



Kas, kuidas ja miks

toimivad mRNA-põhised koroonavaktsiinid?

Ameerika Ühendriikide, Euroopa ja Eesti raviametid on andnud müügiloa kahele informatsiooni- ehk *messenger*- ehk mRNA-põhisele koroonaviirus SARS-CoV-2 vastasele vaktsiinile ning mõlemaga on alustatud ka vaktsineerimisi.



Ana Rebane

molekulaarmeditsiini professor

Tartu Ülikooli bio- ja
siirdemeditsiini instituut

Nendest esimese ja Eestis kasutusel oleva vaktsiini, BNT162b2, kommertsiaalse nimega Comirnaty, tehnoloogia arendajaks on Saksamaal paiknev firma BioNTech ja selle tootmine toimub koostöös farmaatsia suurkompaniiga Pfizer. Teine vaktsiin on tuntud nime all mRNA-1273 ning seda arendab ja toodab Ameerika Ühendriikides paiknev mRNA-põhiste vaktsiinide ja ravimite arendamisele ja tootmisele spetsialiseerunud firma Moderna. Mõlemad vaktsiinid on näidanud kolmanda faasi kliinilistes uuringutes, kuhu mõlemal juhul kaasati enam kui 20 000 osalejat, üle 90% efektiivsust.^(1, 2) Moderna vaktsiini käsitlevates uuringutes on näidatud, et kolme kuu möödudes teisest doosist on vaktsineeritutel viirust neutraliseerivate antikehade hulk vaid õige pisut vähenenud, mis on tavapärane ning piisav

kaitseks.⁽³⁾ Samuti on näidatud, et Moderna vaktsiiniga vaktsineerimisel tekivad neutraliseerivad antikehad ka vanemaealistel.⁽¹⁾

Mõlema vaktsiini tehnoloogia, kasutamine, koostis ja võimalikud kõrvaltoimed on paljuski sarnased ja on võrdlevalt ära toodud tabelis 1, mis on koostatud raviameti kodulehel avaldatud infotehede põhjal.⁽¹¹⁾

Väga palju küsimusi on uute mRNA vaktsiinide tehnoloogia kohta. Kuidas on võimalik, et see vaktsiin on nii efektiivne? Mis see mRNA on? Kas see vaktsiin on ikka ohutu? Kuidas saadi COVID-19 vaktsiinid valmis nii kiiresti? Kas see vaktsiin võib muuta meie geene? Kas vaktsiini mRNA ise kutsub esile immuunvastust või mitte? Kui mRNA on tehtud nii, et ta ei laguneks, kas ta ise või tema jupid jäävad siis meie kehasse ringleva ja võivad sattuda nii keharakkude kui ka sugurakkude genoomi?



Miks tekivad allergilised kõrvalnähud, sealjuures üksikute pat-sientidel ülitugev allergiline reaktsioon?

Et nendele küsimustele vastata, proovin siinkohal selgitada nende vaktsiinide tehnoloogiat ja arendamise teaduslikku tausta oma erialast lähtuvalt.

Mida mRNA vaktsiin sisaldab?

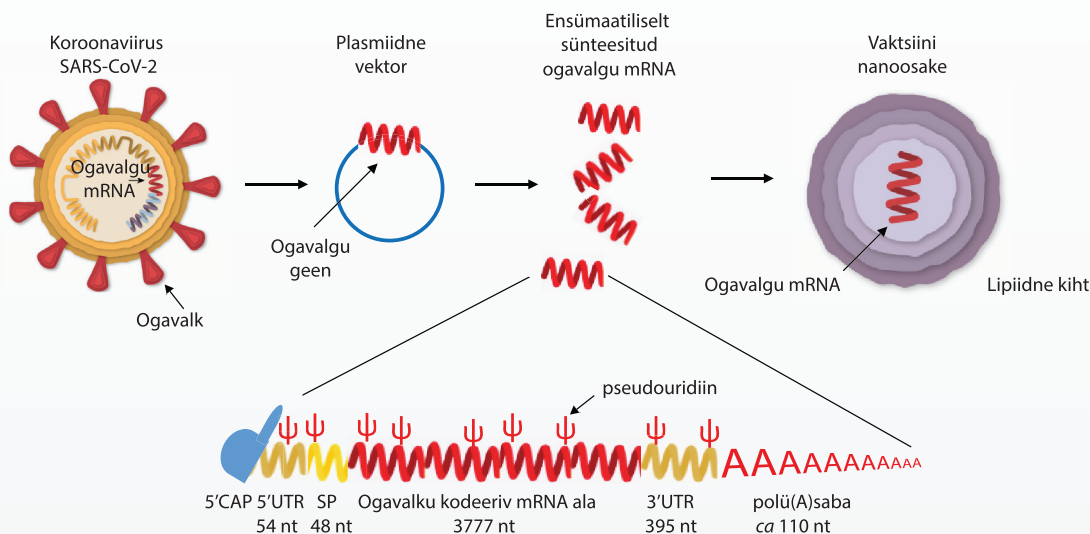
Mõlema vaktsiini toimeaine on koroonaviiruse SARS-CoV-2

geneetiline informatsioon mRNA kujul, mis on pakitud lipiidssesse nanokompleksi, mida kutsutakse ka liposoomiks. Mõlema vaktsiini puhul kasutatakse immuunsuse tekitamiseks SARS-CoV-2 oga-alku kodeerivat mRNA-d. Joonisel 1 on toodud skeem, kuidas vaktsiin valmistati. Vaktsiini loomiseks klooniti ogavalku kodeeriv mRNA plasmiidssesse DNA vektorisse, kus on ka lisaelemendid, mis tagavad ogavalgu tootmise ja rakulise lokaliseerimise nii, et ogavalgu

vastu tekkiv immuunsus oleks tugevam. mRNA tootmine toimub ensümaatilisel, kuid täpsemad ensüümid ja protsess ei ole tootjate poolt avaldatud. Mõlema vaktsiini mRNA 5' otsa lisatud modifitseeritud nukleotiid, 7-metüül-guanosiin (m7G), ehk 5'CAP, mis on olemas kõikidel rakulistel mRNA-del, on vajalik selleks, et valgusünteesi masin, milleks on ribosoom, leiaks mRNA üles ja käivitaks translatsioon. Teise olulise elemendina on mRNA-le lisatud polü(A) saba,

Tabel 1. Moderna ja Pfizer BioNTechi vaktsiinide võrdlus Ravimiameti koostatud infolehtede alusel. ⁽¹¹⁾

	Pfizer BioNTech	Moderna
Ühe annuse COVID-19 vaktsiini koostis	Pärast lahjendamist sisaldab viaal viit 0,3 ml annust, igas 30 mikrogrammi mRNA-d pakituna lipiidi ALC-0315 nanoosakestes	0,5 ml, sisaldab 100 mikrogrammi mRNA-d pakituna lipiidi SM-102 nanoosakestes
Teised koostisosad	• 2-[(polüetüleenglükool)-2000]-N,N-di-tetradetsüülatseetamiid (ALC-0159) • 1,2-distearoül-sn-glütsero-3-fosfoliini (DSPC) • kolesterool • kaaliumkloriid • kaaliumdivesinikfosfaat • naatriumkloriid • dinaatriumfosfaatdihüdraat • sahharoos • süstevesi	• kolesterool, • 1,2-distearoül-sn-glütsero-3-fosfoliini (DSPC) • 1,2-dimüristoül-rac-glütsero-3-metoksüpolüetüleenglükool-2000 (PEG2000 DMG) • Trometamiin • trometamiinvesinikkloriid • äädikhape • naatriumatsetaatrihüdraatsahharoos • süstevesi
Transport ja säilitamine	-80 °C	-20 °C
Kasutamine	Kaks annust (0,3 ml) süstitakse õlavarrelihasse vähemalt 21-päevase vahega	Kaks annust (0,5 ml) süstitakse õlavarrelihasse umbes 28-päevase vahega
Kellele lubatud	Täiskasvanutele ja noorukitele alates 16 aasta vanusest	Täiskasvanutele alates 18 aasta vanusest
Väga sagedased kõrvaltoimed (>1 inimesel 10-st)	• valu ja turse süstekohas • väsimus • peavalu • lihasevalu • liigesevalu • külmavärinad, palavik	• kaenlaaluse paistetus • peavalu • iiveldus, oksendamine • lihasevalu, liigesevalu ja -jäikus • süstekoha valu või turse • tugev väsimustunne • külmavärinad, palavik
Sagedased kõrvaltoimed (kuni 1 inimesel 10-st)	• punetus süstekohas • iiveldus	• lööve, süstekoha lööve, punetus või nõgestõbi
Aeg-ajalt esinevad kõrvaltoimed (kuni 1 inimesel 100-st)	• lümfisõlmede suurenemine • halb enesetunne • valu jäsemetes • unetus • sügelus süstekohas	• süstekoha sügelus
Harva esinevad kõrvaltoimed (kuni 1 inimesel 1000-st)	• ajutine ühepoolne näonärvihälvatus	• ühe näo poole ajutine nõrkus • näo paistetus isikutele, kes on saanud näo kosmeetilisi süste
Võimalikud kõrvaltoimed, mille sagedus ei ole teada	• raske allergiline reaktsioon	• raske allergiline reaktsioon (anafülaksia) • ülitundlikkus



Joonis 1. Skemaatiline ülevaade mRNA-põhise vaktsiini tehnoloogiast. Vaktsiini loomiseks klooniti ogavalgu kodeerivale mRNAle vastav DNA plasmidsesse DNA vektorisse, millelt toodetakse ensümaatilisel mRNA. mRNA 5' otsa on lisatud modifitseeritud nukleotiid, 7-metüül-guanoosin (m7G), ehk 5'CAP ning 3' otsa on liidetud polü(A) saba. Lisaks ogavalgu kodeerivale alale on vaktsiini mRNA-l 5' ja 3' mittetransleeritavad alad, 5'UTR ja 3'UTR (*untranslated region*) ja signaalpeptiidi kodeeriv ala SP, mis tagab, et sünteesitud valk liiguks tsütoplasmasse. Vaktsiini mRNA uridiinid on asendatud pseudouridiinidega, täpsemalt N-1-metüül-pseudouridiinidega (edaspidi ψ). Vaktsiini mRNA erinevate lõikude pikkus on näidatud nukleotiidides (nt).

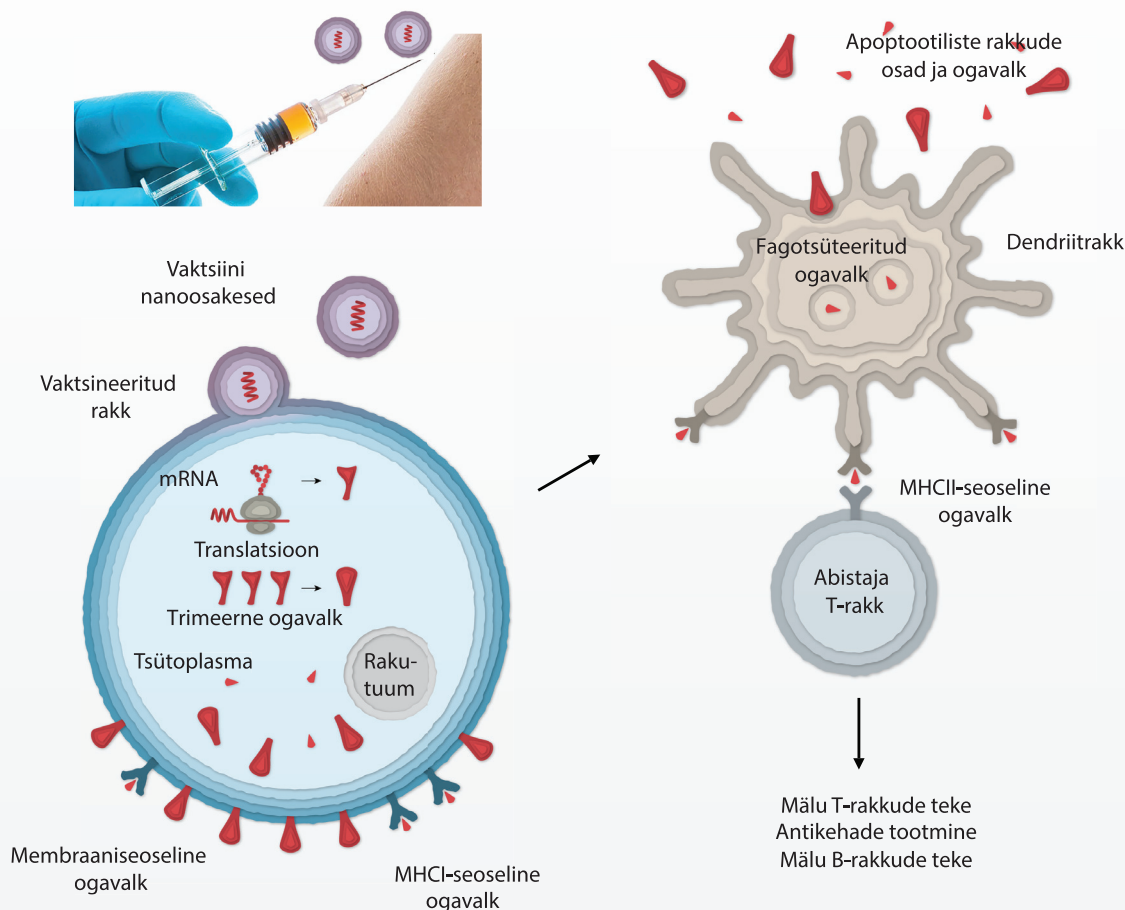
millele seonduvad polü(A)-seoseli-
sed valgud, mis kaitsevad mRNA-d
lagunemise eest ja on samuti vaja-
likud efektiivseks translatatsiooniks
inimese rakkudes.

Pfizer BioNTechi vaktsiini mRNA järjestus ja struktuur on avaldatud Maailma Terviseorgani-
satsiooni WHO (*World Health Organization*) poolt. Seetõttu
teame ka, et selle vaktsiini puhul
on iga uridiin (U), mis on üks nel-
jast RNA nukleotiidist, asenda-
tud pseudouridiiniga, täpsemalt
N-1-metüül-pseudouridiiniga
(edaspidi ψ). Vaktsiini mRNA-s
on asendatud kõik U-nukleotiidid
 ψ -ga. ψ -de lisamisel muutub valgu-
süntees nii rakuliinides kui ka
monotsüütides rakukultuuris
diferentseeritud dendriitrakkudes
5–8 korda efektiivsemaks.⁽⁴⁾ Natuke
muudab ψ -de lisamine ka mRNA
stabiilsemaks, sest RNAas L, mis on
ensüüm, mis aktiveeritakse inter-
feroonvastuse ajal, ei suuda ψ -dega

RNA-d enam lõigata.⁽⁵⁾ Kõige oluli-
sem on mRNA vaktsiini seisukohalt
see, et 5'CAP modifikatsiooniga,
polü(A) sabaga ja ψ -dega mRNA-d
käsitlevad nii keha kui ka immuun-
rakud oma mRNA-na. Nimelt on
meie immuunsüsteem üles ehitatud
nii, et viiruste ja bakterite RNA-
del need elemendid puuduvad,
või puudub vähemalt üks nendest,
ning seetõttu tunnevad spetsiali-
seerunud tollilaadised retseptorid
TLR3, TLR7 ja TLR8 võõra RNA
ära ning käivitavad interferoonide
tootmise, millega kaasneb üldine
translatatsiooni pidurdumine naka-
tunud raku, ümbritsevate rakkude
alarmeerimine, kaasasündinud ja
omandatud immuunsüsteemi akti-
veerimine ning nakataja kahjutuks
tegmine. On huvitav, et rakud
ei taju, et midagi on valesti, kuigi
vaktsiini mRNA-s on kõik uridii-
nid asendatud pseudouridiinidega,
aga rakulise mRNA puhul on vaid
osa uridiinidest asendatud ψ -dega.

Miks on vaja mRNA pakkida liposoomi?

Lipiidsesse nanopartiklise pakki-
mine on vajalik, sest on teada, et
„paljas“ RNA on negatiivse laen-
guga ja suhteliselt suur molekul
ning ei sisene seetõttu rakkudesse.
Samuti laguneb RNA rakust väljas-
pool kiiresti RNAaside toimel.
RNAasid on valgulised ensüümid,
mille tavapärane ülesanne rak-
kudes on kontrollida RNA hulka
ja seega meie geenide avaldumist
ning lisaks pakkuda ka kaitset
võõra RNA eest. RNAasid on väga
stabiilsed ensüümid ja neid leidub
nii kehavedelikes kui ka näiteks
meie naha pinnal. Vaktsiinis sisal-
dud lipiid-mRNA nanokompleks
on mittekovalentne. Liposoomide
moodustamiseks RNA ja lipiidide
vahel peab kasutama katioonseid,
s.o positiivse laenguga lipiide. RNA
negatiivne laeng ja lipiidi positiivne
laeng moodustavad ioonsed side-
med ning lipiidide mittepolaarne



Joonis 2. mRNA vaktsiini toime. Pärast süstimist õlavarrelihasesse siseneb mRNA-lipiidkompleks lihasrakkudesse, mRNA vabaneb tsütoplasmasse ning sellelt sünteesitakse ogavalgu monomeerid, mis seejärel moodustavad trimeerse valgu, mis liigub oma omaduste tõttu rakumembraanile. Osa ogavalgust laguneb ning selle osad esitatakse koos koosobivuskompleksiga (*Major Histocompatibility Complex*) MHCI immuunrakkudele. Käivitub immuunvastus võõrvalgu suhtes, mille käigus vaktsineeritud rakk sureb, ning rakkude vahele sattunud ogavalgust osad korjatakse üles dendriitrakkude poolt. Dendriitrakud liiguvad edasi lümfisõlmedesse ja aktiveerivad T-rakud ning immuunmälu tekke kaskaadi. Tekivad nii abistaja mälu T-rakud kui ka mälu B-rakud, kellest viimased suudavad aktiveerumisel toota ogavalgust-vastaseid antikehi. Dendriitrakud esitavad ogavalgust osad T-rakkudele koosobivuskompleksi MHCII abil.

osa suunatakse nanopartikli pinna. Ei ole teada, kuidas see toimub farmaatsiatööstuses, kuid teaduslaborites tehakse seda üsna lihtsalt: segatakse puhverlahuses kokku mRNA ja lipiid, hoitakse segu pool tundi toatemperatuuril, mõnikord lisatakse abiained, nagu näiteks PEG2000, ja seejärel lisatakse kompleksid rakukultuuri või kasutatakse muul moel. PEG2000 on mõlema vaktsiini lisakomponent, mille ülesanne on lipiid-mRNA nanokompleksi stabiliseerida. Vaktsiini puhul lipiid-mRNA kompleksid külmutatakse, ning neid ei tohi korduvalt külmutada ja sulatada, sest

siis kompleks laguneb ja mRNA ei suuda enam rakkudesse siseneda.

Mis juhtub pärast süstimist õlavarrelihasesse?

Pärast süstimist siseneb vähemalt osa lipiid-mRNA nanoosakestest lihasrakkudesse või kudedes paiknevatesse immuunrakkudesse, sealhulgas dendriitrakkudesse. Vaktsiini nanoosakesed on üsna suured. Täpseid andmeid konkreetsete vaktsiinide kohta ei ole, aga arvestades varasemaid töid ja meie enda kogemust,^(6,7) pakun välja, et vaktsiini nanoosakeste suurus võiks jääda keskmiselt 100–500 nm vahele. Need nanoosakesed kehas

tõenäoliselt kaugele ei rända ja sisenevad rakkudesse üsna süstekoha läheduses või siis lagunevad. Joonisel 2 on ära toodud stsenaarium, kus vaktsiini nanoosakesed on sisenenud lihasraku. Seda tüüpi transport toimub tavaliselt endosomaalsel teel. Endosoomides lipiid-mRNA kompleks laguneb ja mRNA satub tsütoplasmasse. Seal leitakse vaktsiini mRNA üles ribosoomide poolt, mis viivad läbi ogavalgust monomeeride sünteesi. Seejärel moodustavad ogavalgust monomeerid trimeeri, mis liigub oma omaduste tõttu rakumembraanile. Osa ogavalgust laguneb ning selle jupid esitatakse koos koosobivus-

kompleksiga (*Major Histocompatibility Complex*) MHCI immuunrakkudele. Käivitub immuunvastus võõralgu suhtes, mille käigus vaksineeritud rakk sureb ja ogavalgu osad korjatakse üles dendriitrakkude poolt, mis liiguvad edasi lümfisõlmedesse ja aktiveerivad T-rakud ning immuunmälu tekke. Sealjuures tekivad nii mälu T-rakud kui ka mälu B-rakud, millest viimased suudavad aktiveerumisel toota ogavalgu-vastaseid antikehi. Teine võimalus on, et vaktsiin satub kohe dendriitrakkudesse. Siis toimub ogavalgu translatsioon dendriitrakkudes ning selle osad esitatakse kohe koosobivuskompleksi MHCII abil T-rakkudele ning käivitub immuunmälu tekkeprotsess.

Kas vaktsiini mRNA või tema laguproduktid võivad muuta geenide järjestust?

Selleks, et mRNA järgi tehtud DNA koopia saaks siseneda somaatiliste rakkude genoomi, on kõigepealt vaja sünteesida selle DNA koopia. Selleks on võimalised ensüümid, mida nimetatakse pöördtranskriptaasideks. Lisaks peab DNA koopia sattuma rakutuuma ning sisenema genoomi. Inimesel puudub pöördtranskriptaas, kuid see on olemas näiteks retroviirustel. Kõige tuntum retroviirus on HIV-viirus, mis suudab edukalt oma DNA koopiaid lülitada T-rakkude genoomi ning see viib lõpuks T-rakkude hävimiseni. Kuna inimese rakkudes pöördtranskriptaasi ei ole, siis puudub üldiselt igasugune võimalus,

et vaktsiini mRNA või selle osad satuksid genoomi. Samuti on avaldatud muret, et vaktsiini mRNA lõike ei lagundata lõpuni ja need jäävad ringlema ja võivad mingit seni teadmata kahju tekitada. Võib öelda, et selleks puudub siiski suurel määral võimalus, sest rakkudes on peale RNAas L veel piisavalt teisi RNAase, mis vaktsiini mRNA-d suudavad lagundada.⁽⁸⁾

Miks tekivad allergilised kõrvalnähtud?

Nagu ka paljude teiste vaksineerimiste puhul, võib tekkida ka mRNA vaktsiinidega vaksineerimisel mitmeid kõrvalnähtusid, nagu seda on süstekoha tundlikkus, turse ja punetus, peavalu, külmavärinad ja palavik. Enamiku kõrvalnähtude puhul võib öelda, et need kaasnevad immuunvastusega ja ongi vajalikud immuunmälu tekkeks. Siiski on mRNA vaktsiinide puhul täheldatud rohkem allergilisi kõrvalnähte kui varasemate vaktsiinide puhul, sealjuures sügelust, nõgestõbe ja anafülaksia. Ühe võimalusena on välja pakutud, et neid kõrvalnähte võib tekitada PEG2000, mille vastu tekkinud tugevaid allergilisi reaktsioone on täheldatud teiste ravimite puhul, näiteks penitsilliini ja süstitavate kortikosteroidide puhul, kus PEG2000 kasutatakse samuti abiaienena.⁽⁹⁾ Ei ole siiski välistatud, et allergiline reaktsioon võib mõnel juhul tekkida ka lipiid-mRNA kompleksi suhtes, sest need on suure tõenäosusega pisut heterogeense kuju ja suurusega ning

seetõttu võib juhtuda, et muude ainete suhtes allergilisel inimesel tekib reaktsioon, sest nanopartiklid mimikeerivad mõnda allergeeni.

Kuidas saadi COVID-19 vaktsiinid valmis nii kiiresti?

Nii Pfizer BioNTechi kui ka Moderna mRNA vaktsiinide arendus ja tootmise käivitamine on toimunud erakordse kiirusega ning sealjuures kasutatakse uudet tehnoloogiat. Oluline on selle juures märgata, et mRNA vaktsiini loomisele on eelnenud umbes kolmkümmend aastat teadustööd. Lisaks on teada, et eelmise aasta alguses oli vaktsiini tehnoloogia tegelikult juba olemas – puudus ainult info ogavalgu mRNA järjestuse kohta. Varasemad katsed tulla seda tüüpi vaktsiiniga turule ei olnud suutnud siiski klassikaliste vaktsiini valmistamise tehnoloogiatega konkureerida. Nende tootmise käivitamine „vanade“ haiguste puhul, nagu näiteks leetrid ja gripp, arvati kulukaks ja nii ei leitud investeerijaid. Kuna COVID-19 on globaalne probleem, siis tõi see kaasa mRNA vaktsiinide tootmisse vajalikud investeeringud ning nüüdseks ka lootuse, et selle tehnoloogia abil on võimalik luua ka vaktsiinid mitmetele teistele haigustele, nagu näiteks HIV ja malaaria, kus väga erinevate lähenemistega ei ole seni edu saavutatud.⁽¹⁰⁾ 🍀

Kasutatud allikad:

1. Anderson, E. J. et al. Safety and immunogenicity of SARS-CoV-2 mRNA-1273 vaccine in older adults. *N Engl J Med* 2020; 383 (25): 2427–2438.
2. Polack, F.P. et al. Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 vaccine. *N Engl J Med* 2020; 383 (27): 2603–2615.
3. Widge, A. T. et al. Durability of responses after SARS-CoV-2 mRNA-1273 vaccination. *N Engl J Med* 2021; 384 (1): 80–82.
4. Kariko, K. et al. Incorporation of pseudouridine into mRNA yields superior nonimmunogenic vector with increased translational capacity and biological stability. *Mol Ther* 2008; 16 (11): 833–40.
5. Anderson, B.R. et al. Nucleoside modifications in RNA limit activation of 2'-5'-oligoadenylate synthetase and increase resistance to cleavage by RNase L. *Nucleic Acids Res* 2011; 39 (21): 9329–38.
6. Carreras-Badosa, G. et al. NickFect type of cell-penetrating peptides present enhanced efficiency for microRNA-146a delivery into dendritic cells and during skin inflammation. *Biomaterials* 2020; 262.
7. Setten, R. L., Rossi, J. J., Han, S. P. The current state and future directions of RNAi-based therapeutics. *Nat Rev Drug Discov* 2019; 18 (6): 421–446.
8. Svitkin, Y. V. et al. N1-methyl-pseudouridine in mRNA enhances translation through eIF2alpha-dependent and independent mechanisms by increasing ribosome density. *Nucleic Acids Res* 2017; 45 (10): 6023–6036.
9. Garvey, L. H., Nasser, S. Anaphylaxis to the first COVID-19 vaccine: is polyethylene glycol (PEG) the culprit? *Br J Anaesth*, 2020.
10. Dolgin, E. How COVID unlocked the power of RNA vaccines. *Nature* 2021; 589 (7841): 189–191.
11. Ravimiameti kodulehekül. <https://www.ravimiamet.ee/>