

# Muster eines Forschungs- antrages



[www.acad-write.com/leistungen/forschungsantrag/](http://www.acad-write.com/leistungen/forschungsantrag/)

[www.acad-write.com/leistungen/veroeffentlichung/](http://www.acad-write.com/leistungen/veroeffentlichung/)

[www.acad-write.com/aerzte/](http://www.acad-write.com/aerzte/)

[www.acad-write.com/fachbereiche/medizin/](http://www.acad-write.com/fachbereiche/medizin/)

**ACAD Forschungsantragsbeispiel**  
**Emmy Noether-Programm der DFG**

**(6-Jahres-Programm für Nachwuchsforscher, die sich habilitieren  
wollen)**



## **Warum verläuft eine Sars-CoV-2 Infektion bei Kindern milder?**



# 1 Stand der Forschung und eigene Vorarbeiten

## 1.1 Stand der Forschung

Viele virale Infektionen, so auch die saisonale Virusgrippe, zeigen eine U-förmige altersabhängige Mortalitätskurve, wobei sowohl die jüngsten als auch die ältesten Patienten das höchste Risiko haben, schwere Komplikationen zu entwickeln oder zu sterben (Abbildung 1, blaue Kurve). Diese U-förmige Kurve ist darauf zurückzuführen, dass bei Kindern, besonders sehr jungen Kindern unter einem Alter von 5 Jahren, das Immunsystem nur unvollständig ausgereift ist und diese jungen Patienten daher gegenüber Infektionskrankheiten empfindlicher sind. Im Alter lässt die Funktion des Immunsystems wiederum durch altersbedingte Veränderungen nach, was diese Patienten ebenfalls empfindlicher gegenüber Infektionskrankheiten macht [1].

Zu dieser Regel gibt es aber immer wieder Ausnahmen. Insbesondere die H1N1-Pandemie der Jahre 1918/1919, die sogenannte Spanische Grippe, zeigte eine andere altersabhängige Mortalitätskurve, die eher einem W entsprach, mit einer höher als normalen Mortalität bei jungen Patienten im Alter zwischen 20 und 40 Jahren (Abbildung 1, rote Kurve). Die Mortalität von älteren Patienten war dagegen niedriger als bei anderen Grippewellen [2]. Auch bei der H1N1-Pandemie des Jahres 2009 war bei insgesamt niedrigerer Letalität, zumindest in den USA, eine relativ höhere Mortalität bei jüngeren Patienten zu verzeichnen [3]. Die Gründe für dieses ungewöhnliche Verhalten sind vielfältig und bis heute, trotz der Sequenzierung des kompletten Genoms des Virusstamms der Spanischen Grippe, nicht vollständig verstanden [4].



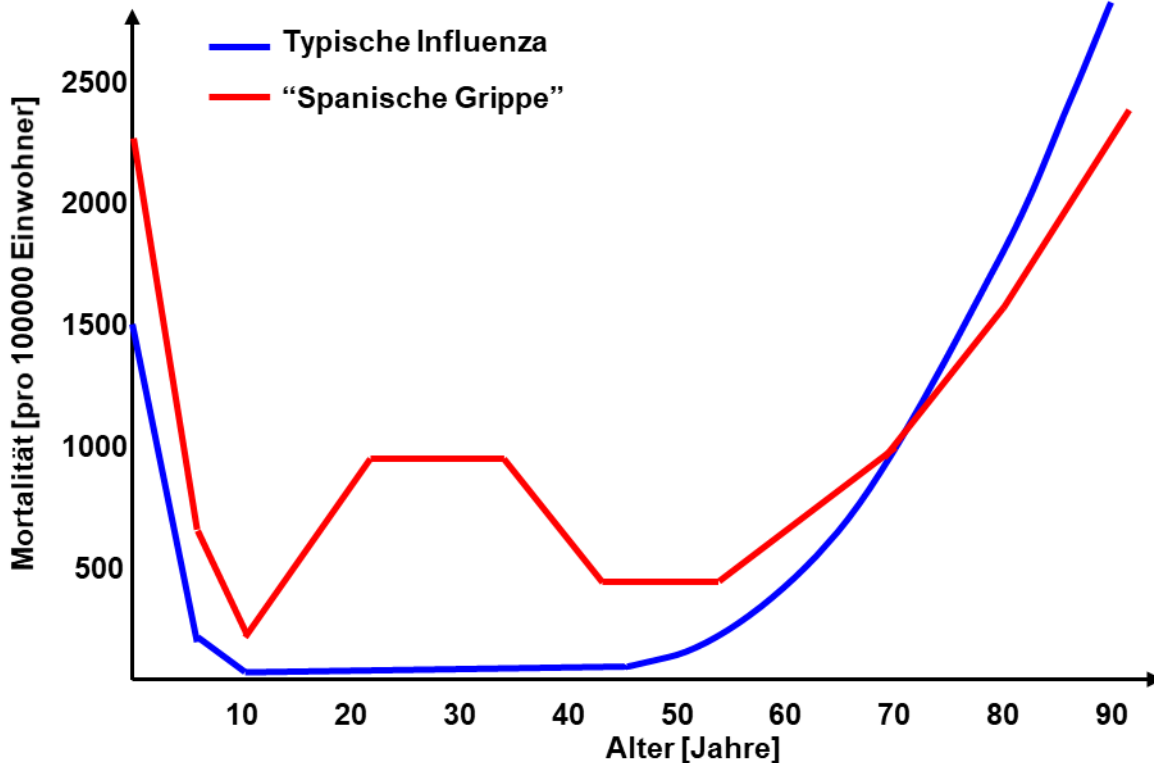


Abbildung 1: Altersabhängige Influenza-Mortalität in Kanada in der zweiten Hälfte des zwanzigsten Jahrhunderts (blaue Kurve) im Vergleich zur Mortalität der Spanischen Grippe in den Jahren 1918/1919 (rote Kurve, eigene Darstellung mit Daten von [1–3])

Die insgesamt hohe Letalität des H1N1-Stamms von 1918 kann nicht vollständig durch den ersten Weltkrieg bedingte soziale Faktoren wie Unterernährung und erhöhte Mobilität von besonders jungen Erwachsenen (Soldaten) erklärt werden und die Gründe hierfür sind noch immer nicht bekannt [5]. Es wird jedoch vermutet, dass die relativ geringer als übliche Mortalität älterer Patienten bei der Spanischen Grippe auf eine partielle Immunität durch Exposition gegenüber immunologisch ähnlichen Grippeviren in früheren Grippe-Pandemien, z. B. der Pandemie des Jahres 1889, zurückzuführen ist [2]. Die ungewöhnlich hohe Mortalität bei Patienten im jungen Erwachsenenalter beruht dagegen wahrscheinlich zum einen auf dem Fehlen von schützenden kreuzreaktiven Antikörpern gegen diesen vollständig neuartigen Virusstamm und zum anderen auf einer überschießenden, inflammatorischen Immunreaktion dieser Patienten, dem sogenannten Cytokine-Sturm, bei dem letztendlich das Immunsystem der Patienten zu einem Großteil der Pathologie beitrug, der die Patienten erlagen [6].

Ein vom Immunsystem ausgehender pathologischer Cytokine-Sturm, der zur Morbidität und Mortalität von Virus-Infektionen beiträgt, ist besonders bei respiratorischen Infektionen wie H1N1- oder H5N1-Influenza, Severe Acute Respiratory Syndrom (SARS) Corona-Virus (CoV), und Hantavirus ein großes Problem [7]. Er zeichnet sich durch das vermehrte Vorkommen von T-Helferzeller (TH1 und TH17) und inflammatorischen Zytokinen wie Interleukin (IL)-1, IL-6, Tumornekrosefaktor (TNF) alpha und Interferon gamma (INFg) aus [7–12]. Genetische Wirtsfaktoren spielen wahrscheinlich eine wichtige Rolle bei der Ausprägung dieser pathologischen Immunantwort und erklären, warum manche ansonsten gesunde junge Erwachsene an einer solchen Viruserkrankung sterben, während andere lediglich milde Symptome entwickelt und nach einer oder zwei Wochen die Erkrankung unbeschadet überstanden haben. Ein besseres Verständnis dieses komplizierten Zusammenspiels von Virus und Wirtsimmunsystem kann zu besseren Behandlungsmethoden führen, die den Cytokine-Sturm eindämmen, ohne dabei die antivirale protektive Immunantwort zu unterbinden.

Das neuartige SARS-CoV2, das 2019 erstmals in der der Millionenstadt Wuhan in China auftrat, ist der Erreger der respiratorischen Erkrankung Corona Virus Disease-19 (COVID-19), die sich inzwischen zu einer Pandemie entwickelt hat [13]. COVID-19 zeigt, soweit bisher bekannt, ebenfalls eine ungewöhnliche altersabhängige Mortalität. Eine Studie der ersten 72314 Fälle in China, von denen 44672 mittels RT-PCR als eindeutige SARS-CoV2-Infektionen bestätigt werden konnten, zeigte eine Gesamtfallmortalitätsrate von 2,3 % [14]. Die Mortalität war jedoch im Gegensatz zu der sonst häufigen U-förmigen Kurve bei viralen Infekten bei den jüngsten Patienten am niedrigsten und stieg mit dem Alter stetig an (Abbildung 2). In dieser Hinsicht ähnelt der altersabhängige Verlauf typischen viralen Kinderkrankheiten wie Windpocken, Mumps, Masern und Röteln, bei denen im Vergleich zu Erwachsenen ebenfalls geringere Komplikationsraten und in der Regel mildere Krankheitsverläufe bei Kindern auftreten [15]. Die Ursache hierfür ist bisher nicht geklärt, es gibt jedoch Spekulationen, dass das kindliche Immunsystem, das mehr von der angeborenen Immunantwort und weniger vom bei Erwachsenen dominanten adaptiven, Antikörper-dominierten Immunsystem geprägt ist, bei diesen viralen Infekten einen Vorteil hat [16]. Antikörper-abhängige Verstärkung der Infektivität des Virus ist ein weiterer Mechanismus, der einen schwereren Krankheitsverlauf bei Erwachsenen im Vergleich zu Kindern erklären kann. Dabei binden nicht-neutralisierende, durch eine frühere Infektion mit einem immunologisch verwandten Virus präexistierende, oder kreuzreagierende Antikörper, die ursprünglich gegen ein

anderes Antigen geformt wurden, an das Virus, können es aber nicht neutralisieren. Das noch immer infektiöse Virus wird nun über zellständige Antikörper vermehrt in Wirtszellen aufgenommen und kann sich daher innerhalb des Organismus schneller vermehren und ausbreiten. Antikörper-abhängige Verstärkung ist ein besonderes Problem bei Flaviviren wie dem Dengue-Virus und dem Zika-Virus, welche auch für die Impfstoffherstellung eine große Herausforderung darstellen [17]. Der Mechanismus wurde bereits bei dem mit SARS-CoV-2 nahe verwandten SARS-CoV nachgewiesen [18, 19].

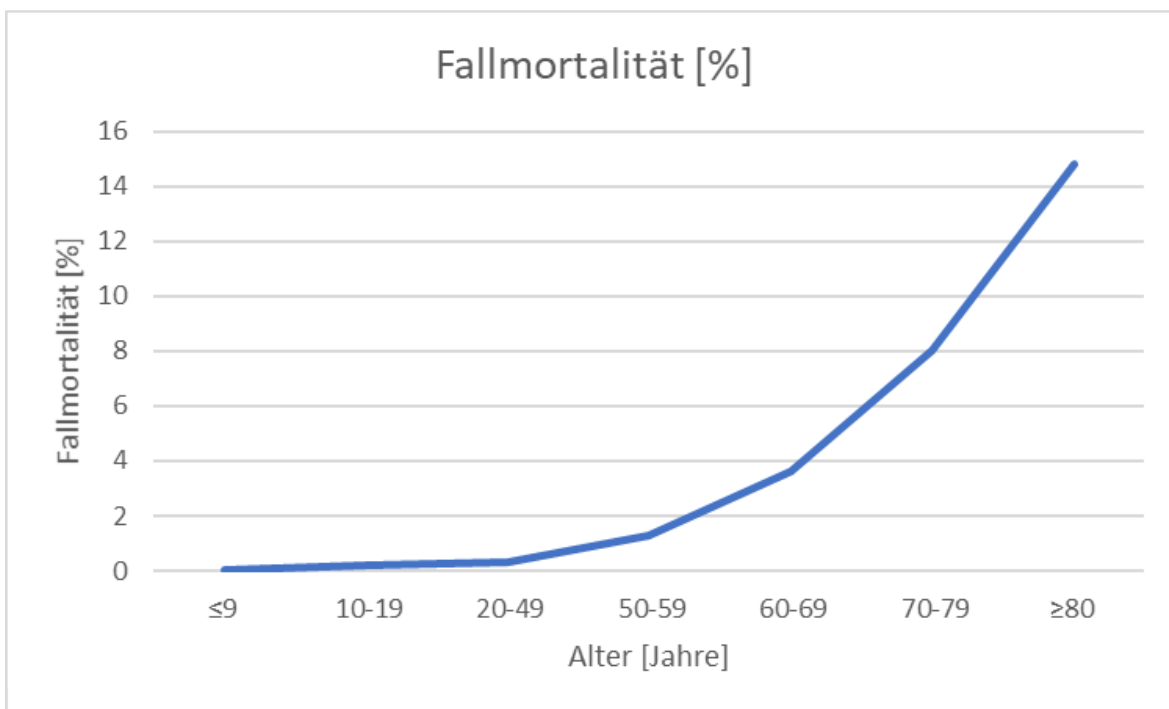


Abbildung 2: Altersabhängige Fallmortalitätsrate bei 44672 bestätigten chinesischen COVID-19-Fällen (eigene Darstellung mit Daten von [14])

## **1.2 Eigene Vorarbeiten**

*Hier werden wir Ihre eigenen Ergebnisse fachlich korrekt und in ansprechender Form präsentiert.*

## **1.3 Projektbezogenes Publikationsverzeichnis Ihrer Arbeiten**

*Liste Ihrer eigenen publizierten Ergebnisse.*





## **2 Ziele und Arbeitsprogramm**

### **2.1 Voraussichtliche Gesamtdauer des Projekts**

Die voraussichtliche Gesamtdauer dieses Projekts beträgt 6 Jahre und für diese gesamte Zeit wird eine Förderung durch die DFG benötigt.

### **2.2 Ziele**

Das neuartige Pathogen SARS-CoV-2 hat seit seinem Auftreten im Dezember 2019 eine Pandemie ausgelöst. Die Zahl der gesicherten Fälle liegt Mitte April 2020 bei knapp 2¼ Millionen, von denen mehr als eine halbe Million Patienten die Erkrankung überstanden haben. Die Zahl der Todesfälle liegt weltweit bei über 150000 [20]. Es stellt damit eine enorme Herausforderung für die Gesundheitsversorgung auf der ganzen Welt dar. Ältere Patienten haben ein besonders hohes Risiko.

Das Ziel des hier vorgestellten Vorhabens besteht in der Klärung der Frage, warum der Krankheitsverlauf von COVID-19 bei Kindern in der Regel milder verläuft als bei Erwachsenen. Das Verständnis des dahinterliegenden Mechanismus oder der Mechanismen kann zur Entwicklung neuer lebensrettender Behandlungsmöglichkeiten in solchen Fällen führen, bei denen die Infektion mit SARS-CoV-2 zu lebensbedrohlichen Komplikationen geführt hat. Im Rahmen dieses Vorhabens sollen die folgenden Hypothesen geprüft werden.

H 1: SARS-CoV-2 induziert bei Patienten mit schwerem Krankheitsverlauf einen Cytokine-Sturm, der wesentlich zu Pathologie der Erkrankung beiträgt.

H 2: Antikörper-abhängige Verstärkung der Infektivität ist einer der Mechanismen, der zu einem schweren Krankheitsverlauf bei Erwachsenen im Vergleich zu Kindern führt.

H 3: Das angeborene Immunsystem, besonders Makrophagen, trägt zur Viruskontrolle bei jungen Patienten wesentlich bei.

### **2.3 Arbeitsprogramm inkl. vorgesehener Untersuchungsmethoden**

Zur Prüfung der ersten Hypothese, dass SARS-CoV-2 bei Patienten mit schwerem Krankheitsverlauf einen Cytokine Storm induziert, der wesentlich zur Pathologie beiträgt, sollen Makrophagen, B-Zellen und T-Zellen aus peripherem Blut von Patienten, die an COVID-19 erkrankt sind, mittels Dichtegradientenzentrifugation isoliert werden. Makrophagen und T-Zellen

werden direkt anschließend (ex vivo) durchflusszytometrisch mittels intrazellulärem Zytokin-Assay auf intrazelluläre Zytokin-Expression untersucht. Aufgrund der begrenzten Anzahl gleichzeitig verwendbarer möglicher fluoreszenter Marker werden durchflusszytometrisch lediglich IFN $\gamma$ , IL-2, IL-4, IL-10, IL-17, CD11b, CD4 und CD8 analysiert. Nach Zellsortierung mittels Durchflusszytometer (FACS) wird die Zytokinexpression mittels quantitativer RT-PCR gemessen. Bei CD4<sup>+</sup> T-Zellen werden Zytokine, die dem TH1-, TH2- und TH17-Profil entsprechen, also IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IL-21, IL-22, IL-24, IL-26, IFN $\gamma$  und TNF $\alpha$  mittels RT-PCR analysiert. CD11b<sup>+</sup>-Makrophagen werden auf die Expression von TNF $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8 und IL-12 getestet. CD19<sup>+</sup>-B-Zellen werden durch Fusion mit einer Myelomzelllinie immortalisiert, um zu einem späteren Zeitpunkt die produzierten Antikörper zu untersuchen.

Da es möglich ist, dass die systemische Immunantwort sich vom lokalen Geschehen in der Lunge unterscheidet, soll bei Patienten, die an COVID-19 verstorben sind, unmittelbar nach Eintritt des Todes eine bronchoalveoläre Lavage durchgeführt werden. Makrophagen, B-Zellen und T-Zellen, die in der Lavageflüssigkeit enthalten sind, werden ebenso wie bei den für peripheres Blut verwendeten Verfahren durchflusszytometrisch mittels intrazellulärem Zytokin-Assay und quantitativer RT-PCR auf die Zytokin-Expression untersucht.

Bei einer Kontrollgruppe von Patienten mit einem milden Krankheitsverlauf werden ebenfalls T-Zellen, Makrophagen und B-Zellen aus peripherem Blut und bronchoalveolärer Lavageflüssigkeit analysiert. Da es sich bei der bronchoalveoläre Lavage um eine relativ unangenehme und invasive Prozedur handelt, wird sie bei Patienten mit schwerem Verlauf erst nach deren Ableben und bei Patienten mit mildem Verlauf nur bei Patienten über 18 Jahren angewendet werden, weswegen ein Alter von weniger als 18 Jahren für diesen Teil der Studie ein Ausschlusskriterium darstellt. Patienten werden über die Risiken aufgeklärt und haben jederzeit das Recht, die Studie zu verlassen, wenn sie sich keiner bronchoalveolären Lavage unterziehen wollen. Für die bronchoalveoläre Lavage an lebenden Patienten müssen die Patienten nüchtern sein. Vor der Einführung des Bronchoskops werden die oberen Atemwege mittels Lidocain und/oder Xylocain topisch anästhesiert. Sollte der Patient eine Sedation benötigen oder wünschen, kann Midazolam i. v. verabreicht werden. Nach der Einführung des Bronchoskops durch die Nase oder bei Blockade durch den Mund, wird bei Bedarf eine topische Anästhesie in Form von 4 % Lidocain für den Larynx und 2ml-Aliquots 2 % Lidocain unterhalb des Larynx verabreicht. Angewärmte

physiologische Kochsalzlösung wird in 50ml-Aliquots in die Lunge instilliert, wobei ein Assistent mittels 50ml-Spritze die Flüssigkeit behutsam absaugt. Beim ersten Aliquot ist ein Rückholvolumen von lediglich 10-20 ml normal. Das Gesamtinstillationsvolumen sollte 200 ml betragen.

Die Lavageflüssigkeit wird zentrifugiert und der Überstand bis zur weiteren Verarbeitung (Charakterisierung der enthaltenen Antikörper) bei  $-80^{\circ}\text{C}$  gelagert. Die im Pellet enthaltenen Zellen werden gezählt und ein Teil wird immunhistologisch charakterisiert, um genaue Zahlen aller in der Lavageflüssigkeit enthaltenen Zellen festzustellen. Der Rest der Makrophagen, T- und B-Zellen wird wie die aus dem peripheren Blut gewonnenen Zellen weiterverarbeitet. Die Rekrutierung der Patienten mit schwerem Krankheitsverlauf wird in der Intensivstation des Krankenhauses des Antragstellers ggf. unter Einbeziehung der Angehörigen erfolgen. Zur Rekrutierung von milden Fällen und, wenn möglich, asymptomatischen Fällen wird mit regionalen Hausärzten und anderen COVID-19-Teststellen, die COVID-19-RNA-Tests durchführen (lassen), zusammengearbeitet, um sicherzustellen, dass Patienten, deren Test positiv ausfiel, noch in der akuten Phase der Erkrankung rekrutiert werden können. Für diesen Teil der Studie werden die ersten drei Jahre des hier vorgestellten Vorhabens verwendet werden. Durch die unabsehbare Entwicklung der COVID-19 -Pandemie ist es jedoch schwer abzuschätzen, wie viele Patienten auf diese Weise rekrutiert werden können. Es wird allerdings angestrebt, mindestens jeweils 50 schwere und milde Fälle zu rekrutieren.

Ab dem dritten Jahr wird parallel die zweite Hypothese „Antikörper-abhängige Verstärkung der Infektivität ist einer der Mechanismen, der zu einem schweren Krankheitsverlauf bei Erwachsenen im Vergleich zu Kindern führt“ getestet werden. Dazu werden die in den ersten zwei Jahren gesammelten und immortalisierten B-Zellen verwendet. Die von diesen B-Zellen produzierten Antikörper werden sequenziert und ihre Antigene charakterisiert. Da das SARS-CoV-2 nur eine begrenzte Anzahl von strukturellen Proteinen, nämlich die S- (spike), E- (envelope), M- (membrane) und N- (nucleocapsid) Proteine enthält [21], sollte die Charakterisierung der Antigene der SARS-CoV-2-spezifischen Antikörper relativ einfach sein. Hierzu werden ELISAs eingesetzt, bei denen jeweils reine virale Proteine in der ELISA-Platte immobilisiert werden. Die Hybridom-Überstände werden in die Platte titriert. Virusspezifische Antikörper werden in verschiedenen Konzentrationen mit dem Virus vermischt und untersucht, ob verschiedene Antikörper die In-

vitro-Infektivität beeinflussen, indem sie sie verstärken oder aber das Virus neutralisieren. Die Nierenepithelzelllinie VERO, die von der afrikanischen grünen Meerkatze stammt, wird als suszeptible Zelllinie verwendet. Als Maß für die Infektivität wird der ID50-Virustiter verwendet.

Anschließend werden Libraries von überlappenden HIS-tagged-Peptiden produziert werden, die einem spezifischen Epitop eines Virusproteins entsprechen, und, da sie aufgrund ihrer Kürze nicht an Plastik binden, mittels His-Tag in einer ELISA-Platte immobilisiert werden. Anhand dieser Peptide wird das spezifische Epitop von interessanten Antikörpern charakterisiert. Für die vollständige Charakterisierung von mindesten fünf neutralisierenden und fünf verstärkenden Antikörpern werden vier Jahre beginnend mit dem Zeitpunkt der Hybridomproduktion veranschlagt. Ein besseres Verständnis, welche Antikörper und Epitope zur Viruskontrolle beitragen, und welche eine Verstärkung der Infektivität verursachen, ist von immenser Bedeutung für die Entwicklung und/oder Verbesserung eines wirksamen Impfstoffes. Es kann auch zur Produktion von monoklonalen Antikörpern führen, die zur Behandlung besonders schwer Erkrankter eingesetzt werden können.

Die dritte Hypothese, dass das angeborene Immunsystem, besonders Makrophagen, bei jungen Patienten wesentlich zur Viruskontrolle beitragen, wird parallel zu den beiden anderen Hypothesen in der gesamten 6-Jahres-Laufzeit dieses Forschungsvorhabens getestet werden. Hierzu werden in Zusammenarbeit mit regionalen Hausärzten Kinder mit bestätigter SARS-CoV-2-Infektion in die Studie rekrutiert. Da eine bronchoalveoläre Lavage bei Kindern ohne medizinische Notwendigkeit nicht infrage kommt, werden lebende Makrophagen, B-Zellen und T-Zellen aus dem Sputum isoliert. Dass dies prinzipiell möglich ist, konnte in der Vergangenheit für Makrophagen gezeigt werden [21] und sollte in dieser Form auch für andere Zellarten (B-Zellen, T-Zellen) möglich sein. Da die erwartete Zellzahl begrenzt ist, wird ein Teil der Zellen immunohistologisch charakterisiert und gezählt und der Rest mittels FACS in CD4+T-Zellen, CD19+-B-Zellen und CD11b+-Makrophagen getrennt. Die Zytokin-Expression der Makrophagen und T-Zellen wird mittels RT-PCR analog zu den Erwachsenen durchgeführt. Parallel dazu werden Zellen aus dem peripheren Blut isoliert. Zellzahlen, die jeweiligen Anteile von Makrophagen, B- und T-Zellen und Zytokin-Expressionsmuster der Zellen, sowohl aus dem Sputum als auch aus dem peripheren Blut, werden mit den entsprechenden Daten der Erwachsenen und mit historischen Daten von gesunden Kindern und Kindern mit verschiedenen Infektionen verglichen. Sollte sich herausstellen, dass ein

signifikanter Unterschied zwischen Kindern und Erwachsenen, Kindern und Erwachsenen mit mildem Verlauf, Kindern und Erwachsenen mit schwerem Verlauf oder zwischen Erwachsenen mit mildem und schwerem Verlauf besteht, ließe sich möglicherweise daraus schließen, welche(s) Zytokine für den schweren Verlauf verantwortlich sind. Dies könnte zum Einsatz von entsprechenden inhibierenden monoklonalen Antikörpern oder anderen spezifischen Biologika als Behandlung führen, ohne den Patienten mit möglichen deletären Folgen allgemein immunsupprimieren zu müssen. Diese Ergebnisse lassen sich möglicherweise auch auf die Behandlung von anderen viralen Pneumonien, beispielsweise Influenzapneumonien, übertragen und würden daher unsere Fähigkeit, diese und ähnliche emergenten Pandemien behandeln zu können, entscheidend verbessern.

Der zeitliche Verlauf des vorgeschlagenen Forschungsprojektes ist in Abbildung 3 dargestellt.

	1. Jahr		2. Jahr		3. Jahr		4. Jahr		5. Jahr		6. Jahr	
Patientenrekrutierung (Erwachsene)	■	■	■	■	■	■						
Zytokinexpression	■	■	■	■	■	■						
B-Zell-Immortalisierung	■	■	■	■	■	■						
Screening der B-Zellen (ELISA)					■	■	■					
Antikörpereffekt auf Infektivität							■	■	■	■		
Epitopcharakterisierung							■	■	■	■		
Patientenrekrutierung (Kinder)					■	■	■	■	■	■	■	■
Durchflusszytometrie und Immunhistologie					■	■	■	■	■	■	■	■
Zytokinexpression (Kinder)					■	■	■	■	■	■	■	■

Abbildung 3: Zeitlicher Verlauf des vorgeschlagenen Forschungsprojektes (eigene Darstellung)  
 Ein Kästchen entspricht 6 Monaten, rot: Hypothese 1, blau: Hypothese 2, grün: Hypothese 3

### 3 Literaturverzeichnis zum Stand der Forschung, zu den Zielen und dem Arbeitsprogramm

- [1] Reichert T, Chowell G, McCullers JA. The age distribution of mortality due to influenza: pandemic and peri-pandemic. *BMC Med* 2012; 10: 162.
- [2] Taubenberger JK, Morens DM. 1918 Influenza: the Mother of All Pandemics. *Emerg Infect Dis* 2006; 12: 15–22.
- [3] Nguyen AM, Noymer A. Influenza Mortality in the United States, 2009 Pandemic: Burden, Timing and Age Distribution. *PLoS One* 2013; 8: e64198.
- [4] Taubenberger JK, Kash JC, Morens DM. The 1918 influenza pandemic: 100 years of questions answered and unanswered. *Sci Transl Med*; 11. Epub ahead of print 24. Juli 2019. DOI: 10.1126/scitranslmed.aau5485.
- [5] Nickol ME, Kindrachuk J. A year of terror and a century of reflection: perspectives on the great influenza pandemic of 1918-1919. *BMC Infect Dis* 2019; 19: 117.
- [6] Short KR, Kedzierska K, van de Sandt CE. Back to the Future: Lessons Learned From the 1918 Influenza Pandemic. *Front Cell Infect Microbiol* 2018; 8: 343.
- [7] Oldstone MBA, Rosen H. Cytokine storm plays a direct role in the morbidity and mortality from influenza virus infection and is chemically treatable with a single sphingosine-1-phosphate agonist molecule. *Curr Top Microbiol Immunol* 2014; 378: 129–147.
- [8] Liu Q, Zhou Y, Yang Z. The cytokine storm of severe influenza and development of immunomodulatory therapy. *Cell Mol Immunol* 2016; 13: 3–10.
- [9] Guo X-ZJ, Thomas PG. New fronts emerge in the influenza cytokine storm. *Semin Immunopathol* 2017; 39: 541–550.
- [10] Tisoncik JR, Korth MJ, Simmons CP, u. a. Into the eye of the cytokine storm. *Microbiol Mol Biol Rev* 2012; 76: 16–32.
- [11] Gu Y, Hsu AC-Y, Pang Z, u. a. Role of the Innate Cytokine Storm Induced by the Influenza A Virus. *Viral Immunol* 2019; 32: 244–251.

- [12] Gu Y, Hsu AC-Y, Pang Z, u. a. Role of the Innate Cytokine Storm Induced by the Influenza A Virus. *Viral Immunol* 2019; 32: 244–251.
- [13] Zheng J. SARS-CoV-2: an Emerging Coronavirus that Causes a Global Threat. *Int J Biol Sci* 2020; 16: 1678–1685.
- [14] Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China. *JAMA* 2020; 323: 1239.
- [15] Boodley CA, Jaquis JL. Measles, mumps, rubella and chickenpox in the adult population. *Nurse Pract* 1989; 14: 12, 14, 16 passim.
- [16] Perry RT, Halsey NA, Halsey NA. The Clinical Significance of Measles: A Review. *J Infect Dis* 2004; 189: S4–S16.
- [17] Khandia R, Munjal A, Dhama K, u. a. Modulation of Dengue/Zika Virus Pathogenicity by Antibody-Dependent Enhancement and Strategies to Protect Against Enhancement in Zika Virus Infection. *Front Immunol* 2018; 9: 597.
- [18] Yip MS, Leung HL, Li PH, u. a. Antibody-dependent enhancement of SARS coronavirus infection and its role in the pathogenesis of SARS. *Hong Kong Med J = Xianggang yi xue za zhi* 2016; 22: 25–31.
- [19] Luo F, Liao F-L, Wang H, u. a. Evaluation of Antibody-Dependent Enhancement of SARS-CoV Infection in Rhesus Macaques Immunized with an Inactivated SARS-CoV Vaccine. *Virol Sin* 2018; 33: 201–204.
- [20] Worldometer. COVID-19 CORONAVIRUS PANDEMIC. *Worldometer.info/coronavirus*, <https://www.worldometers.info/coronavirus/> (2020, zugegriffen 17. April 2020).
- [21] Bølling AK, Steensen TB, Alexis NE, u. a. Isolating and culturing of sputum macrophages: A potential ex vivo/in vitro model. *Exp Lung Res* 2018; 44: 312–322.

## 4 Beantragte Module/Mittel

### Personal (Antragsteller(-in) nicht eingeschlossen):

1 ganze BAT2a Stelle für 1 Postdoctoral Fellow für die gesamte Laufzeit von 6 Jahren (jeweils 2 3-Jahres-Stellen für eine(-n) Postdoctoral Fellow)

2 halbe BAT2a Stellen für 2 Doktorand/Innen für die gesamte Laufzeit von 6 Jahren (jeweils 3 Jahre Dauer pro Doktorand/-in)

3 MTA Vollzeit, für die gesamte Laufzeit von 6 Jahren

### Geräte:

Es werden keine Mittel für Geräte beantragt.

### Verbrauchsmittel\*:

Durchflusszytometrie: Intrazelluläre Zytokin-Assay-Kits, Zelloberflächenantikörper, sekundäre Antikörper, sterile Puffer

Zellkultur: Zellkulturmedien, Zellkulturflaschen und -platten, Trypsinlösung, VERO-Zelllinie

Peptidsynthese: überlappende 18 Aminosäuren-Peptidbibliotheken aller 4 strukturellen Viruspeptide

PCR: Enzyme, Puffer, RT-PCR Kits, RNA-Isolations-Kits

Plastikwaren: Pipetten, Pipettenspitzen, Zentrifugationsröhrchen, PCR-Platten, Zellkulturflaschen und -platten, ELISA-Platten

*\* Wir können leider keine Preise angeben, da diese von individuellen Verträgen mit Ihrer Universität abhängen.*



## **5 Voraussetzungen für die Durchführung des Vorhabens**

*Wir werden Ihnen hier helfen, diesen Abschnitt mit Ihren Angaben den Vorgaben der DFG entsprechend auszufüllen.*

### **5.1 Angaben zur Dienststellung**

### **5.2 Angaben zur Erstantragstellung**

### **5.3 Zusammensetzung der Projektarbeitsgruppe**

### **5.4 Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern**

#### **5.4.1 Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler, mit denen für dieses Vorhaben eine konkrete Vereinbarung zur Zusammenarbeit besteht**

#### **5.4.2 Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler, mit denen in den letzten 3 Jahren wissenschaftlich zusammengearbeitet wurde**

#### **5.4.3 Apparative Ausstattung**

Durchflusszytometer, Durchfluss-Zellsorter, DNA-Sequenzer, quantitative RT-PCR-Maschine, konventionelle PCR-Maschine, BSL3 Laminar Flow-Biosicherheitskabinett, Zellkulturinkubator, Zentrifugen (bis zu 250 ml Volumen und Mikrozentrifugen)

#### **5.4.4 Projektrelevante Zusammenarbeit mit erwerbswirtschaftlichen Unternehmen**

**Forschungsantrag  
gemeinsam schreiben.**  
[www.acad-write.com/leistungen](http://www.acad-write.com/leistungen)