert. Wir zeigten eine Korrelation von hohen Antikörpertitern mit verstärkten COVID-19-Symptomen in unserer Kohorte von nicht-hospitalisierten Patienten. Dieser Befund steht im Einklang mit aktuellen Daten, die eine Korrelation von hohen Antikörpertitern mit dem Schweregrad der Erkrankung bei hospitalisierten Patienten beschreiben²⁷. Unsere Daten liefern zusammen mit einer kürzlich

veröffentlichten Studie²⁰ den Beweis, dass die Intensität der T-Zell-Antworten nicht mit dem Schweregrad der Erkrankung korreliert. Dieser Befund ist von hoher Relevanz für das Design von Impfstoffen, da er Hinweise darauf liefert, dass krankheitsverschlimmernde Effekte die Entwicklung von prophylaktischen und therapeutischen Impfansätzen, die auf die Induktion von SARS-CoV-2-spezifischen T-Zell-Antworten abzielen, nicht behindern. Im Gegensatz zur Intensität der T-Zell-Antwort konnten wir zeigen, dass die Erkennungsraten von SARS-CoV-2 T-Zell-Epitopen durch einzelne Spender bei Personen mit schwereren COVID-19-Symptomen geringer waren. Diese Beobachtung, zusammen mit unseren Daten über erhöhte Erkennungsraten von T-Zell-Epitopen nach einer SARS-CoV-2-Infektion im Vergleich zu vorbestehenden T-Zell-Antworten bei nicht exponierten Personen und Berichten von anderen aktiven oder chronischen Virusinfektionen, die die Diversität der T-Zell-Antwort mit der antiviralen Abwehr in Verbindung bringen⁴⁵⁻⁴⁶⁻⁴⁷, liefert Hinweise darauf, dass die natürliche Entwicklung und die impfstoffbasierte Induktion der Immunität gegen SARS-CoV-2 die Erkennung mehrerer SARS-CoV-2-Epitope erfordert. Die Bestätigung dieser Beobachtung in einer größeren SARS-Kohorte, die mehr hospitalisierte Patienten einschließt, ist gerechtfertigt und erfordert auf Einzelepitopen basierende Methoden zur Bestimmung der Erkennungsraten von T-Zell-Epitopen, wie es unsere SARS-CoV-2 T-Zell-Epitope ermöglichen. Darüber hinaus unterstreichen unsere Daten die hohe Bedeutung der identifizierten T-Zell-Epitope für weitere Untersuchungen der SARS-CoV-2-Immunität, aber auch für die Entwicklung von präventiven und therapeutischen COVID-19-Maßnahmen. Unter Verwendung der SARS-CoV-2 T-Zell-Epitope bereiten wir derzeit zwei klinische Studien (EudraCT 2020-002502-75; EudraCT 2020-002519-23) zur Evaluierung eines Multi-Peptid-Impfstoffs zur Induktion einer breiten T-Zell-Immunität gegen SARS-CoV-2 zur Bekämpfung von COVID-19 vor.

Methoden

Patienten und Blutproben

Blut- und Serumproben sowie eine fragebogenbasierte Erfassung von Spendercharakteristika und Krankheitssymptomen von rekonvaleszenten Probanden nach einer SARS-CoV-2-Infektion wurden am Universitätsklinikum Tübingen und der Krebsforschung Rhein-Main (Krankenhaus Nordwest) von April bis Juli 2020 gesammelt (SARS-Sammlung, $n = 180$). Die Sammlung der nicht exponierten Personen (PRE-Sammlung, $n = 185$) umfasst Proben von gesunden Blutspendern (Blutspenden zu Forschungszwecken aus der Abteilung Transfusionsmedizin, Universitätsklinikum Tübingen), die nie gegenüber SARS-CoV-2 exponiert waren, da die PBMCs dieser Spender vor der SARS-CoV-2-Pandemie (Juni 2007 bis November 2019) isoliert und bestätigt wurden (Abteilung Immunologie, Tübingen). Die informierte Zustimmung wurde gemäß dem Protokoll der Deklaration von Helsinki eingeholt. Die Studie wurde von den lokalen Ethikkommissionen genehmigt und nach deren Richtlinien durchgeführt (179/2020/BO2, MC 288/2015). Aus den SARS- ($n = 180$) und PRE- ($n = 185$) Kollektionen wurden zwei Gruppen gebildet für (1) Single-Peptid-basiertes

T-Zell-Epitop-Screening (SARS-Gruppe 1 und PRE-Gruppe A) und (2) standardisierte Immunitätsbewertung von ECs mittels IFN- γ -ELISPOT-Assays nach in vitro-Expansion sowie direkt ex vivo (SARS-Gruppe 2 und PRE-Gruppe B). Die Spender wurden den Gruppen nach dem Zeitpunkt der Probengewinnung und der verfügbaren Probenzellzahl zugeordnet. Einige Spender wurden in beiden Gruppen analysiert (1 und 2 bzw. A und B für SARS bzw. PRE). Zusätzlich wurden Proben von hospitalisierten, schwer erkrankten SARS-Spendern für die Auswertung der ex vivo T-Zell-Immunität gesammelt. Die SARS-CoV-2-Infektion wurde mittels PCR-Test nach Nasopharyngealabstrich bestätigt. Die Rekrutierung von SARS-Spendern erfolgte durch Online- und Papieraufrufe. Die Probenentnahme für SARS-Spender der Gruppen 1 und 2 erfolgte ca. 3-8 Wochen nach Ende der Symptome und/oder negativem Virusabstrich. Die Probenentnahme von hospitalisierten SARS-Spendern erfolgte 5-112 d nach positiver SARS-CoV-2 PCR. PBMCs wurden durch Dichtegradientenzentrifugation isoliert und bis zur weiteren Verwendung bei -80 °C gelagert. Das Serum wurde durch Zentrifugation für 10 min abgetrennt und der Überstand bei -80 °C gelagert. Die HLA-Typisierung wurde von der Immatics Biotechnology GmbH und der Abteilung für Hämatologie und Onkologie des Universitätsklinikums Tübingen durchgeführt. Der SC wurde durch die Kombination objektiver (Fieber $\geq 38,0$ °C) und subjektiver Krankheitssymptome (keine/milde/moderate versus schwere, per Fragebogen berichtet) der einzelnen Spender bestimmt. Spender mit schweren Krankheitssymptomen und/oder Fieber wurden als "hoher SC" und alle anderen als "niedriger SC" klassifiziert. Detaillierte SARS- und PRE-Spendercharakteristika sowie Informationen über die Zuteilung der Spender zu den experimentellen Gruppen finden Sie in Tabelle [1](#), den ergänzenden Tabellen [6](#) und [7](#) und in der erweiterten Datenabbildung [3g](#).

Datenabruf

Die vollständige hochkonservierte und repräsentativ annotierte Proteomsequenz des SARS-CoV-2-Isolats Wuhan-Hu-1, die zehn verschiedene ORFs enthält, wurde aus der NCBI-Datenbank mit der Zugangsnummer [MN908947](#) (Ref. [48](#)) abgerufen. Die Aminosäuresequenz ist identisch mit der Referenzsequenz (EPI_ISL_412026), die von Wang et al. durch multiple Sequenzalignments und phylogenetische Analysen von 95 Genomsequenzen in voller Länge definiert wurde²⁵.

Vorhersage von SARS-CoV-2-abgeleiteten HLA-Klasse-I-bindenden Peptiden

Die Proteinsequenzen aller zehn ORFs wurden in 9-12 Aminosäuren lange Peptide aufgeteilt, die das komplette Proteom des Virus abdecken. Die Vorhersagealgorithmen NetMHCpan 4.0 (Ref. [49-50-51](#)) und SYFPEITHI 1.0 (Ref. [52](#)) wurden verwendet, um die Bindung von Peptiden an HLA-A*01:01, -A*02:01, -A*03:01, -A*11:01, -A*24:02, -B*07:02, -B*08:01, -B*15:01, -B*40:01 und -C*07:02 vorherzusagen. Nur Peptide, die von beiden Algorithmen als HLA-bindende Peptide vorhergesagt wurden (SYFPEITHI-Score $\geq 60\%$,

NetMHCpan-Rang ≤ 2), wurden für den jeweiligen Allotyp weiter untersucht. Peptide, die Cysteine enthalten, wurden ausgeschlossen, um eine Dimerisierung in einem möglichen späteren Impfstoffproduktionsprozess zu vermeiden. Peptide, die vom ORF1-Polyprotein abgeleitet sind, das die Spaltstellen der enthaltenen unterschiedlichen Proteinketten überspannt, wurden ausgeschlossen. Ein gemittelter Rang, der die von NetMHCpan und SYFPEITHI abgeleiteten Vorhersageergebnisse kombiniert, wurde berechnet, und die Peptide wurden für jeden Allotyp und ORF separat eingestuft. Durch die rangbasierte Auswahl wurde jeweils ein Peptid für jeden ORF und jeden Allotyp ausgewählt. Für Peptide mit gleichen gemittelten Rängen wurden Peptide mit höheren SYFPEITHI-Scores nominiert. Für einige HLA-Allotypen ergab nicht jeder ORF ein geeignetes HLA-bindendes Peptid. Um zehn Peptide pro HLA-Allotyp und ORF zu erhalten, wurden die verbleibenden Slots mit zusätzlichen Peptiden aus dem ORF9-Nukleokapsidprotein, dem ORF2-Spike-Protein und ORF1 gefüllt.

Vorhersage von SARS-CoV-2-abgeleiteten HLA-DR-bindenden Peptiden

Für die HLA-DR-Vorhersagen wurden alle zehn ORFs in Peptide von 15 Aminosäuren aufgeteilt, was insgesamt 9.561 Peptide ergab. Der Vorhersagealgorithmus SYFPEITHI 1.0 wurde verwendet, um die Bindung an HLA-DRB1*01:01, -DRB1*03:01, -DRB1*04:01, -DRB1*07:01, -DRB1*11:01 und -DRB1*15:01 vorherzusagen. Die 5 % (2 % für ORF1) Peptide mit der höchsten Punktzahl jedes ORFs (basierend auf der Gesamtlänge jedes ORFs) und jedes HLA-DR-Allotyps wurden ausgewählt. Die positionsbasierte Sortierung der Peptide innerhalb jedes ORFs ergab Peptidcluster von promiskuitiven Peptiden, die an mehrere HLA-DR-Allotypen binden. Durch clusterbasierte Selektion wurden Peptidcluster von promiskuitiven Peptiden mit einer gemeinsamen Kernsequenz von neun Aminosäuren ausgewählt. Dabei wurden zehn bzw. zwei Cluster für das ORF9-Nukleokapsid und das ORF2-Spike-Protein sowie jeweils ein Cluster für die übrigen ORFs ausgewählt. Von jedem ausgewählten Cluster wurde ein repräsentatives Peptid für die Immunogenitätsanalyse ausgewählt, wobei cysteinhaltige Peptide ausgeschlossen wurden.

Sequenz- und physiochemische Eigenschaftsanpassungen an humane Erkältungscoronaviren

Potenzielle kreuzreaktive Epitope der von SARS-CoV-2 abgeleiteten Peptide der vier saisonalen humanen Erkältungs-Coronaviren (HCoV-OC43, HCoV-229E, HCoV-NL63 und HCoV-HKU1) wurden durch Sequenzalignments der von SARS-CoV-2 abgeleiteten Peptidsequenzen mit den Sequenzen der Erkältungs-Coronaviren mittels NCBI BLAST42⁴³ identifiziert. Die HLA-Bindung der von den Erkältungs-Coronaviren abgeleiteten Peptide an das HLA-Allel des entsprechenden SARS-CoV-2-Peptids wurde mit den Algorithmen NetMHCpan 4.0 (Ref. [49](#) [50](#) [51](#)) und SYFPEITHI 1.0 (Ref. [52](#)) vorhergesagt. Physiochemische Eigenschaftsalignments der

von SARS-CoV-2 abgeleiteten Peptidsequenzen mit den humanen Erkältungscoronaviren wurden mit PepCalc (<https://pepcalc.com/>) durchgeführt.

IFN- γ -ELISPOT-Assay nach 12-d In-vitro-Stimulation oder ex vivo ohne Vorstimulation

Synthetische Peptide wurden von EMC Microcollections und INTAVIS Bioanalytical Instruments bereitgestellt. Für die 12-tägige In-vitro-Stimulation wurden PBMCs mit HLA-Klasse-I- oder HLA-DR-Peptidpools (1 $\mu\text{g ml}^{-1}$ pro Peptid für Klasse I bzw. 5 $\mu\text{g ml}^{-1}$ für HLA-DR) gepulst und 12 Tage lang kultiviert, wobei an den Tagen 3, 5 und 7 20 U ml^{-1} Interleukin-2 (Novartis) hinzugefügt wurde. Peptid-stimulierte (expandierte/in vitro vorstimulierte) oder frisch aufgetaute (ex vivo) PBMCs wurden mittels Enzyme-linked Immunospot (ELISPOT)-Assay in Duplikaten analysiert (falls nicht anders angegeben). Insgesamt $2-8 \times 10^5$ Zellen pro Well wurden mit 1 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (Klasse I) oder 2,5 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (HLA-DR) Einzelpeptiden in 96-Well-Platten inkubiert, die mit Anti-IFN- γ (Klon 1-D1K, 2 $\mu\text{g ml}^{-1}$, MabTech) beschichtet waren. PHA (Sigma-Aldrich) diente als Positivkontrolle, irrelevante HLA-angepasste Kontrollpeptide als Negativkontrolle (negative Kontrollpeptide sind in der ergänzenden Tabelle [14](#) aufgeführt). Nach 22-24 h Inkubation wurden die Spots mit dem biotinylierten Anti-IFN- γ -Detektionsantikörper (Klon 7-B6-1, 0,3 $\mu\text{g ml}^{-1}$, MabTech), ExtrAvidin-alkalischer Phosphatase (1:1.000 Verdünnung, Sigma-Aldrich) und BCIP/NBT (5-Brom-4-chlor-3-indolyl-phosphat/Nitro-Blau-Tetrazoliumchlorid, Sigma-Aldrich) nachgewiesen. Die Spots wurden mit einem ImmunoSpot S5-Analysegerät (CTL) gezählt und die T-Zell-Antworten wurden als positiv eingestuft, wenn die mittlere Spotanzahl mindestens dreimal höher war als die mittlere Spotanzahl der Negativkontrolle. Die Intensität der T-Zell-Antworten wird als berechnete Spotanzahl dargestellt, die als mittlere Spotanzahl der Duplikate, normalisiert auf 5×10^5 Zellen, minus der normalisierten mittleren Spotanzahl der jeweiligen Negativkontrolle berechnet wurde. Im Gegensatz dazu gibt die Erkennungshäufigkeit von T-Zell-Antworten innerhalb einer Spendergruppe die relative Anzahl der Spender an, die die jeweiligen Peptide oder ECs erkennen können (positive Spender/getestete Spender) (Abb. [2a,b](#), [4d](#) und [5d,e](#)). Die Häufigkeit (Erkennungsrate) für einzelne Spender stellt die Anzahl der erkannten SARS-CoV-2-abgeleiteten Peptide (positive Peptide/getestete Peptide) dar (Abb. [5a](#) und [6h](#)). Für HLA-C*07-restringierte Peptide wurde das Screening bei PRE-Spendern aufgrund der nicht verfügbaren HLA-C-Typisierung und des bekannten Kopplungsungleichgewichts von HLA-B*07 und -C*07 mit Proben von HLA-B*07+ durchgeführt (refs. [53](#)[54](#)).

Intrazelluläre Zytokin- und Zelloberflächenmarker-Färbung

Peptid-spezifische T-Zellen wurden weiter durch intrazelluläre Zytokin- und Zelloberflächenmarker-Färbung charakterisiert. PBMCs wurden mit 10 $\mu\text{g ml}^{-1}$ Peptid, 10 $\mu\text{g ml}^{-1}$ Brefeldin A (Sigma-Aldrich) und einer 1:500 Verdünnung von GolgiStop (BD) für 12-16 h

inkubiert. Die Färbung erfolgte mit Cytofix/Cytoperm-Lösung (BD), APC/Cy7 anti-human CD4 (1:100 Verdünnung, BioLegend), PE/Cy7 anti-human CD8 (1:400 Verdünnung, Beckman Coulter), Pacific blue anti-human TNF (1:120 Verdünnung, BioLegend), FITC anti-human CD107a (1:100 Verdünnung, BioLegend) und PE anti-human IFN- γ monoklonale Antikörper (1:200 Verdünnung, BioLegend). PMA (5 $\mu\text{g ml}^{-1}$) und Ionomycin (1 μM , Sigma-Aldrich) dienten als Positivkontrolle. Lebensfähige Zellen wurden mit Aqua live/dead (1:400 Verdünnung, Invitrogen) bestimmt. Alle Proben wurden auf einem FACS Canto II Zytometer (BD) analysiert und mit der FlowJo Software v.10.0.8 (BD) ausgewertet. Die für die Auswertung der durchflusszytometrisch gewonnenen Daten angewandte Gating-Strategie ist in der ergänzenden Abb. [5](#) dargestellt.

SARS-CoV-2 IgG ELISA

Der 96-Well-SARS-CoV-2-IgG-ELISA-Assay (EUROIMMUN, 2606A_A_DE_C03, in der Fassung vom 22. April 2020) wurde auf einem automatisierten BEP 2000 Advance-System (Siemens Healthcare Diagnostics) gemäß den Anweisungen des Herstellers durchgeführt. Der ELISA-Assay weist Anti-SARS-CoV-2-IgG nach, das gegen die S1-Domäne des viralen Spike-Proteins gerichtet ist, und basiert auf einem Assay-spezifischen Kalibrator, der ein Verhältnis von Probenabsorption zu Kalibratorabsorption meldet. Die endgültige Interpretation der Positivität wird durch das Verhältnis oberhalb eines vom Hersteller angegebenen Schwellenwerts bestimmt: positiv (Verhältnis $\geq 1,1$), grenzwertig (Verhältnis 0,8-1,0) oder negativ (Verhältnis $< 0,8$). Die Qualitätskontrolle wurde gemäß den Anweisungen des Herstellers an jedem Testtag durchgeführt.

Elecsys Anti-SARS-CoV-2-Immunoassay

Der Elecsys anti-SARS-CoV-2-Assay ist ein elektrogenerierter Chemilumineszenz-Immunoassay (Roche Diagnostics) und wurde gemäß der Anleitung des Herstellers (v.1.0, Stand Mai 2020) verwendet. Er ist für den Nachweis von hochaffinen Antikörpern (einschließlich IgG) gegen das Nukleokapsidprotein von SARS-CoV-2 in Humanserum bestimmt. Die Auslesung erfolgte auf einem Cobas e411-Analysegerät. Negative Ergebnisse wurden durch einen Cutoff-Index von $< 1,0$ definiert. Die Qualitätskontrolle wurde gemäß den Anweisungen des Herstellers an jedem Testtag durchgeführt.

Herstellung von Expressionskonstrukten für die Produktion von viralen Antigenen

Die komplementären DNAs, die für die Nukleokapsidproteine von HCoV-OC43, HCoV-NL63 und HCoV-229E kodieren (NCBI-Genbank-Zugangsnummern [YP_009555245.1](#); [YP_003771.1](#); [NP_073556.1](#)) wurden mit einem N-terminalen Hexahistidin (His6)-Tag

durch Gensynthese (Thermo Fisher Scientific) hergestellt und mit Standardtechniken in NdeI/HindIII-Stellen des bakteriellen Expressionsvektors pRSET2b (Thermo Fisher Scientific) kloniert.

Proteinexpression und -aufreinigung

Zur Expression der viralen Nukleokapsidproteine wurden die jeweiligen Expressionskonstrukte in *Escherichia coli* BL21(DE3) Zellen transformiert. Die Proteinexpression wurde in 1 l TB-Medium bei einer optischen Dichte (OD₆₀₀) von 2,5-3 durch Zugabe von 0,2 mM Isopropyl-β-D-thiogalactopyranosid für 16 h bei 20 °C induziert. Die Zellen wurden durch Zentrifugation (10 min, 6.000 g) gesammelt und die Pellets in Bindungspuffer (1× PBS, 0,5 M NaCl, 50 mM Imidazol, 2 mM PMSF, 2 mM MgCl₂, 150 µg ml⁻¹ Lysozym (Merck) und 625 µg ml⁻¹ DNase I (Appllichem)) suspendiert. Die Zellsuspensionen wurden für 15 min auf Eis beschallt (Bandelin Sonopuls HD70, Leistung MS72/D, Zyklus 50%), 1 h bei 4 °C im Rotationsschüttler inkubiert und erneut beschallt. Nach Zentrifugation (30 min bei 20.000 g) wurde dem löslichen Proteinextrakt Harnstoff in einer Endkonzentration von 6 M zugesetzt. Der Extrakt wurde durch einen 0,45-µm-Filter filtriert und auf eine voräquilibrierte 1-ml HisTrapFF-Säule (GE Healthcare) geladen. Die gebundenen His-markierten Nukleokapsidproteine wurden durch einen linearen Gradienten (30 ml) von 50 bis 500 mM Imidazol in Elutionspuffer (1× PBS, pH 7,4, 0,5 M NaCl, 6 M Urea) eluiert. Elutionsfraktionen (0,5 ml), die die His-markierten Nukleokapsidproteine enthalten, wurden gepoolt und in PBS dialysiert (D-Tube Dialyzer Mega, Novagen). Alle gereinigten Proteine wurden mittels Standard-SDS-PAGE analysiert, gefolgt von einer Färbung mit InstantBlue (Expedeon) und einem Immunoblotting mit einem Anti-His (1:1.000-Verdünnung, QIAGEN) in Kombination mit einem mit AlexaFluor647 markierten Esel-Anti-Maus (1:2.000-Verdünnung, Invitrogen) auf einem Typhoon Trio (GE Healthcare, Anregung 633 nM, Emissionsfiltereinstellungen 670 nM BP 30) zur Bestätigung der Proteinintegrität.

Vorbereitung von Beads für serologische Multiplex-Tests

Die Antigene wurden kovalent auf spektral unterschiedlichen Populationen von carboxylierten paramagnetischen Beads (MagPlex Microspheres, Luminex Corporation) unter Verwendung der 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-Carbodiimid/Sulfo-N-Hydroxysuccinimid-Chemie immobilisiert. Für die Immobilisierung wurde ein Magnetpartikelprozessor (KingFisher 96, Thermo Fisher Scientific) verwendet. Die Bead-Bestände wurden gründlich vortexen und 15 s lang beschallt. Eine 96 Deep-Well-Platte und ein Spitzenkamm wurden mit 1,1 ml 0,5% (v/v) Triton X-100 für 10 min blockiert. Anschließend wurden 83 µl 0,065 % (v/v) Triton X-100 und 1 ml Bead Stock in jede Vertiefung gegeben. Schließlich enthielt jede Vertiefung 0,005 % (v/v) Triton X-100 und $12,5 \times 10^7$ Beads einer einzelnen Bead-Population. Die Beads wurden zweimal mit 500 µl Aktivierungspuffer (100 mM Na₂HPO₄, pH 6,2, 0,005 % (v/v)

Triton X-100) gewaschen und die Beads wurden 20 Minuten lang in 300 µl Aktivierungsmischung aktiviert, die 5 mg ml⁻¹ 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimid und 5 mg ml⁻¹ Sulfo-N-hydroxysuccinimid in Aktivierungspuffer enthält. Nach der Aktivierung wurden die Beads zweimal mit 500 µl Kopplungspuffer (500 mM MES, pH 5,0 + 0,005% (v/v) Triton X-100) gewaschen. Antigene wurden in Kopplungspuffer auf 39 µg ml⁻¹ verdünnt und mit aktivierten Beads für 2 h bei 21 °C inkubiert, um Antigene auf der Oberfläche zu immobilisieren. Antigen-gekoppelte Beads wurden zweimal mit 800 µl Waschpuffer (1× PBS + 0,005% (v/v) Triton X-100) gewaschen und schließlich in 1 ml Lagerpuffer (1× PBS + 1% (w/v) BSA + 0,05% (v/v) ProClin) resuspendiert. Die Beads wurden bis zur weiteren Verwendung bei 4 °C gelagert.

Bead-basierter serologischer Multiplex-Assay

Zum Nachweis von humanem IgG, das gegen Nukleokapsidproteine von drei verschiedenen Coronavirus-Spezies (HCoV-229E, HCoV-NL63 und HCoV-OC43) gerichtet ist, wurde ein Bead-basierter Multiplex-Assay durchgeführt. Alle Antigene wurden wie oben beschrieben auf verschiedenen Bead-Populationen immobilisiert. Die einzelnen Bead-Populationen wurden in einem Bead-Mix kombiniert. Insgesamt 25 µl verdünnte Serumprobe wurden zu 25 µl des Bead-Mixes gegeben, was eine endgültige Probenverdünnung von 1:400 ergab, und für 2 h bei 21 °C inkubiert. Ungebundene Antikörper wurden durch dreimaliges Waschen der Beads mit 100 µl Waschpuffer (1× PBS + 0,05% (v/v) Tween20) pro Vertiefung in einem Mikroplattenwaschgerät (Biotek 405TS, Biotek Instruments) entfernt. Gebundene Antikörper wurden durch Inkubation der Beads mit PE-markierten Ziegen-Anti-human-IgG-Detektionsantikörpern (Jackson Dianova) in einer Endkonzentration von 5 µg ml⁻¹ für 45 min bei 21 °C nachgewiesen. Die Messungen wurden mit einem Luminex FlexMap 3D-Gerät unter Verwendung der Luminex xPONENT Software v.4.3 durchgeführt (Probengröße, 80 µl; 100 Ereignisse; Gate, 7.500-15.000; Reporterverstärkung, Standard PMT). Die Datenanalyse wurde anhand der mittleren Fluoreszenzintensität durchgeführt.

Software und statistische Auswertung

Die Populationsabdeckung der HLA-Allotypen wurde mit dem IEDB Population Coverage Tool (www.iedb.org) berechnet. Die durchflusszytometrischen Daten wurden mit FlowJo v.10.0.8 (BD) analysiert. Die Daten werden als Mittelwert mit s.d., Boxplots als Median mit 25. oder 75. Quantil und Min/Max-Whisker dargestellt. Kontinuierliche Daten wurden auf ihre Verteilung getestet und einzelne Gruppen wurden mit einem ungepaarten Student's *t-Test*, Mann-Whitney *U-Test* oder Kruskal-Wallis-Test getestet und wie angegeben für Mehrfachvergleiche korrigiert. Spearman's rho (ρ) wurde für die Korrelation zwischen kontinuierlichen Daten berechnet. Ein logistisches Regressionsmodell wurde zur Berechnung von Odds Ratios und 95%-Konfidenzintervallen verwendet.

Faktoren vor dem Ergebnis und gemessene kontinuierliche Variablen wurden in das Modell einbezogen. Fehlende Daten wurden in Tabellen und in der deskriptiven Analyse berücksichtigt. Diagramme wurden mit GraphPad Prism v.8.4.0 gezeichnet. Statistische Analysen wurden mit der Software GraphPad Prism v.8.4.0 und JMP Pro (SAS Institute, v.14.2) durchgeführt. P-Werte <0,05 wurden als statistisch signifikant angesehen.

Zusammenfassung der Berichte

Weitere Informationen zum Forschungsdesign finden Sie in der mit diesem Artikel verlinkten [Nature Research Reporting Summary](#).

Datenverfügbarkeit

Daten, die sich auf die Ergebnisse dieser Studie beziehen, sind auf Anfrage beim entsprechenden Autor erhältlich. Die [Quelldaten](#) werden mit dieser Arbeit zur Verfügung gestellt.

Referenzen

1. 1.

Seder, R. A., Darrah, P. A. & Roederer, M. T-cell quality in memory and protection: implications for vaccine design. *Nat. Rev. Immunol.* **8**, 247–258 (2008).

[CAS PubMed Google Scholar](#)

2. 2.

Swain, S. L., McKinstry, K. K. & Strutt, T. M. Expanding roles for CD4+ T cells in immunity to viruses. *Nat. Rev. Immunol.* **12**, 136–148 (2012).

[CAS PubMed PubMed Central Google Scholar](#)

3. 3.

Rosendahl Huber, S., van Beek, J., de Jonge, J., Luytjes, W. & van Baarle, D. T cell responses to viral infections-opportunities for peptide vaccination. *Front. Immunol.* **5**, 171 (2014).

[PubMed PubMed Central Google Scholar](#)

4. 4.

Khan, N. et al. T cell recognition patterns of immunodominant cytomegalovirus antigens in primary and persistent infection. *J. Immunol.* **178**, 4455–4465 (2007).

[CAS PubMed Google Scholar](#)

5. 5.

Lübke, M. et al. Identification of HCMV-derived T cell epitopes in seropositiven Individuen durch virale Deletionsmodelle. *J. Exp. Med.* **217**, e20191164 (2020).

[PubMed Google Scholar](#)

6. 6.

Falk, K. et al. Analysis of a naturally occurring HLA class I-restricted viral epitope. *Immunology* **82**, 337-342 (1994).

[CAS PubMed PubMed Central Google Scholar](#)

7. 7.

Einsele, H. et al. Infusion von Cytomegalovirus (CMV)-spezifischen T-Zellen zur Behandlung einer CMV-Infektion, die nicht auf eine antivirale Chemotherapie anspricht. *Blood* **99**, 3916-3922 (2002).

[CAS PubMed Google Scholar](#)

8. 8.

Tan, A. C. et al. The design and proof of concept for a CD8+ T cell-based vaccine inducing cross-subtype protection against influenza A virus. *Immunol. Cell Biol.* **91**, 96-104 (2013).

[CAS PubMed Google Scholar](#)

9. 9.

Mudd, P. A. et al. Vaccine-induced CD8+ T cells control AIDS virus replication. *Nature* **491**, 129-133 (2012).

[CAS PubMed Google Scholar](#)

10.10.

Mo, P. et al. Klinische Merkmale der refraktären COVID-19-Pneumonie in Wuhan, China. *Clin. Infect. Dis.*
<https://doi.org/10.1093/cid/ciaa270> (2020).

11.11.

Khan, S. et al. Emergence of a novel coronavirus, severe acute respiratory syndrome coronavirus 2: biology and therapeutic options. *J. Clin. Microbiol.* <https://doi.org/10.1128/JCM.00187-20> (2020); Erratum <https://doi.org/10.1128/JCM.01297-20> (2020).

12.12.

Zhao, J. et al. Airway memory CD4+ T cells mediate protective immunity against emerging respiratory coronaviruses. *Immunity* **44**, 1379-1391 (2016).

[CAS](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)

13.13.

Zhao, J., Zhao, J. & Perlman, S. T cell responses are required for protection from clinical disease and for virus clearance in severe acute respiratory syndrome coronavirus-infected mice. *J. Virol.* **84**, 9318–9325 (2010).

[CAS](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)

14.14.

Channappanavar, R., Fett, C., Zhao, J., Meyerholz, D. K. & Perlman, S. Virus-spezifische CD8+ T-Gedächtniszellen bieten einen substanziellen Schutz vor einer tödlichen Coronavirus-Infektion des schweren akuten respiratorischen Syndroms. *J. Virol.* **88**, 11034–11044 (2014).

[PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)

15.15.

Ng, O. W. et al. Memory T cell responses targeting the SARS coronavirus persist up to 11 years post-infection. *Vaccine* **34**, 2008-2014 (2016).

[CAS PubMed PubMed Central Google Scholar](#)

16.16.

Liu, L. et al. Anti-Spike-IgG verursacht schwere akute Lungenverletzungen durch Verzerrung der Makrophagenantworten während einer akuten SARS-CoV-Infektion. *JCI Insight* <https://doi.org/10.1172/jci.insight.123158> (2019).

17.17.

Tang, F. et al. Fehlende periphere Gedächtnis-B-Zell-Antworten bei genesenen Patienten mit schwerem akutem respiratorischem Syndrom: eine sechsjährige Nachuntersuchung. *J. Immunol.* **186**, 7264–7268 (2011).

[CAS PubMed Google Scholar](#)

18.18.

Grifoni, A. et al. Targets of T cell responses to SARS-CoV-2 coronavirus in humans with COVID-19 disease and unexposed individuals. *Cell* **181**, 1489-1501 (2020).

[CAS PubMed PubMed Central Google Scholar](#)

19.19.

Braun, J. et al. SARS-CoV-2-reaktive T-Zellen in gesunden Spendern und Patienten mit COVID-19 *Nature* <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2598-9> (2020).

20.20.

Le Bert, N. et al. SARS-CoV-2-spezifische T-Zell-Immunität in Fällen von COVID-19 und SARS und nicht infizierten Kontrollen. *Nature* **584**, 457-462 (2020).

[PubMed](#) [Google Scholar](#)

21.21.

Petrova, G., Ferrante, A. & Gorski, J. Cross-reactivity of T cells and its role in the immune system. *Crit. Rev. Immunol.* **32**, 349–372 (2012).

[CAS](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)

22.22.

Su, L. F., Kidd, B. A., Han, A., Kotzin, J. J. & Davis, M. M. Virus-specific CD4+ memory-phenotype T cells are abundant in unexposed adults. *Immunity* **38**, 373-383 (2013).

[CAS](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)

23.23.

Bui, H. H. et al. Predicting population coverage of T-cell epitope-based diagnostics and vaccines. *BMC Bioinf.* **7**, 153 (2006).

[Google Scholar](#)

24.24.

Vita, R. et al. The immune epitope database (IEDB) 3.0. *Nucleic Acids Res.* **43**, D405-D412 (2014).

[PubMed PubMed Central Google Scholar](#)

25.25.

Wang, C. et al. The establishment of reference sequence for SARS-CoV-2 and variation analysis. *J. Med. Virol.* **92**, 667–674 (2020).

[CAS PubMed Google Scholar](#)

26.26.

Phan, T. Genetic diversity and evolution of SARS-CoV-2. *Infect. Genet. Evol.* **81**, 104260 (2020).

[CAS PubMed PubMed Central Google Scholar](#)

27.27.

Long, Q. X. et al. Antikörperreaktionen auf SARS-CoV-2 bei Patienten mit COVID-19. *Nat. Med.* **26**, 845–848 (2020).

[CAS PubMed Google Scholar](#)

28.28.

Kruttgen, A. et al. Comparison of four new commercial serologic assays for determination of SARS-CoV-2 IgG. *J. Clin. Virol.* **128**, 104394 (2020).

[PubMed PubMed Central Google Scholar](#)

29.29.

Wilkinson, T. M. et al. Präexistierende Influenza-spezifische CD4+ T-Zellen korrelieren mit dem Schutz vor Influenza-Herausforderungen beim Menschen. *Nat. Med.* **18**, 274–280 (2012).

[CAS PubMed Google Scholar](#)

30.30.

Soghoian, D. Z. et al. HIV-spezifische zytolytische CD4+ T-Zell-Reaktionen während der akuten HIV-Infektion sagen den Krankheitsverlauf voraus. *Sci. Transl. Med.* **4**, 123ra125 (2012).

[Google Scholar](#)

31.31.

Vali, B. et al. Characterization of cross-reactive CD8+ T-cell recognition of HLA-A2-restricted HIV-Gag (SLYNTVATL) and HCV-NS5b (ALYDVVSKL) epitopes in individuals infected with human immunodeficiency and hepatitis C viruses. *J. Virol.* **85**, 254–263 (2011).

[CAS PubMed Google Scholar](#)

32.32.

Acierno, P. M. et al. Cross-reactivity between HLA-A2-restricted FLU-M1:58-66 and HIV p17 GAG:77-85 epitopes in HIV-infected and uninfected individuals. *J. Transl. Med.* **1**, 3 (2003).

[PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)

33.33.

Friberg, H. et al. Memory CD8+ T cells from naturally acquired primary dengue virus infection are highly cross-reactive. *Immunol. Cell Biol.* **89**, 122-129 (2011).

[CAS](#) [PubMed](#) [Google Scholar](#)

34.34.

Welsh, R. M., Che, J. W., Brehm, M. A. & Selin, L. K. Heterologe Immunität zwischen Viren. *Immunol. Rev.* **235**, 244-266 (2010).

[CAS](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)

35.35.

Benn, C. S., Netea, M. G., Selin, L. K. & Aaby, P. A small jab-a big effect: nonspecific immunomodulation by vaccines. *Trends Immunol.* **34**, 431-439 (2013).

[CAS](#) [PubMed](#) [Google Scholar](#)

36.36.

Watkin, L. B. et al. Unique influenza A cross-reactive memory CD8+ T-cell receptor repertoire has a potential to protect against EBV seroconversion. *J. Allergy Clin. Immunol.* **140**, 1206–1210 (2017).

[CAS](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)

37.37.

Aslan, N. et al. Severity of acute infectious mononucleosis correlates with cross-reactive influenza CD8+ T-cell receptor repertoires. *MBio* <https://doi.org/10.1128/mBio.01841-17> (2017).

38.38.

Yin, Y. & Mariuzza, R. A. The multiple mechanisms of T cell receptor cross-reactivity. *Immunity* **31**, 849-851 (2009).

[CAS](#) [PubMed](#) [Google Scholar](#)

39.39.

Borbulevych, O. Y. et al. T cell receptor cross-reactivity directed by antigen-dependent tuning of peptide-MHC molecular flexibility. *Immunity* **31**, 885-896 (2009).

[CAS](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)

40.40.

Robert Koch-Institut. *Coronavirus-Erkrankung 2019 (COVID-19) Täglicher Situationsbericht des Robert Koch-Instituts* 29/04/2020 https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Situationsberichte/2020-04-29-en.pdf?__blob=publicationFile (2020).

41.41.

Dong, E., Du, H. & Gardner, L. An interactive web-based dashboard to track COVID-19 in real time. *Lancet Infect. Dis.* **20**, 533–534 (2020).

[CAS](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)

42.42.

Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W. & Lipman, D. J. Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.* **215**, 403-410 (1990).

[CAS](#) [PubMed](#) [Google Scholar](#)

43.43.

Johnson, M. et al. NCBI BLAST: a better web interface. *Nucleic Acids Res.* **36**, W5-W9 (2008).

[CAS](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)

44.44.

Sidhom, J.-W. & Baras, A. S. Analysis of SARS-CoV-2 specific T-cell receptors in ImmuneCode reveals cross-reactivity to immunodominant Influenza M1 epitope. Preprint bei *bioRxiv* <https://doi.org/10.1101/2020.06.20.160499> (2020).

45.45.

Messaoudi, I., Guevara Patino, J. A., Dyall, R., LeMaout, J. & Nikolich-Zugich, J. Direct link between mhc polymorphism, T cell avidity, and diversity in immune defense. *Science* **298**, 1797-1800 (2002).

[CAS PubMed Google Scholar](#)

46.46.

Tan, A. C., La Gruta, N. L., Zeng, W. & Jackson, D. C. Precursor frequency and competition dictate the HLA-A2-restricted CD8+ T cell responses to influenza A infection and vaccination in HLA-A2.1 transgenic mice. *J. Immunol.* **187**, 1895–1902 (2011).

[CAS PubMed Google Scholar](#)

47.47.

Kiepiela, P. et al. CD8+ T-Zell-Antworten auf verschiedene HIV-Proteine haben uneinheitliche Assoziationen mit der viralen Belastung. *Nat. Med.* **13**, 46–53 (2007).

[CAS PubMed Google Scholar](#)

48.48.

Wu, F. et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature* **579**, 265-269 (2020).

[CAS PubMed PubMed Central Google Scholar](#)

49.49.

Hoof, I. et al. NetMHCpan, a method for MHC class I binding prediction beyond humans. *Immunogenetics* **61**, 1 (2009).

[CAS PubMed Google Scholar](#)

50.50.

Nielsen, M. & Andreatta, M. NetMHCpan-3.0: improved prediction of binding to MHC class I molecules integrating information from multiple receptor and peptide length datasets. *Genome Med.* **8**, 33 (2016).

[PubMed PubMed Central Google Scholar](#)

51.51.

Jurtz, V. et al. NetMHCpan-4.0: improved peptide-MHC class I interaction predictions integrating eluted ligand and peptide binding affinity data. *J. Immunol.* **199**, 3360–3368 (2017).

[CAS PubMed PubMed Central Google Scholar](#)

52.52.

Rammensee, H., Bachmann, J., Emmerich, N. P., Bachor, O. A. & Stevanovic, S. SYFPEITHI: database for MHC ligands and peptide motifs. *Immunogenetics* **50**, 213-219 (1999).

[CAS PubMed Google Scholar](#)

53.53.

Schlott, F. et al. Characterization and clinical enrichment of HLA-C*07:02-restricted cytomegalovirus-specific CD8+ T cells. *PLoS ONE* **13**, e0193554 (2018).

[PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)

54.54.

Schmidt, A. H. et al. Estimation of high-resolution HLA-A, -B, -C, -DRB1 allele and haplotype frequencies based on 8,862 German stem cell donors and implications for strategic donor registry planning. *Hum. Immunol.* **70**, 895–902 (2009).

[CAS](#) [PubMed](#) [Google Scholar](#)

[Referenzen herunterladen](#)

Danksagung

Wir danken allen SARS- und PRE-Spendern für ihre Unterstützung unserer Forschung. Wir danken U. Schmidt, C. Bauer, A. Petz, M. Storz, I. Riedlinger, S. Sauter, S. Augstein, C. Reiß, V. Agrusa, S. Dethling, M. Beller und C. Falkenburger für technische Unterstützung und Projektkoordination. Diese Arbeit wurde unterstützt durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung (FKZ:01KI20130; J.W.), die Deutsche Forschungsgemeinschaft (Förderung WA 4608/1-2; J.W.), die Deutsche Forschungsgemeinschaft im Rahmen der Exzellenzstrategie (Förderung EXC2180-390900677; J.W., S.S., H.-G.R., C.G. und H.R.S.), das Deutsche Krebskonsortium (S.S., H.-G.R., C.G. und H.R.S.), die Wilhelm Sander Stiftung (Grant 2016.177.2; J.W.), die José Carreras Leukämie-Stiftung (Grant DJCLS 05R/2017; J.W.) und das Fortüne-Programm der Universität Tübingen (Fortüne Nr. 2451-0-0 und 2581-0-0; J.W. und M.R.). Der Multiplex-Antikörpernachweis gegen Erkältungs-Coronaviren ist Teil eines Projekts, das durch das Forschungs- und Innovationsprogramm Horizon 2020 der Europäischen Union unter der Fördervereinbarung Nr. 101003480 - CORESMA (G.K. und M.S.) gefördert wurde.

Informationen zum Autor

Anmerkungen des Autors

1. Diese Autoren haben gleichermaßen beigetragen: Annika Nelde, Tatjana Bilich, Jonas S. Heitmann.

Zugehörigkeiten

- 1. Klinische Kooperationseinheit Translationale Immunologie, Deutsches Krebskonsortium (DKTK), Abteilung für Innere Medizin, Universitätsklinikum Tübingen, Tübingen, Deutschland**
Annika Nelde, Tatjana Bilich, Jonas S. Heitmann, Yacine Maringer, Helmut R. Salih, Jens Bauer, Jonas Rieth, Marcel Wacker, Lena-Christin Gruber, David Rachfalski, Ilona Hagelstein, Melanie Märklin & Juliane S. Walz
- 2. Institut für Zellbiologie, Abteilung für Immunologie, Universität Tübingen, Tübingen, Deutschland**
Annika Nelde, Tatjana Bilich, Yacine Maringer, Malte Roerden, Maren Lübke, Jens Bauer, Jonas Rieth, Marcel Wacker, Michael Fehr, Cécile Gouttefangéas, Stefan Stevanović, Hans-Georg Rammensee & Juliane S. Walz
- 3. Exzellenzcluster iFIT (EXC2180) 'Bildgeführte und funktionell angeleitete Tumortherapien', Universität Tübingen, Tübingen, Deutschland**
Annika Nelde, Tatjana Bilich, Jonas S. Heitmann, Yacine Maringer, Helmut R. Salih, Malte Roerden, Armin Rabsteyn, Ilona Hagelstein, Melanie Märklin, Cécile Gouttefangéas, Hans-Georg Rammensee & Juliane S. Walz
- 4. Deutsches Krebskonsortium (DKTK) und Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ), Partnerstandort Tübingen, Tübingen, Deutschland**
Helmut R. Salih, Cécile Gouttefangéas, Stefan Stevanović & Hans-Georg Rammensee
- 5. Abteilung für Hämatologie, Onkologie, Klinische Immunologie und Rheumatologie, Universitätsklinikum Tübingen, Tübingen, Deutschland**
Malte Roerden, Beate Preuß & Reinhild Klein
- 6. Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie, Abteilung für Diagnostische Laboratoriumsmedizin, Universitätsklinikum Tübingen, Tübingen, Deutschland**
Andreas Peter & Sebastian Hörber
- 7. NMI, Naturwissenschaftliches und Medizinisches Institut an der Universität Tübingen, Reutlingen, Deutschland**
Bjoern Traenkle, Philipp D. Kaiser, Ulrich Rothbauer, Matthias Becker, Daniel Junker, Nicole Schneiderhan-Marra, Markus F. Templin & Thomas O. Joos

- 8. Pharmazeutische Biotechnologie, Universität Tübingen, Tübingen, Deutschland**
Ulrich Rothbauer
- 9. Abteilung für Epidemiologie, Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung, Braunschweig, Deutschland**
Gérard Krause & Monika Strengert
- 10. TWINCORE GmbH, Zentrum für Experimentelle und Klinische Infektionsforschung, ein Gemeinschaftsunternehmen der Medizinischen Hochschule Hannover und des Helmholtz-Zentrums für Infektionsforschung, Hannover, Deutschland**
Gérard Krause & Monika Strengert
- 11. Deutsches Zentrum für Infektionsforschung, Braunschweig, Deutschland**
Gérard Krause
- 12. Immatics Biotechnologies GmbH, Tübingen, Deutschland**
Daniel J. Kowalewski & Vlatka Stos-Zweifel
- 13. Abteilung für Allgemeine Pädiatrie, Onkologie/Hämatologie, Universitätskinderklinik Tübingen, Tübingen, Deutschland**
Armin Rabsteyn
- 14. Abteilung für Anästhesie und Intensivmedizin, Universitätsklinikum Tübingen, Tübingen, Deutschland**
Valbona Mirakaj
- 15. Abteilung für Onkologie und Hämatologie, Krankenhaus Nordwest, Frankfurt, Deutschland**
Julia Karbach & Elke Jäger
- 16. Angewandte Bioinformatik, Zentrum für Bioinformatik und Department für Informatik, Universität Tübingen, Tübingen, Deutschland**
Michael Graf & Oliver Kohlbacher

17. Institut für Klinische und Experimentelle Transfusionsmedizin, Universitätsklinikum Tübingen, Tübingen, Deutschland

Tamam Bakchoul

18. Institut für Bioinformatik und Medizinische Informatik, Universität Tübingen, Tübingen, Deutschland

Oliver Kohlbacher

19. Biomolekulare Wechselwirkungen, Max-Planck-Institut für Entwicklungsbiologie, Tübingen, Deutschland

Oliver Kohlbacher

20. Institut für Translationale Bioinformatik, Universitätsklinikum Tübingen, Tübingen, Deutschland

Oliver Kohlbacher

Autoren

1. **Annika Nelde**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

2. **Tatjana Bilich**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

3. **Jonas S. Heitmann**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

4. **Yacine Maringer**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

5. **Helmut R. Salih**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

5. **Malte Roerden**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

7. **Maren Lübke**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

3. **Jens Bauer**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

3. **Jonas Rieth**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

10. **Marcel Wacker**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

11. **Andreas Peter**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

12. **Sebastian Hörber**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

13. **Bjoern Traenkle**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

14. **Philipp D. Kaiser**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

15. **Ulrich Rothbauer**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

16. **Matthias Becker**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

17. **Daniel Junker**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

18. **Gérard Krause**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

19. **Monika Strengert**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

20. **Nicole Schneiderhan-Marra**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

21. **Markus F. Templin**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

22. **Thomas O. Joos**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

23. **Daniel J. Kowalewski**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

24. **Vlatka Stos-Zweifel**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

25. **Michael Fehr**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

26. **Armin Rabsteyn**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

27. **Valbona Mirakaj**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

28. **Julia Karbach**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

29. **Elke Jäger**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

30. **Michael Graf**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

31. **Lena-Christin Gruber**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

32. **David Rachfalski**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

33. **Beate Preuß**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

34. **Ilona Hagelstein**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

35. **Melanie Märklin**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

36. **Tamam Bakchoul**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

37. **Cécile Gouttefangeas**

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

38. Oliver Kohlbacher

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

39. Reinhild Klein

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

40. Stefan Stevanović

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

41. Hans-Georg Rammensee

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen

42. Juliane S. Walz

[Publikationen des Autors anzeigen](#)

Sie können auch nach diesem Autor inPubMedGoogle [Scholar](#) suchen
Beiträge

A.N., H.-G.R., S.S., C.G. und J.S.-W. entwarfen die Studie; A.N., S.S. und J.S.-W. führten die In-silico-Vorhersage und die Auswahl der Kandidatenpeptide durch; T. Bilich, Y.M., M.L, A.N., J.B., J.R., M.W., M.F., I.H. und M.M. führten In-vitro-T-Zellexperimente durch. B.P.,

R.K., D.J.K. und V.S.-Z. führten HLA-Allotyp-Analysen durch. B.T., P.D.K. und U.R. generierten Expressionsplasmide und reinigten Proteine für den serologischen Multiplex-Luminex-Assay, der von M.B., D.J., G.K., M.S., N.S.-M. entwickelt und durchgeführt wurde, M.F.T. und T.O.J. SARS-CoV-2 IgG wurde von S.H. und A.P. nachgewiesen. J.S.H., M.R., A.R., V.M., J.K., E.J., T. Bakchoul, L.-C.G., D.R., H.R.S. und J.S.W. führten die Patientendaten und die Probensammlung sowie die medizinische Auswertung und Analyse durch. A.N., T. Bilich, J.S.H., M.G., O.K. und J.S.W. analysierten die Daten und führten statistische Analysen durch. A.N., T. Bilich, J.S.H., H.R.S. und J.S.W. verfassten das Manuskript. H.-G.R., S.S. und J.S.W. überwachten die Studie.

Korrespondierender Autor

Korrespondenz an [Juliane S. Walz](#).

Ethik-Erklärungen

Konkurrierende Interessen

D.J.K. und V.S.-Z. sind Mitarbeiter der Immatix Biotechnologies GmbH. H.-G.R. ist Gesellschafter der Immatix Biotechnologies GmbH und der Curevac AG. A.N., T. Bilich, H.-G.R. und J.S.W. halten Patente auf die in diesem Manuskript beschriebenen Peptide, die unter den Nummern 20_169_047.6 und 20_190_070.1 gesichert sind. Die anderen Autoren erklären, dass sie keine konkurrierenden Interessen haben.

Zusätzliche Informationen

Informationen zur Peer-Review Die Berichte der Peer-Reviewer sind verfügbar. Jamie Wilson war der primäre Redakteur für diesen Artikel und leitete den Redaktionsprozess und die Peer-Review in Zusammenarbeit mit dem restlichen Redaktionsteam.

Hinweis des Herausgebers Springer Nature bleibt neutral in Bezug auf Rechtsansprüche in veröffentlichten Karten und institutionelle Zugehörigkeiten.

Erweiterte Daten

[Erweiterte Daten Abb. 1 Vorhersage von SARS-CoV-2-abgeleiteten HLA-Klasse-I-bindenden Peptiden.](#)

a, Übersicht über die Aminosäurelängen der SARS-CoV-2-ORFs, die Gesamtzahl der 9-12 Aminosäuren langen Peptide und die Anzahl der vorhergesagten HLA-Klasse-I-Bindungspeptide. aa, Aminosäure; spi, Spike-Protein; env, Hüllprotein; mem,

Membranprotein; nuc, Nukleokapsidprotein. **b**, Anzahl der vorhergesagten HLA-Klasse-I-Bindungspeptide für jeden HLA-Klasse-I-Allotyp. **c**, HLA-Klasse-I-Allotyp-Populationsabdeckung, die mit der Auswahl der HLA-Klasse-I-Allotypen im Vergleich zur Weltbevölkerung erreicht wurde. Die Häufigkeiten der Individuen innerhalb der Weltbevölkerung, die bis zu fünf HLA-Allotypen tragen (x-Achse), sind als graue Balken auf der linken y-Achse angegeben. Der kumulative Prozentsatz der Bevölkerungsabdeckung ist als schwarze Punkte auf der rechten y-Achse dargestellt. **d**, Verteilung der verschiedenen HLA-Klasse I-restringierten Peptide innerhalb der SARS-CoV-2 ORFs. Jede Farbe steht für einen bestimmten HLA-Klasse-I-Allotyp. **e-m**, Verteilung der HLA-Klasse-I-bindenden Peptide innerhalb der verschiedenen SARS-CoV-2-ORFs. Ketten (grau) und Domänen (rot) von ORF1 und ORF2 sind angezeigt. Jede Farbe steht für einen bestimmten HLA-Klasse-I-Allotyp. nsp, Nicht-Strukturprotein; p, Proteinase; poly., Polymerase; heli., Helikase; G-tra., Guanin-N7-Methyltransferase; endo., Endoribonuklease; O-tra., 2'-O-Methyltransferase; sig. pep., Signalpeptid; RBD, Rezeptorbindungsdomäne. [Quelle Daten](#)

[Erweiterte Daten Abb. 2 Vorhersage von SARS-CoV-2-abgeleiteten HLA-DR-bindenden Peptiden und ORF-Abdeckung mit vorhergesagten HLA-Klasse I- und HLA-DR-bindenden Peptiden.](#)

a, HLA-DR-Allotyp-Populationsabdeckung, die mit der Auswahl der HLA-DR-Allotypen im Vergleich zur Weltbevölkerung erreicht wurde. Die Häufigkeiten der Individuen innerhalb der Weltbevölkerung, die bis zu zwei HLA-DR-Allotypen tragen (x-Achse), sind als graue Balken auf der linken y-Achse dargestellt. Der kumulative Prozentsatz der Bevölkerungsabdeckung ist als schwarze Punkte auf der rechten y-Achse dargestellt. **b**, Anzahl der vorhergesagten HLA-DR-bindenden Peptide für jeden HLA-DR-Allotyp, die mit den ausgewählten Peptidclustern abgedeckt sind. Jede Farbe steht für einen bestimmten HLA-DR-Allotyp. spi, Spike-Protein; env, Hüllprotein; mem, Membranprotein; nuc, Nukleokapsidprotein. **c-k**, Verteilung der Peptidcluster, die für das Immunogenitätsscreening innerhalb der verschiedenen SARS-CoV-2-ORFs ausgewählt wurden. Ketten (grau) und Domänen (rot) von ORF1 und ORF2 sind angegeben. Jede Farbe steht für einen bestimmten HLA-DR-Allotyp. nsp, Nicht-Strukturprotein; p, Proteinase; poly., Polymerase; heli., Helikase; G-tra., Guanin-N7-Methyltransferase; endo., Endoribonuklease; O-tra., 2'-O-Methyltransferase; sig. pep., Signalpeptid; RBD, Rezeptorbindungsdomäne. **l**, Proteinabdeckung des gesamten SARS-CoV-2-Proteoms und einzelner SARS-CoV-2-ORFs mit ausgewählten HLA-Klasse I- und HLA-DR-bindenden Peptiden (linke y-Achse). Die gestreiften Balken zeigen den Anteil der einzelnen ORF-Proteinlängen am gesamten SARS-CoV-2-Proteom (rechte y-Achse). Die Proteinabdeckung von HLA-DR-abgeleiteten Peptiden für ORF1 (markiert mit #) beträgt 0,3%. [Quelle Daten](#)

[Erweiterte Daten Abb. 3 Ex vivo T-Zell-Antworten auf SARS-CoV-2-abgeleitete HLA Klasse I und HLA-DR T-Zell-Epitop-Zusammensetzungen bei SARS-CoV-2 Rekonvaleszenten und hospitalisierten COVID-19 Patienten.](#)

a,b, Ex-vivo-Erkennungshäufigkeit (Spender mit T-Zell-Antworten/getestete Spender) von **(a)** kreuzreaktiven und **(b)** SARS-CoV-2-spezifischen ECs durch nicht-expandede T-Zellen von SARS-Spendern ($n = 47$) der Gruppe 2, analysiert mittels ex vivo IFN- γ ELISPOT-Assay. Rote Balken zeigen die Erkennungshäufigkeit in Ex-vivo-Analysen, während die weißen Balken die Häufigkeit nach einer 12-d-Vorstimulation angeben. **c-f**, Intensität der T-Zell-Antworten in Form von berechneten Spot-Zahlen gegen die **(c,d)** kreuzreaktiven und **(e,f)** SARS-CoV-2-spezifischen **(c,e)** HLA-Klasse-I- bzw. **(d, f)** HLA-DR-ECs, direkt ex vivo und nach einer 12-d-Expansion in Proben von SARS-Rekonvaleszenten ($n = 47$). Jeder Spot repräsentiert einen einzelnen Spender, gepaarte Proben sind durch durchgehende Linien verbunden, zweiseitiger Wilcoxon-Test. Nur positive Spender sind abgebildet. T-Zell-Antworten wurden als positiv angesehen, wenn die mittleren Spot-Zahlen mindestens dreifach höher waren als die der negativen Kontrolle. **g**, Merkmale der hospitalisierten Spender ($n = 21$), die im ex vivo IFN- γ -ELISPOT-Assay analysiert wurden. ECMO, extrakorporale Membranoxygenierung; n , Anzahl; n.a., nicht verfügbar. **h**, Ex-vivo-Erkennungshäufigkeit (Spender mit T-Zell-Antworten/getestete Spender) von SARS-Spendern der Gruppe 2 im Vergleich zu hospitalisierten Spendern, die im Ex-vivo-IFN- γ -ELISPOT-Assay analysiert wurden. [Quelle Daten](#)

Erweiterte Daten Abb. 4 Korrelation der Antikörperantwort mit der gemessenen T-Zell-Intensität.

a,b, Korrelationsanalyse der IgG-Serum-ELISA-Verhältnisse (EUROIMMUN) zu SARS-CoV-2 und der berechneten Spot-Zahlen, die in IFN- γ -ELISPOT-Assays nach einer 12-tägigen In-vitro-Vorstimulation für HLA-Klasse I-restringierte **(a)** SARS-CoV-2-spezifische ($n = 68$) und **(b)** kreuzreaktive ($n = 51$) ECs in SARS-Gruppe 2 ermittelt wurden (gestrichelte Linien: 95% Konfidenzniveau, Spearman's rho (ρ) und P-Wert). **c-h**, Korrelationsanalyse von IgG (MFI-Signale) gegen Nukleokapsidprotein von drei Erkältungs-Coronaviren (HCoV-OC43, HCoV-229E, HCoV-NL63) und berechnete Spot-Zahlen, die in IFN- γ -ELISPOT-Assays nach einer 12-tägigen In-vitro-Vorstimulation für **(c-e)** HLA-Klasse I ($n = 51$) und **(f-h)** HLA-DR ($n = 86$) kreuzreaktive ECs in SARS-Gruppe 2 bewertet wurden (gestrichelte Linien: 95% Konfidenzniveau, Spearman's rho (ρ) und P-Wert). MFI, mittlere Fluoreszenzintensität. [Quelle Daten](#)

Erweiterte Daten Abb. 5 Prädiktoren der Symptomschwere in der Patientensammlung.

a,b, Odds Ratios (ORs) für Alter, Geschlecht, Body-Mass-Index (BMI)-Gruppen, IgG-Antikörper-Reaktionen (EUROIMMUN) und **(a)** Intensität der T-Zell-Reaktionen auf HLA-Klasse I und HLA-DR SARS-CoV-2-spezifische ECs bzw. **(b)** Erkennungsrate basierend auf einem adjustierten Modell der Prädiktoren für niedrigen bzw. hohen Symptomscore (SC) bei SARS-Spendern der Gruppe **(a)** 2 bzw. **(b)** 1. * adjustierte OR pro Einheitsanstieg der kontinuierlichen Variable.

Erweiterte Daten Abb. 6

SARS-CoV-2-spezifische und kreuzreaktive HLA-Klasse I und HLA-DR T-Zell-Epitop-Zusammensetzungen.

Ergänzende Informationen

[Ergänzende Informationen](#)

Ergänzende Abb. 1-5 und ergänzende Tabellen 1-14.

[Zusammenfassung der Berichte](#)

[Informationen zur Peer Review](#)

[Ergänzende Daten 1](#)

Physiochemische Eigenschaften von SARS-CoV-2 T-Zell-Epitopen im Vergleich zu humanen Erkältungscoronaviren. Dieser Datensatz enthält physiochemische Eigenschaften von SARS-CoV-2-abgeleiteten kreuzreaktiven HLA-Klasse-I- und HLA-DR-T-Zellepitopen im Vergleich zu vier humanen Erkältungscoronaviren (HCoV-OC43, HCoV-229E, HCoV-NL63 und HCoV-HKU1).

[Ergänzende Daten 2](#)

Quelldaten Ergänzende Abb. 2.

[Ergänzende Daten 3](#)

Quelldaten Ergänzende Abb. 3.

[Ergänzende Daten 4](#)

Quelldaten Ergänzende Abb. 4.

Quelldaten

[Quelldaten Abb. 1](#)

Statistische Quelldaten

[Quelldaten Abb. 2](#)

Statistische Quelldaten

[Quelldaten Abb. 3](#)

Statistische Quelldaten

[Quelldaten Abb. 4](#)

Statistische Quelldaten

[Quelldaten Abb. 5](#)

Statistische Quelldaten

[Quelldaten Abb. 6](#)

Statistische Quelldaten

[Quelldaten Erweiterte Daten Abb. 1](#)

Statistische Quelldaten

[Quelldaten Erweiterte Daten Abb. 2](#)

Statistische Quelldaten

[Quelldaten Erweiterte Daten Abb. 3](#)

Statistische Quelldaten

[Quelldaten Erweiterte Daten Abb. 4](#)

Statistische Quelldaten

Rechte und Genehmigungen

[Nachdrucke und Genehmigungen](#)

Über diesen Artikel

Diesen Artikel zitieren

Nelde, A., Bilich, T., Heitmann, J.S. *et al.* SARS-CoV-2-derived peptides define heterologous and COVID-19-induced T cell recognition. *Nat Immunol* **22**, 74-85 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41590-020-00808-x>

[Zitate herunterladen](#)

- Empfangen 10 Juni 2020
- Angenommen 11 September 2020

- Veröffentlicht 30. September 2020
- Ausgabedatum Januar 2021
- DOI <https://doi.org/10.1038/s41590-020-00808-x>

Weitere Lektüre

-
- [Die meisten japanischen Individuen sind genetisch prädisponiert, ein immunogenes Proteinfragment zu erkennen, das COVID-19 und Erkältungs-Coronaviren gemeinsam haben](#)
 - Johannes M. Dijkstra
 - , Aaron P. Frenette
 - & Brian Dixon
-

F1000Forschung (2021)

- [SARS-CoV-2 genomweite T-Zell-Epitopkartierung zeigt Immundominanz und erhebliche CD8+ T-Zellaktivierung bei COVID-19-Patienten](#)
 - Sunil Kumar Saini
 - , Ditte Stampe Hersby
 - , Tripti Tamhane
 - , Helle Rus Povlsen
 - , Susana Patricia Amaya Hernandez
 - , Morten Nielsen
 - , Anne Ortved Gang
 - & Sinus Reker Hadrup
-

Wissenschaft Immunologie (2021)

- [Multiplexe Serum-Antikörper-Screening-Plattform unter Verwendung von Virus-Extrakten aus endemischen Coronaviridae und SARS-CoV-2](#)
 - Simon Fink
 - , Felix Ruoff
 - , Aaron Stahl
 - , Matthias Becker
-

- › , Philipp Kaiser
 - › , Bjoern Traenkle
 - › , Daniel Junker
 - › , Frank Weise
 - › , Natalia Ruetalo
 - › , Sebastian Hörber
 - › , Andreas Peter
 - › , Annika Nelde
 - › , Juliane Walz
 - › , Gérard Krause
 - › , Armin Baillot
 - › , Katja Schenke-Layland
 - › , Thomas O. Joos
 - › , Ulrich Rothbauer
 - › , Nicole Schneiderhan-Marra
 - › , Michael Schindler
 - › & Markus F. Templin
-

ACS Infektionskrankheiten (2021)

- [Die dichotome und unvollständige adaptive Immunität bei COVID-19-Patienten mit unterschiedlichem Krankheitsschweregrad](#)
 - › Leiqiong Gao
 - › , Jing Zhou
 - › , Sen Yang
 - › , Lisha Wang
 - › , Xiangyu Chen
 - › , Yang Yang
 - › , Ren Li
 - › , Zhiwei Pan
 - › , Jing Zhao
-

- › , Zhirong Li
 - › , Qizhao Huang
 - › , Jianfang Tang
 - › , Li Hu
 - › , Pinghuang Liu
 - › , Guozhong Zhang
 - › , Yaokai Chen
 - › & Lilin Ye
-

Signaltransduktion und zielgerichtete Therapie (2021)

- [Einhundertdreiunddreißig beobachtete COVID-19-Todesfälle in 10 Monaten: Auspacken einer niedrigeren Sterblichkeit als vorhergesagt in Ruanda](#)
- › Clarissa Musanabaganwa
- › , Vincent Cubaka
- › , Etienne Mpabuka
- › , Muhammed Semakula
- › , Ernest Nahayo
- › , Bethany L Hedt-Gauthier
- › , Kamela C S Ng
- › , Megan B Murray
- › , Fredrick Kateera
- › , Leon Mutesa
- › & Sabin Nsanzimana

BMJ Global Health (2021)

[PDF herunterladen](#)

Assoziierter Inhalt

Fokus

[Umgang mit COVID](#)

[Das Innen und Außen von SARS-CoV-2-spezifischen T-Zellen entschlüsseln](#)

- › André Perez-Potti
- › Joshua Lange
- › Marcus Buggert

Nature Immunology **Nachrichten & Ansichten 26** Nov 2020

Inhalt erkunden

- › [Forschungsartikel](#)
- › [Bewertungen & Analysen](#)
- › [Nachrichten & Kommentar](#)
- › [Videos](#)
- › [Aktuelle Ausgabe](#)
- › [Sammlungen](#)
- › [Folgen Sie uns auf Twitter](#)

Journal Informationen

- › [Über das Journal](#)
- › [Web-Feeds](#)
- › [Plakate](#)
- › [Redaktionelle Richtlinien](#)

Mit uns veröffentlichen

- › [Für Autoren](#)

[Für Prüfer](#)

[Manuskript einreichen](#)

Artikel nach Thema, Stichwort oder Autor suchen

Ergebnisse anzeigen von

All journals

Suche

[Erweiterte Suche](#)

Schnelle Links

[Artikel nach Thema erkunden](#)

[Einen Job finden](#)

[Leitfaden für Autoren](#)

[Redaktionelle Richtlinien](#)

Nature Immunology ISSN 1529-2916 (online)

[Über uns](#)

[Presseberichte](#)

[Pressestelle](#)

[Kontakt](#)

Inhalt entdecken

[Fachzeitschriften A-Z](#)

[Artikel nach Thema](#)

[Nano](#)

[Protokollaustausch](#)

[Natur-Index](#)

Veröffentlichungsrichtlinien

[Naturportfolio-Richtlinien](#)

[Offener Zugang](#)

Autor & Rechercheur Dienstleistungen

[Nachdrucke & Genehmigungen](#)

[Forschungsdaten](#)

[Sprachbearbeitung](#)

[Wissenschaftliche Bearbeitung](#)

[Natur-Masterclasses](#)

[Naturforschung Akademien](#)

Bibliotheken & Institutionen

[Bibliotheksservice & Tools](#)

[Bibliothekar-Portal](#)

[Offene Forschung](#)

[An die Bibliothek weiterempfehlen](#)

Werbung & Partnerschaften

- [Werbung](#)
- [Partnerschaften & Dienstleistungen](#)
- [Medienkits](#)
- [Gebrandeter Inhalt](#)

Berufliche Entwicklung

- [Natur-Karrieren](#)
- [Natur Konferenzen](#)
- [Natur-Ereignisse](#)

Regionale Websites

- [Natur Afrika](#)
- [Natur China](#)
- [Natur Indien](#)
- [Natur Italien](#)
- [Natur Japan](#)
- [Natur Korea](#)
- [Natur Naher Osten](#)

Rechtliches & Datenschutz

- [Datenschutzrichtlinie](#)
- [Verwendung von Cookies](#)
- [Cookies verwalten/Meine Daten nicht verkaufen](#)
- [Rechtlicher Hinweis](#)
- [Zugänglichkeitserklärung](#)
- [Bedingungen und Konditionen](#)
- [Kalifornische Datenschutzbestimmungen](#)