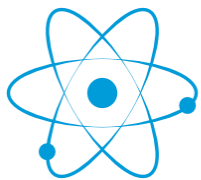
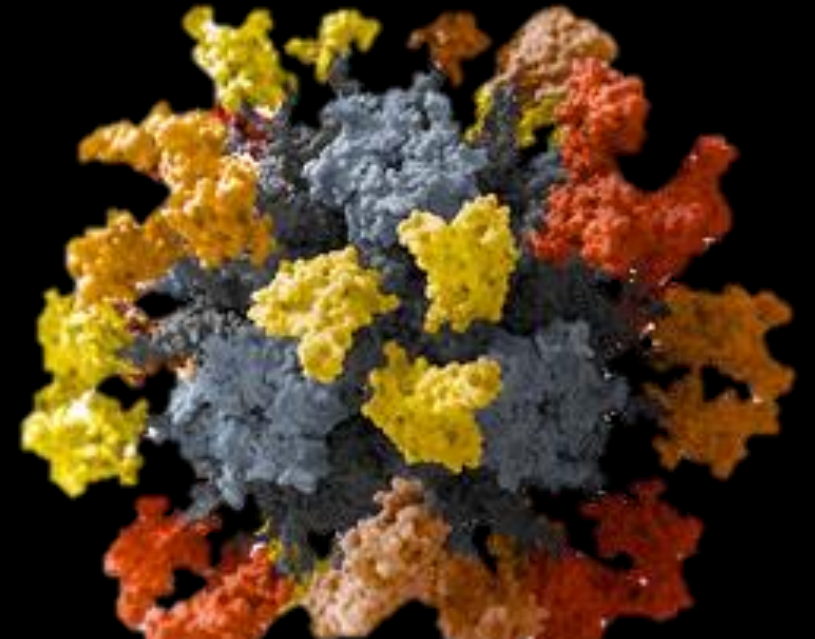
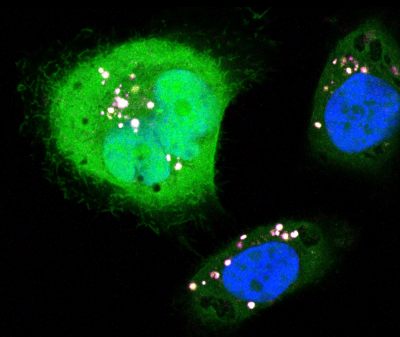


mRNA jako narzędzie walki z koronawirusem... i nie tylko

Joanna Kowalska
Wydział Fizyki, Zakład Biofizyki IFD
Uniwersytet Warszawski



ZAPYTAJ
FIZYKA

Warszawa, 22 kwietnia 2021

Pandemia COVID-19

Grudzień 2019 Pierwszy przypadek nowego koronawirusa zgłoszony w Wuhan, Chiny

9 Stycznia 2020 Pierwszy potwierdzony przypadek śmiertelny (Wuhan)

14 Lutego 2020 Pierwsza potwierdzona śmierć w Europie (Francja)

4 Marca 2020 Pierwsza potwierdzona śmierć w Polsce

Marzec 2020 WHO ogłasza pandemię

20 kwietnia 2021 Ponad 141 mln przypadków na świecie (2.7 mln w Polsce); 3.01 mln śmierci spowodowanych COVID-19 (62 tysiące w Polsce)

12 Stycznia 2020 Po raz pierwszy opublikowano genom (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/MN908947>)

Koniec stycznia 2020 Rozpoczęto pierwsze programy szczepionkowe (m.in. BioNTech and Moderna)

2 Grudnia 2020 szczepionka BioNTech-Pfizer dopuszczona w UK

21 Grudnia 2020 szczepionka BioNTech-Pfizer (warunkowo) dopuszczona przez EMA

6 Stycznia 2020 szczepionka Moderna (warunkowo) dopuszczona przez EMA

Szczepionki mRNA przeciwko SARS-CoV-2

BioNTech-Pfizer
Comirnaty (BNT162b2)

Moderna
Vaccine mRNA 1273

- Czy coś co powstało tak szybko może być skuteczne?
- Jak działają szczepionki mRNA?
- Czy szczepionki mRNA mogą zmienić nasze geny?
- Czy są „lepsze” czy „gorsze” od tradycyjnych szczepionek?

...

Czy szczepionka jest skuteczna?

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

An mRNA Vaccine against SARS-CoV-2 — Preliminary Report

L.A. Jackson, E.J. Anderson, N.G. Rouphael, P.C. Roberts, M. Makhene, R.N. Coler, M.P. McCullough, J.D. Chappell, M.R. Denison, L.J. Stevens, A.J. Pruijssers, A. McDermott, B. Flach, N.A. Doria-Rose, K.S. Corbett, K.M. Morabito, S. O'Dell, S.D. Schmidt, P.A. Swanson II, M. Padilla, J.R. Mascola, K.M. Neuzil, H. Bennett, W. Sun, E. Peters, M. Makowski, J. Albert, K. Cross, W. Buchanan, R. Pikaart-Tautges, J.E. Ledgerwood, B.S. Graham, and J.H. Beigel, for the mRNA-1273 Study Group*

ABSTRACT

BACKGROUND

The severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) emerged in late 2019 and spread globally, prompting an international effort to accelerate development of a vaccine. The candidate vaccine mRNA-1273 encodes the stabilized prefusion SARS-CoV-2 spike protein.

Opublikowane wyniki badań klinicznych pokazują bezpieczeństwo i bardzo dużą skuteczność

Faza I
bezpieczeństwo
Kilkadziesiąt osób

Faza II skuteczność
na małej grupie
Kilkaset osób

Faza III
80,000 uczestników
43,000 uczestników

Article

Phase I/II study of COVID-19 RNA vaccine BNT162b1 in adults

<https://doi.org/10.1038/s41586-020-2639-4>

Received: 29 June 2020

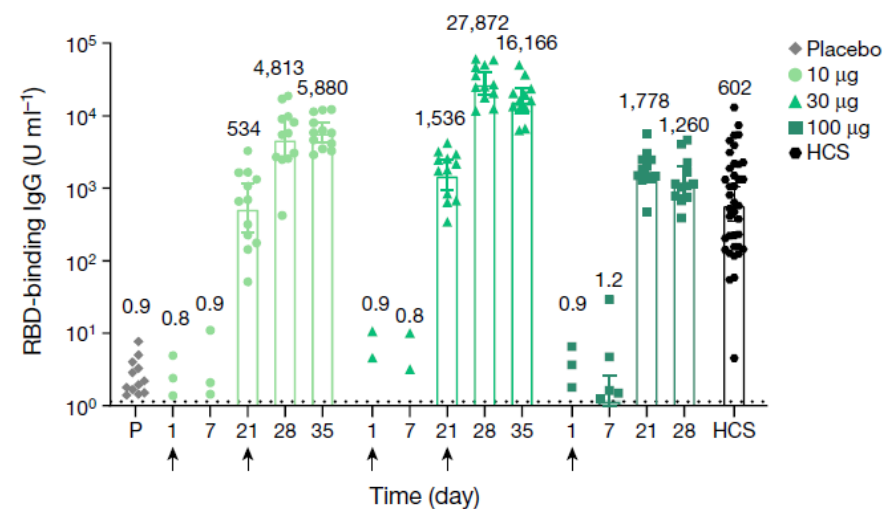
Accepted: 4 August 2020

Published online: 12 August 2020

[Check for updates](#)

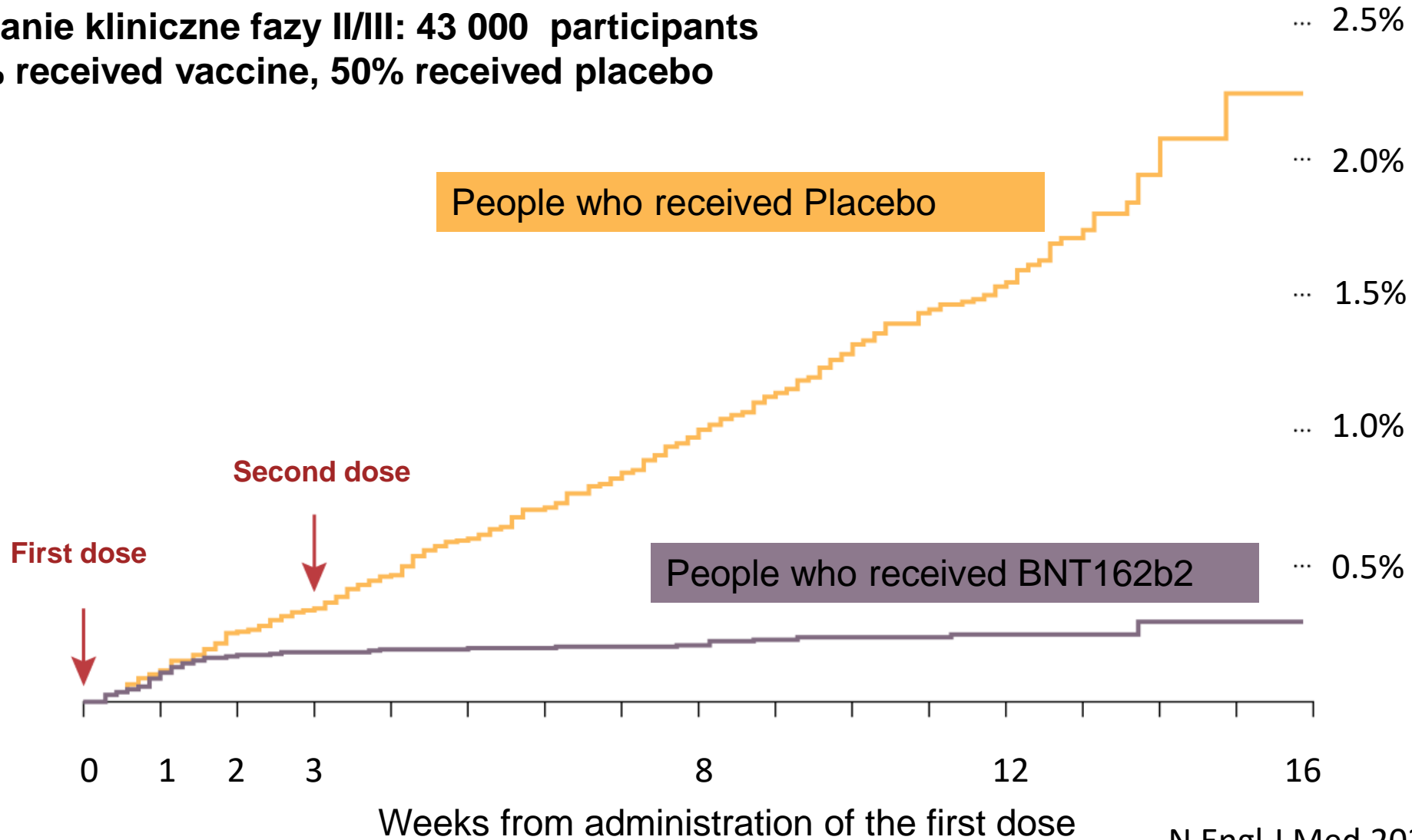
Mark J. Mulligan^{1,2,12}, Kirsten E. Lyke^{3,12}, Nicholas Kitchin^{4,12}, Judith Absalon^{5,12}, Alejandra Gurtman⁵, Stephen Lockhart⁴, Kathleen Neuzil³, Vanessa Raabe^{1,2}, Ruth Bailey⁴, Kena A. Swanson⁵, Ping Li⁵, Kenneth Koury⁵, Warren Kalina⁵, David Cooper⁵, Camila Fontes-Garfias⁷, Pei-Yong Shi⁷, Özlem Türeci⁸, Kristin R. Tompkins⁵, Edward E. Walsh^{9,10}, Robert Frenck¹¹, Ann R. Falsey^{9,10}, Philip R. Dormitzer⁵, William C. Gruber⁵, Uğur Şahin⁶ & Kathrin U. Jansen⁵

In March 2020, the World Health Organization (WHO) declared coronavirus disease 2019 (COVID-19), which is caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2)¹, a pandemic. With rapidly accumulating numbers of cases and deaths reported globally², a vaccine is urgently needed. Here we report the available safety, tolerability and immunogenicity data from an ongoing placebo-controlled, observer-blinded dose-escalation study (ClinicalTrials.gov identifier NCT04368728) among 45 healthy adults (18–55 years of age), who were randomized to receive 2 doses—separated by 21 days—of 10 µg, 30 µg or 100 µg of BNT162b1. BNT162b1 is a lipid nanoparticle-formulated, nucleoside-modified mRNA vaccine that encodes the

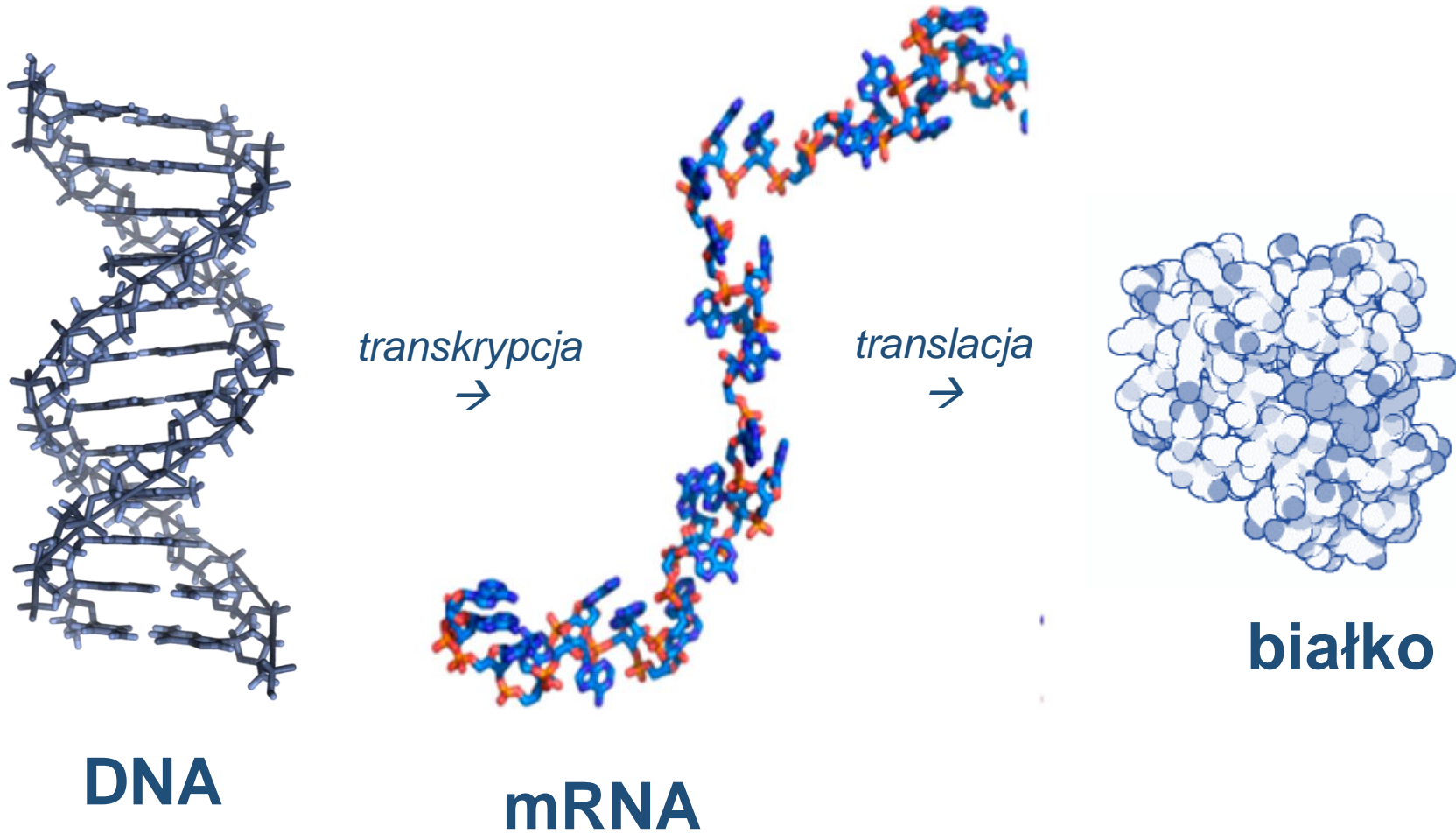


Skuteczność szczepionki Comirnaty

Badanie kliniczne fazy II/III: 43 000 participants
50% received vaccine, 50% received placebo



Ekspresja genów



Ekspresja genów



DNA
instruckja

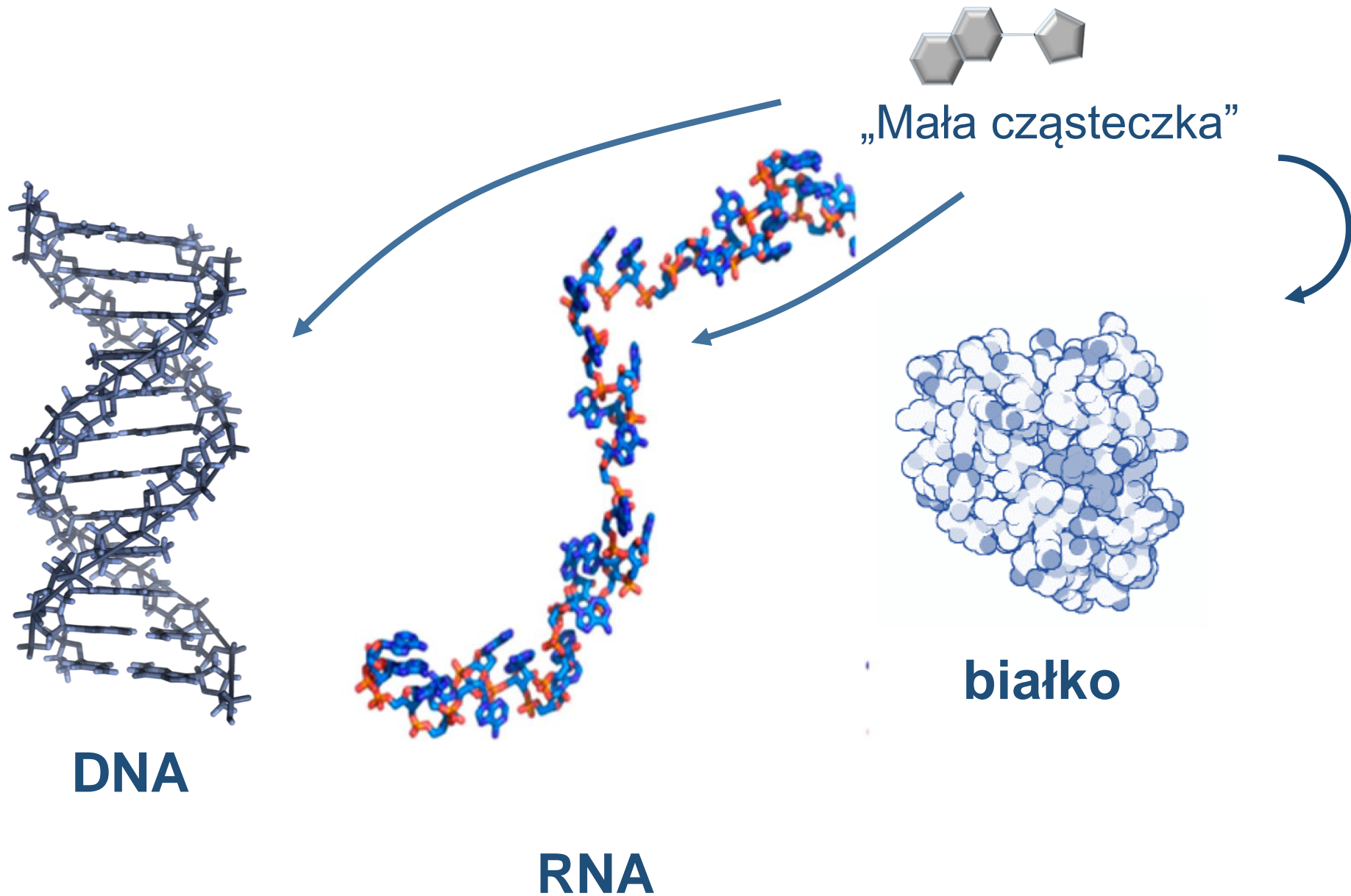


RNA
zużywalna kopia

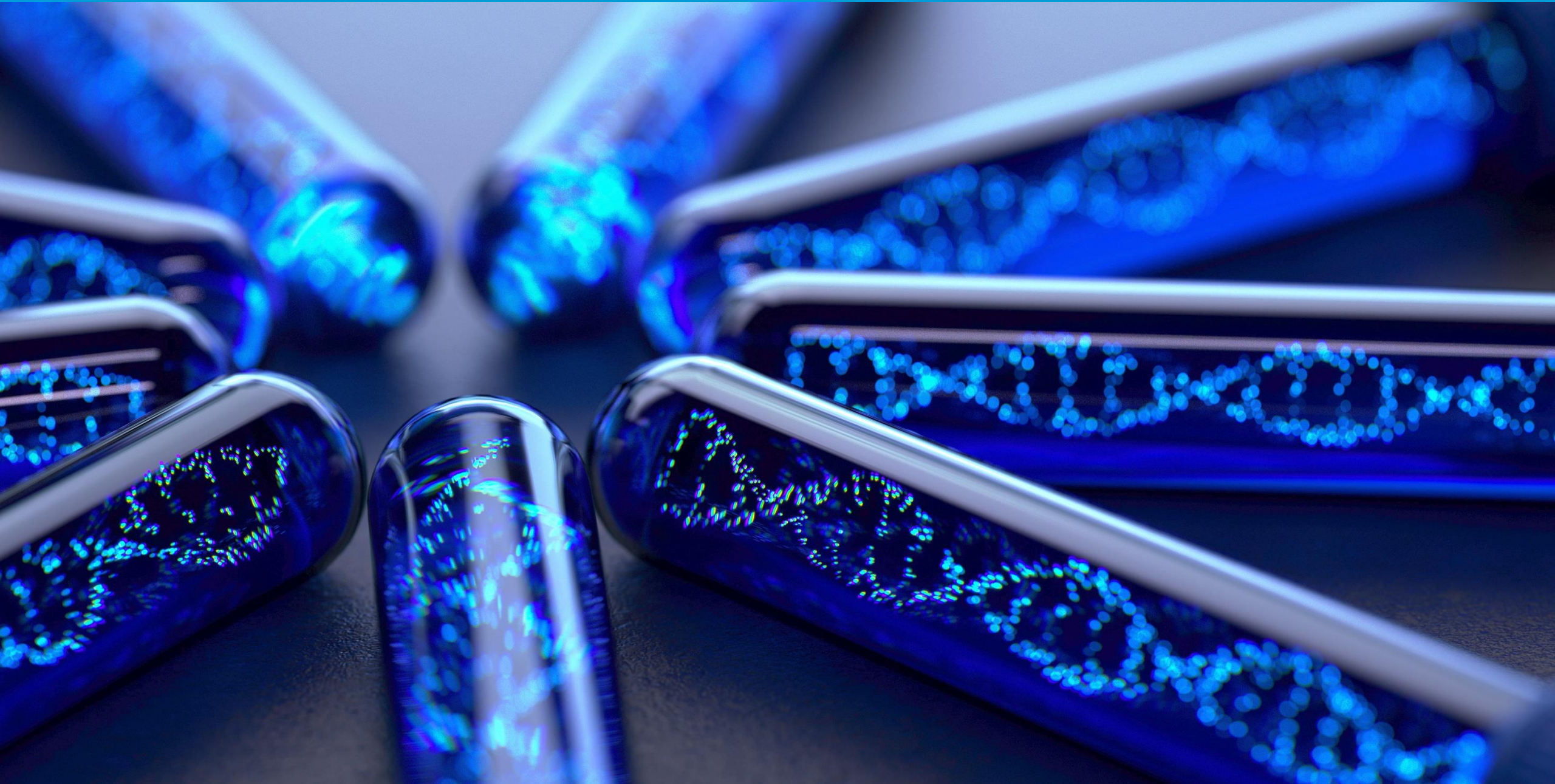


białko
produkt

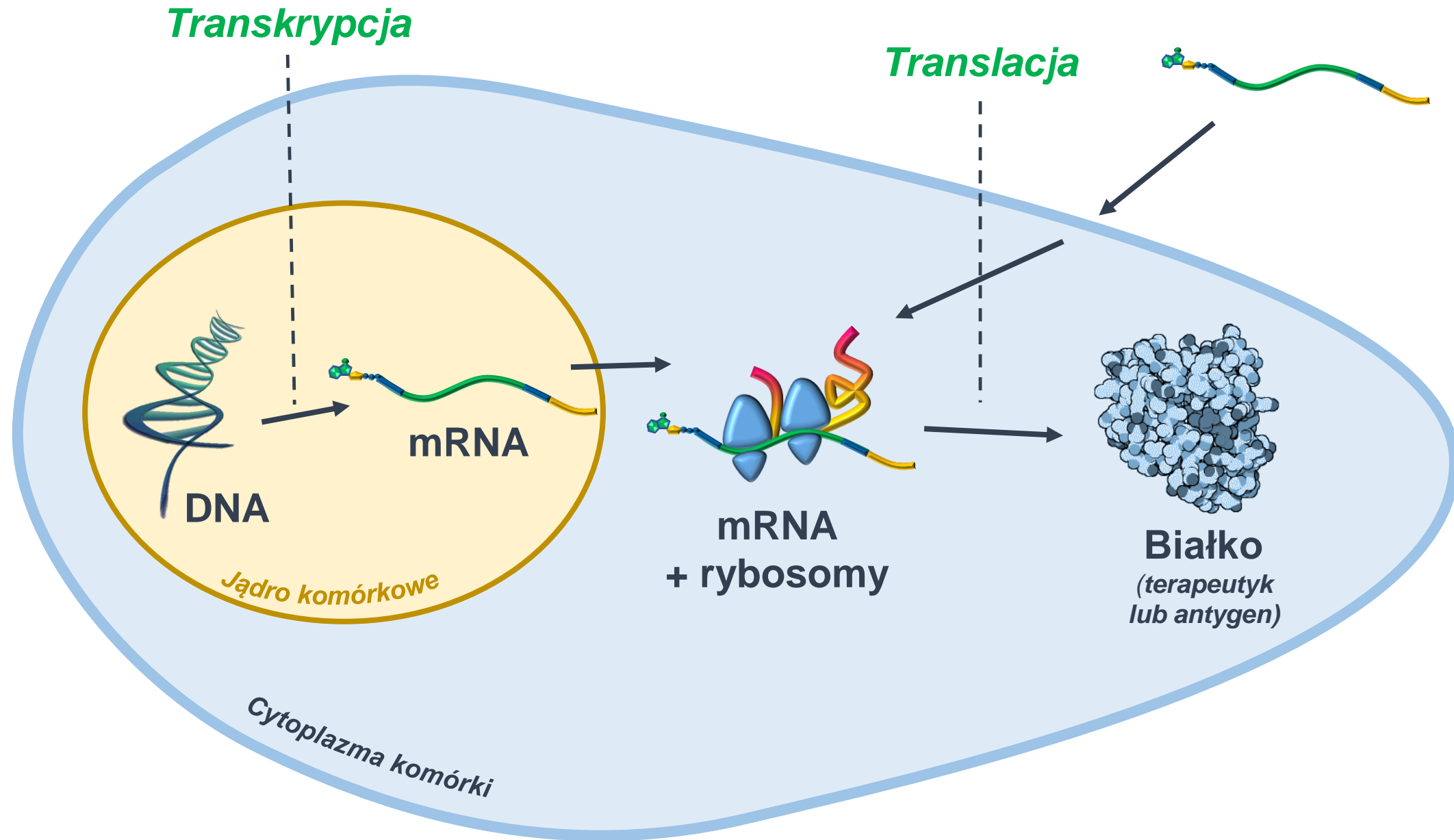
Jak działa „typowy” lek



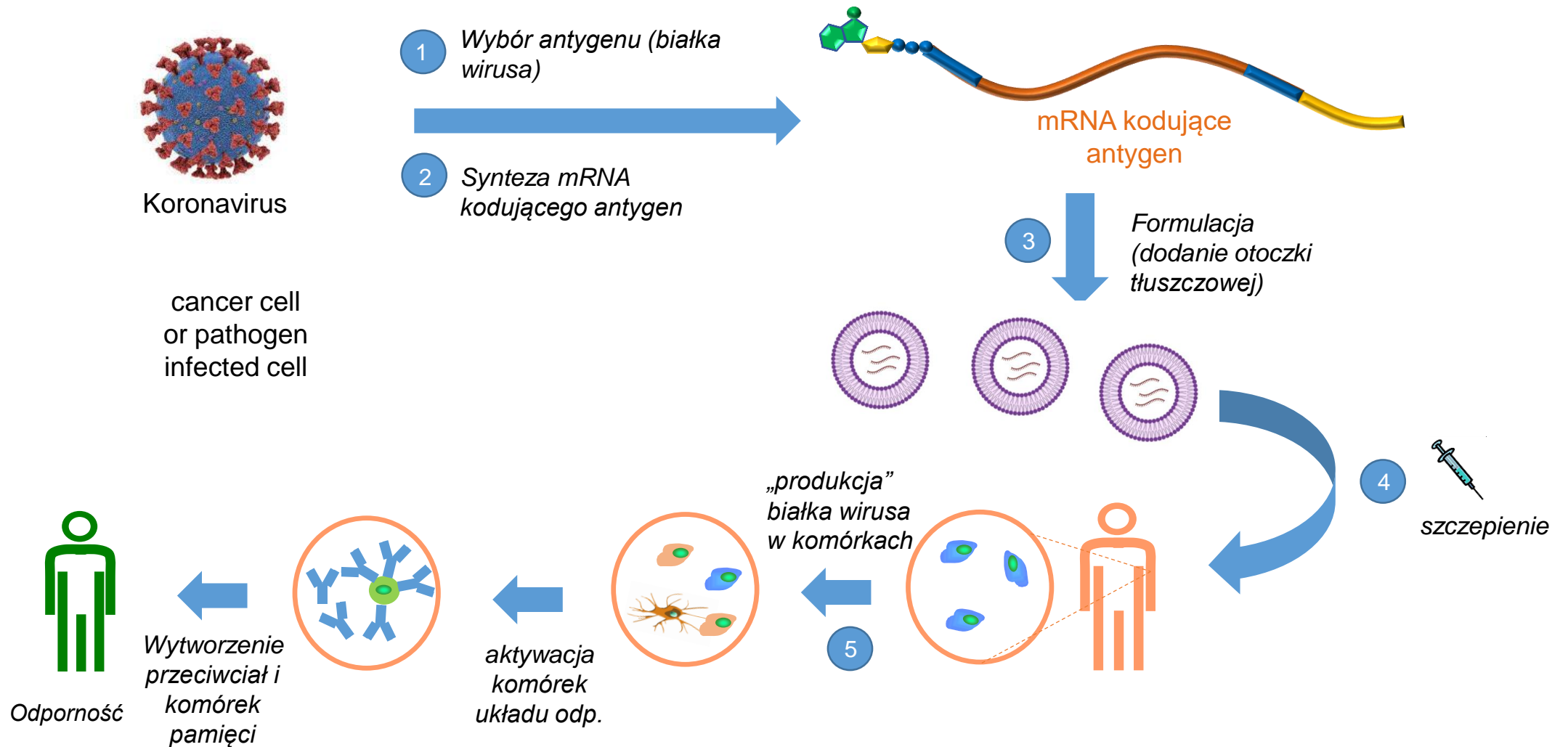
Terapia genowa oparta na mRNA



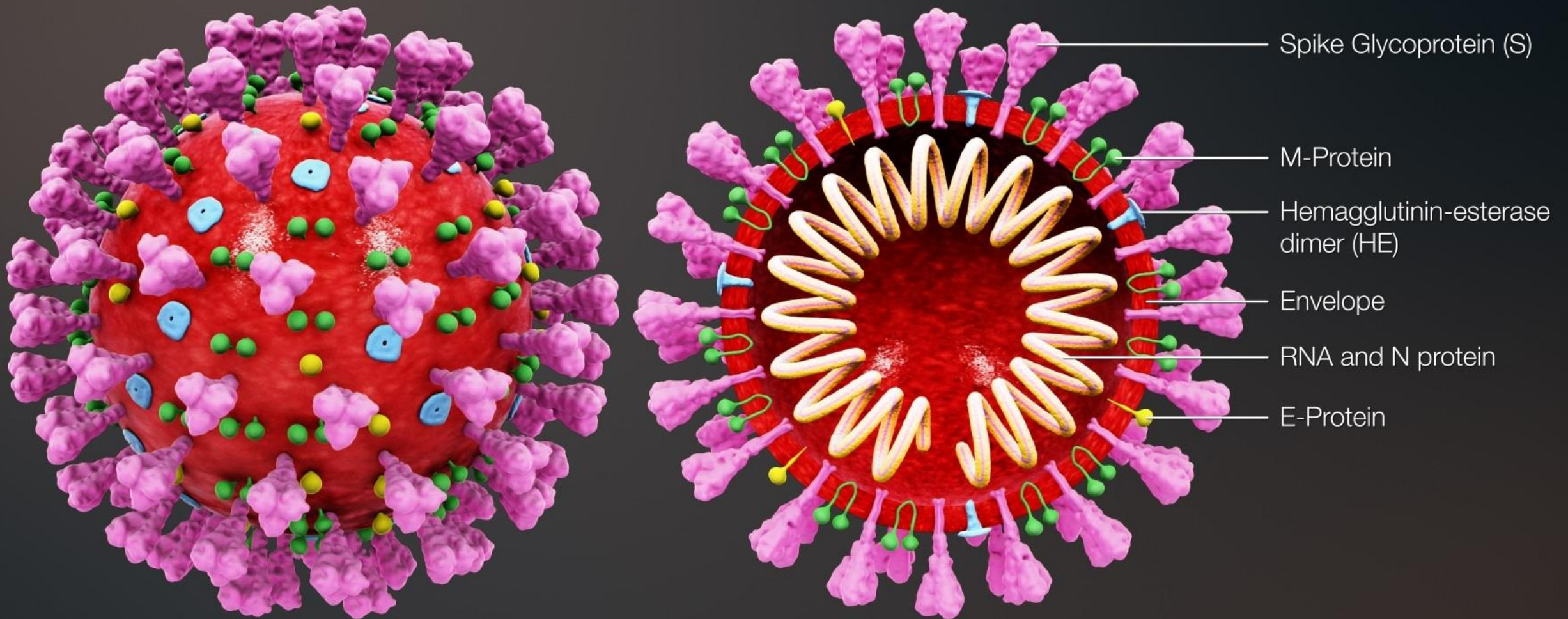
Terapia genowa oparta na mRNA



Jak działają szczepionki mRNA na koronawirusa?

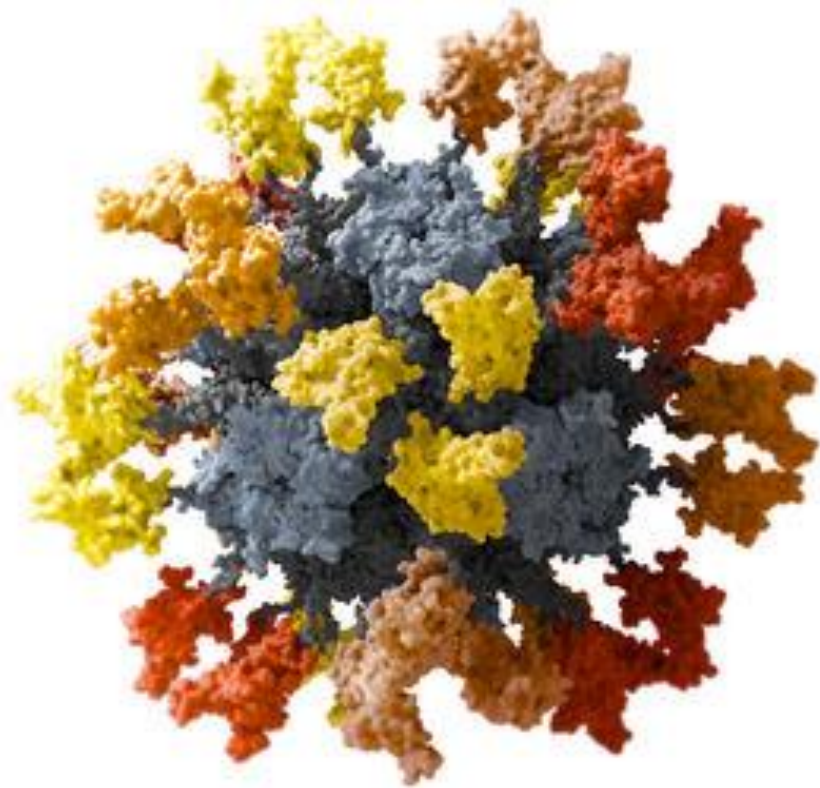


Które białko wybrać?



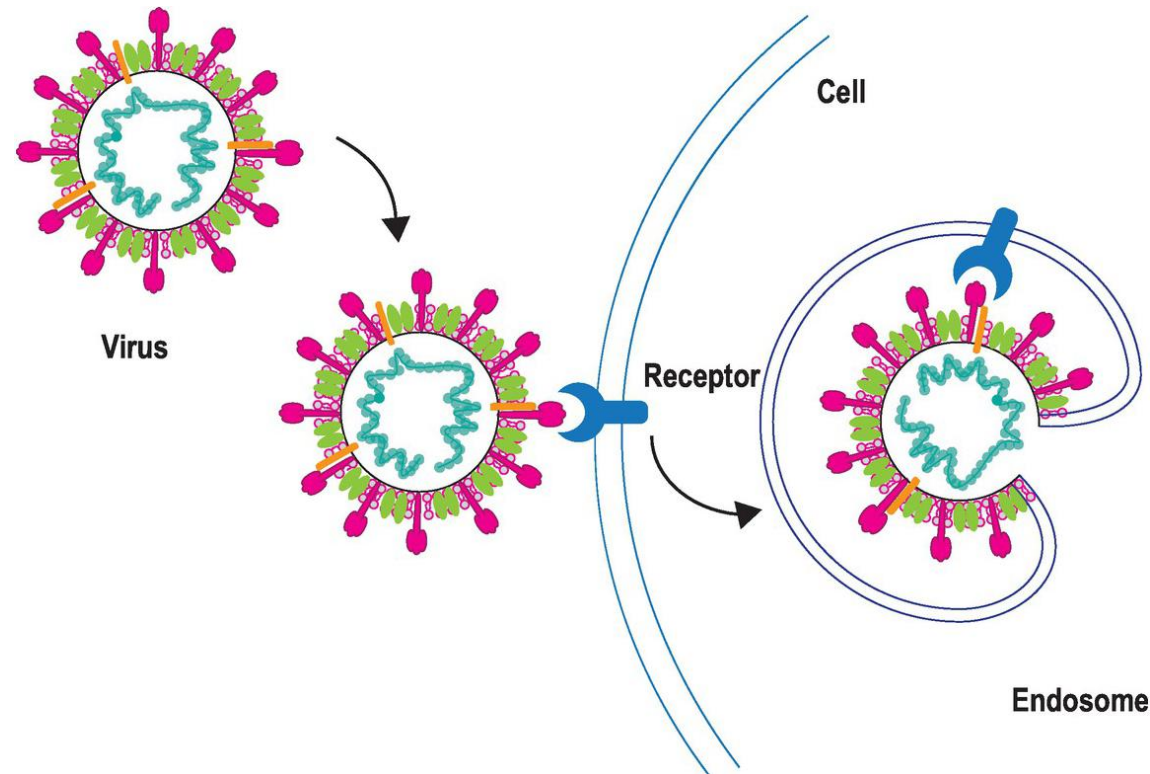
Genom **SARS-CoV-2** zawiera 29,811 nukleotydów, **koduje 29 białek**

Białko kolca jest eksponowane na powierzchni wirusa



Białko S łączy się z receptorem ACE-2...

...umożliwiając wirusowi wejście do komórki

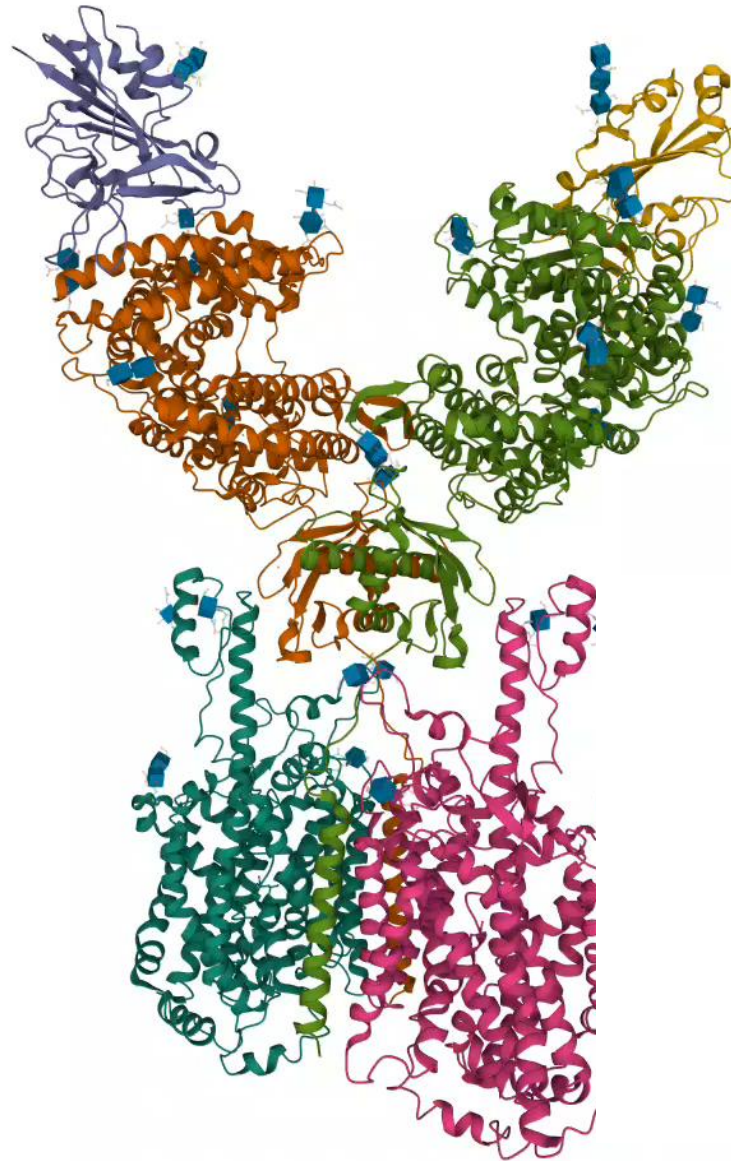


Rabadan, R. (2020). What Is a Coronavirus? In *Understanding Coronavirus* (Understanding Life, pp. 21-32). Cambridge: Cambridge University Press. doi:10.1017/9781108920254.003

Liczne mutacje białka kolca mogą prowadzić to utraty aktywności

Released: 2020-03-11 !!!

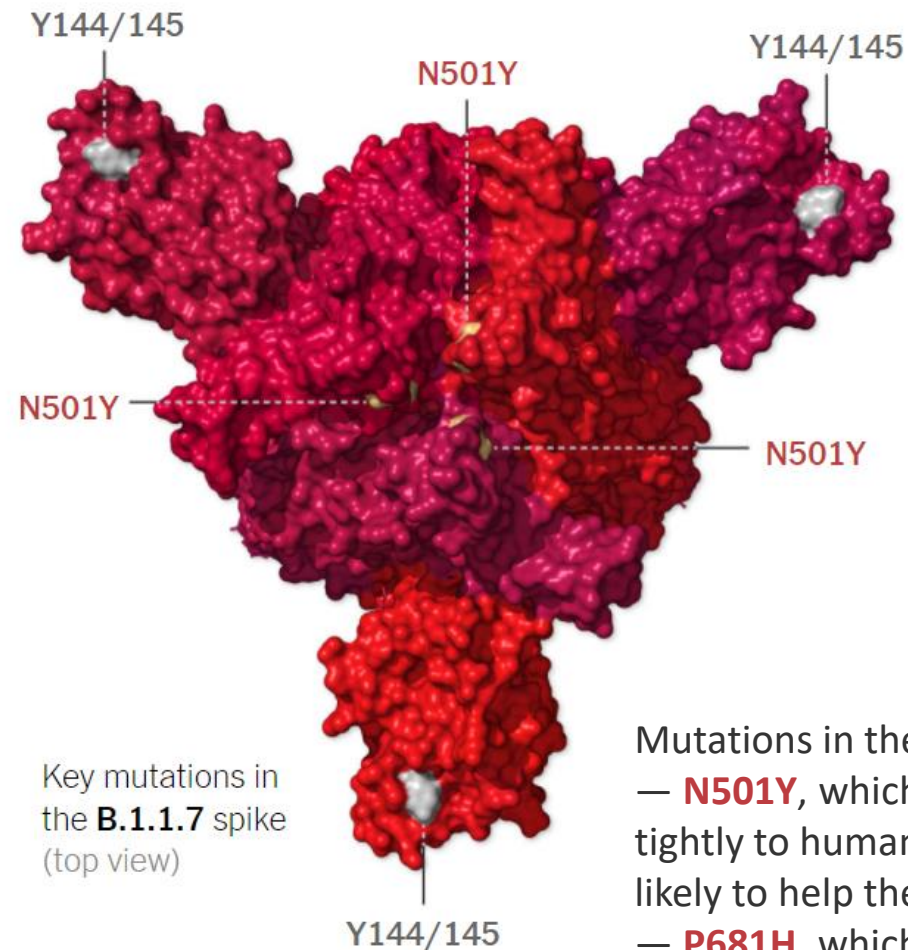
Pdb:6M17



Co z wariantami?

- Wirus mutuje w sposób przypadkowy
- Większość mutacji nie ma wpływu na działanie wirusa
- Najgroźniejsze są mutacje, które ułatwiają wirusowi wnikanie do komórek (np. poprzez zwiększenie produkcji białka S lub zwiększenie powinowactwa do ACE-2) lub zmieniają kształt białka S, co może utrudnić rozpoznanie przez przeciwciała

Jeśli znamy sekwencję zmutowanego białka S, nową wersję szczepionki na bazie mRNA można wyprodukować w 4 tygodnie!



<https://www.nytimes.com/interactive/2021/health/coronavirus-variant-tracker.html>

Mutations in the spike protein include:

- **N501Y**, which helps the virus latch on more tightly to human cells. But the mutation is not likely to help the virus evade current vaccines.
- **P681H**, which may help infected cells create new spike proteins more efficiently.
- The **H69–V70** and **Y144/145** deletions, which alter the shape of the spike and may help it evade some antibodies.

mRNA to nie tylko szczepionka na koronawirusa

- Szczepionki na Zika, wściekliznę, grypę, HIV
- Jednogenowe choroby genetyczne (np. mukowiscydoza, hemofilia B, choroby metaboliczne)
- Immunoterapie onkologiczne („szczepionki” przeciwnowotworowe)
- Medycyna regeneracyjna (np. w kardiologii)
- Dostarczanie białek trwale edytujących genom



Białko wirusa

Białko, którego brak

Białko charakterystyczne dla nowotworu

Białko - czynnik wzrostu

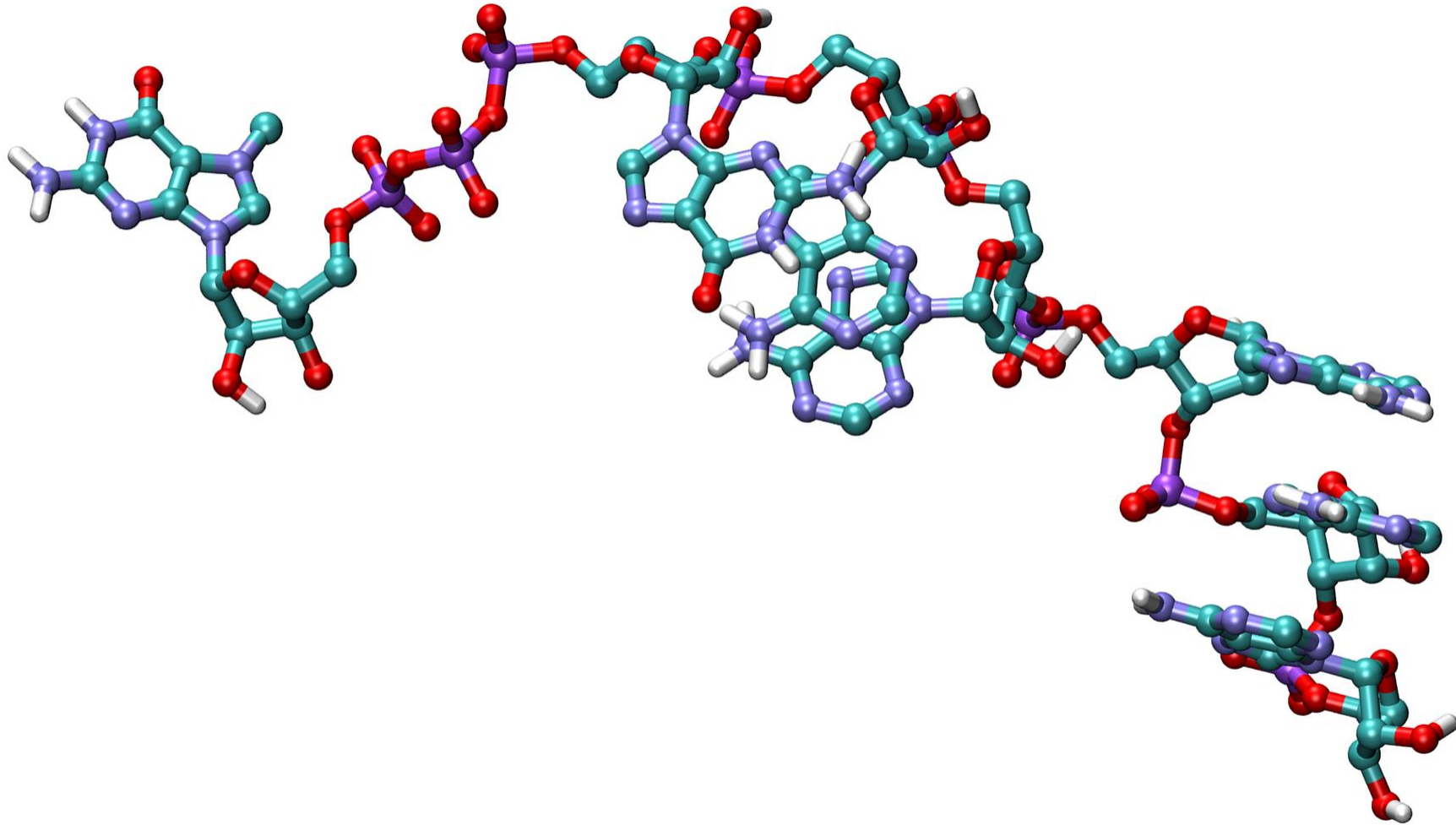
Białko – nukleaza (np. Cas 9)

Jak ulepszyć terapeutyczne mRNA?

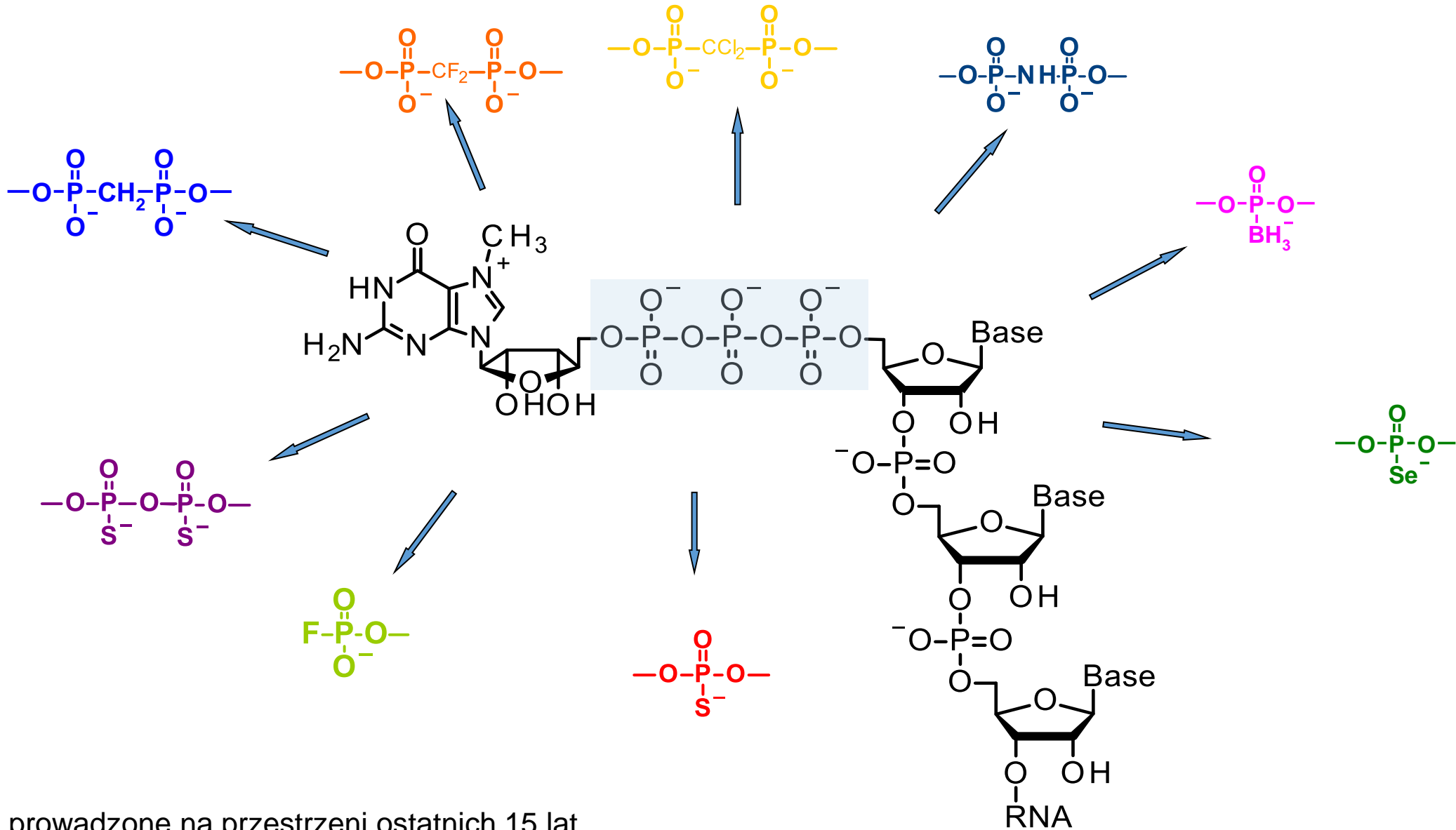
WYZWANIA: *Trwałość, wydajność biosyntezy białka, łatwość produkcji*



Kap chroni mRNA i umożliwia biosyntezę białka

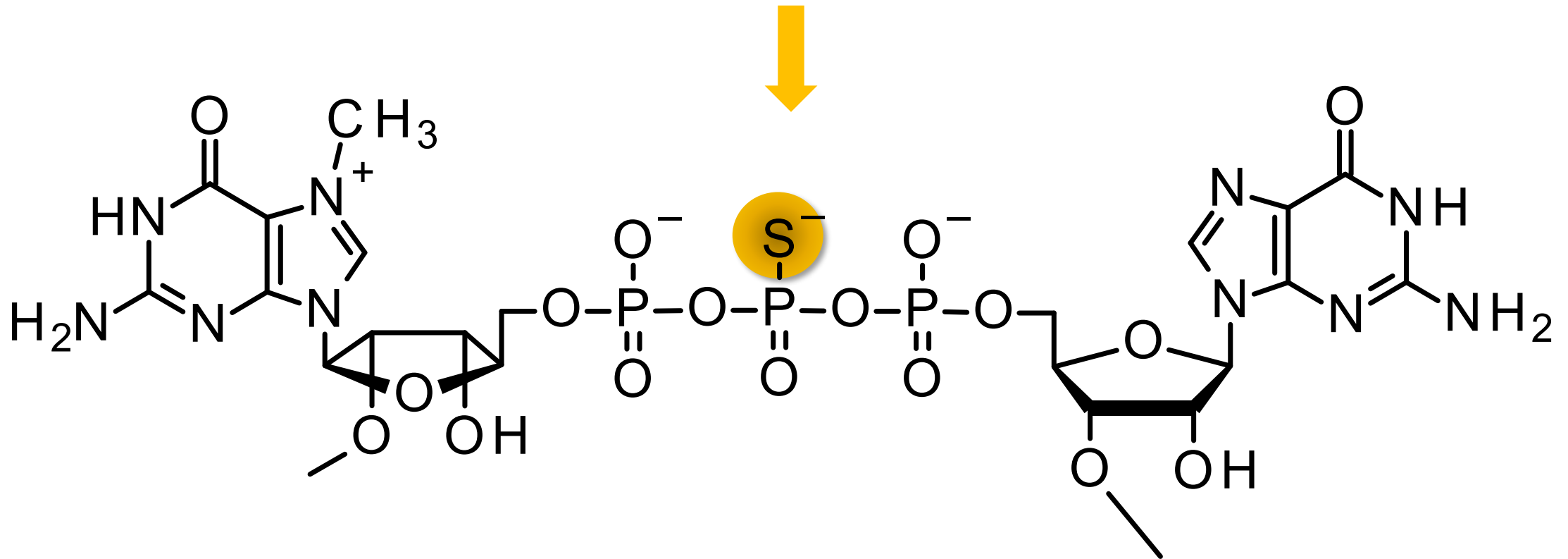


Analogi kapy opracowane w Laboratorium Chemii Bioorganicznej



Badania prowadzone na przestrzeni ostatnich 15 lat

β -S-ARCA



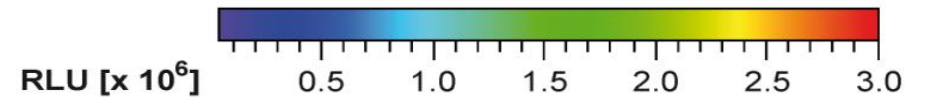
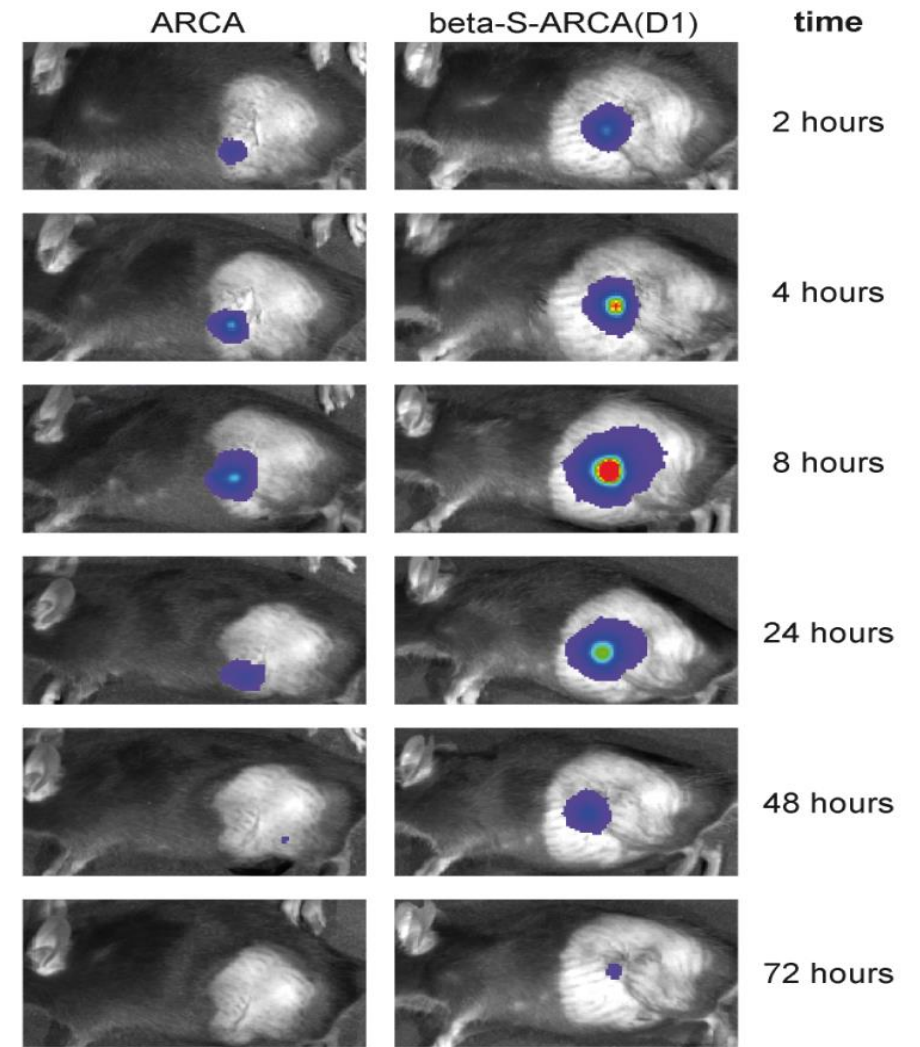
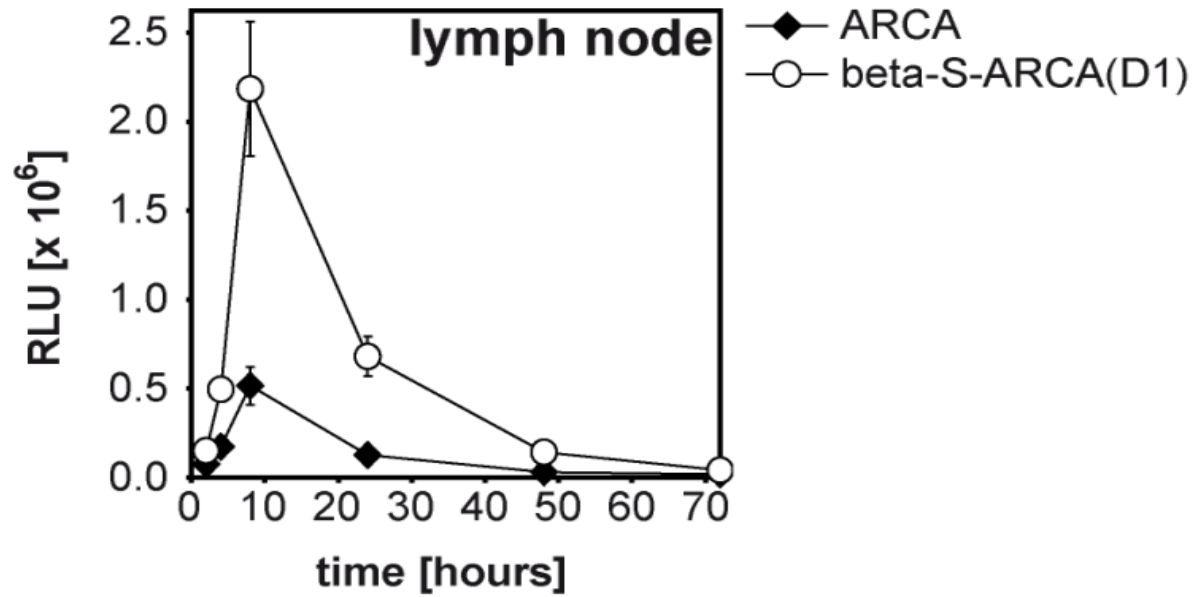
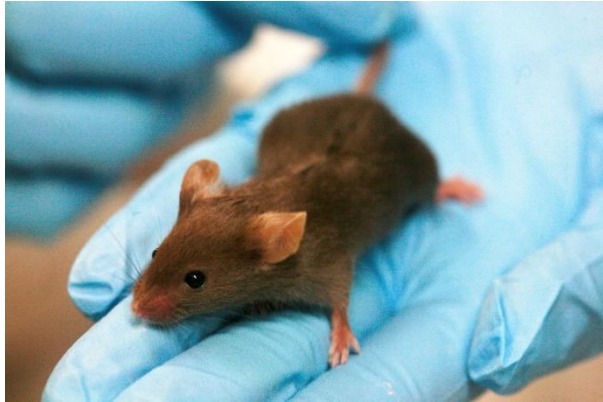
Zamiana jednego atomu w mRNA kilkakrotnie
zwiększa trwałość i biosyntezę białka w komórkach!!!

Grudzien-Nogalska et al. *RNA*, 2007, 13 (10), 1745-1755

Kowalska et al. *RNA*, 2008 14 (6), 1119-1131

Jemielity et al. patent application 2007

β -S-ARCA zwiększa aktywność mRNA *in vivo*



Współpraca z grupą U. Sahina, University of Mainz & BioNTech

Kuhn AN et al. *Gene therapy* 2010, 17 (8), 961-971

Badania kliniczne z udziałem β -S-ARCA

- **RBL001/RBL002 Phase I Clinical Trial (MERIT) (2012-2015)**

Melanoma: 29 participants

- **IVAC MUTANOME Phase I Clinical Trial (2014-2019)**

Melanoma: 15 participants

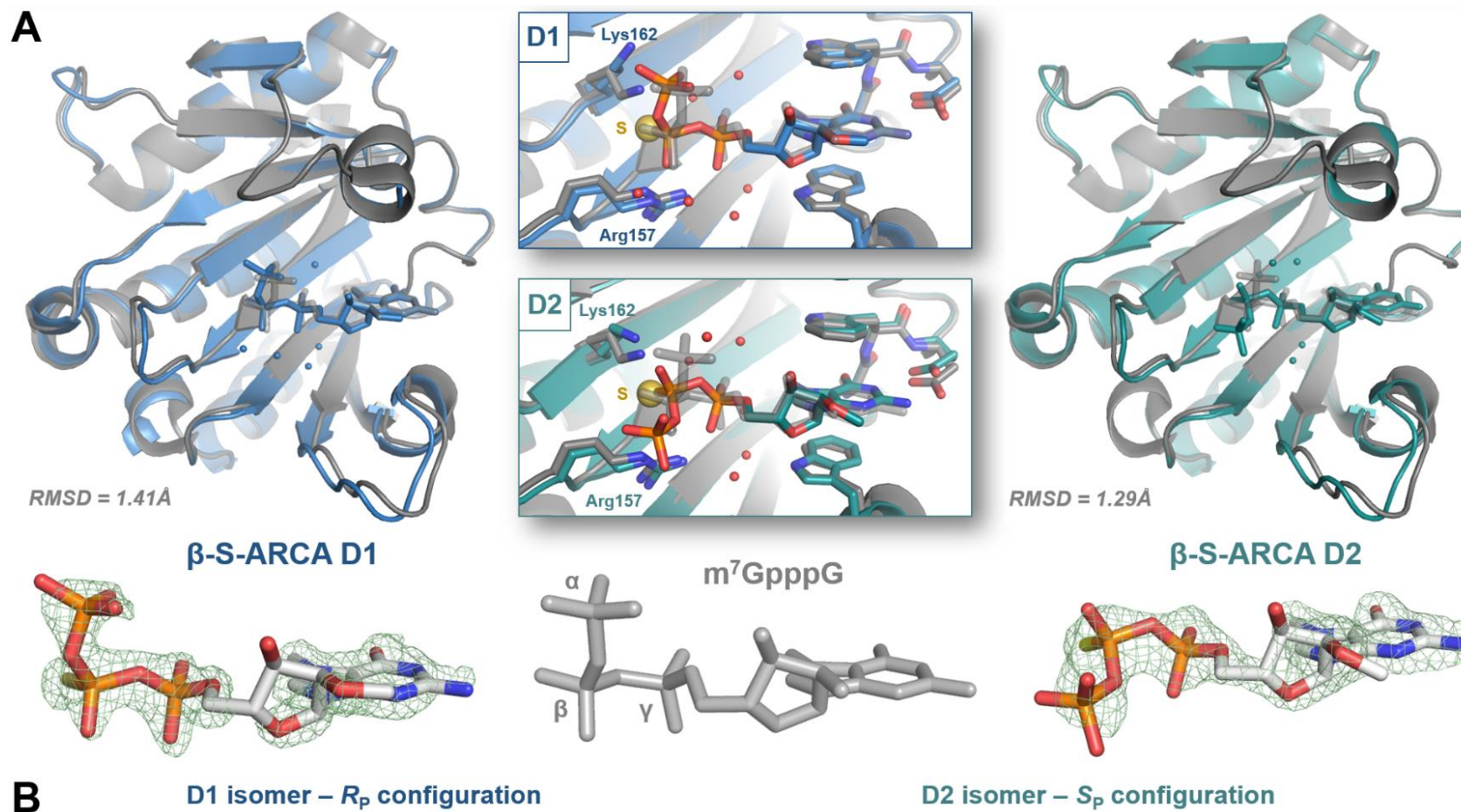
- **Evaluation of the Safety and Tolerability of i.v. Administration of a Cancer Vaccine in Patients With Advanced Melanoma - Lipo-MERIT, Phase I Clinical Trial (2015-2022)**

Melanoma: 119 participants

- **and 11 more**

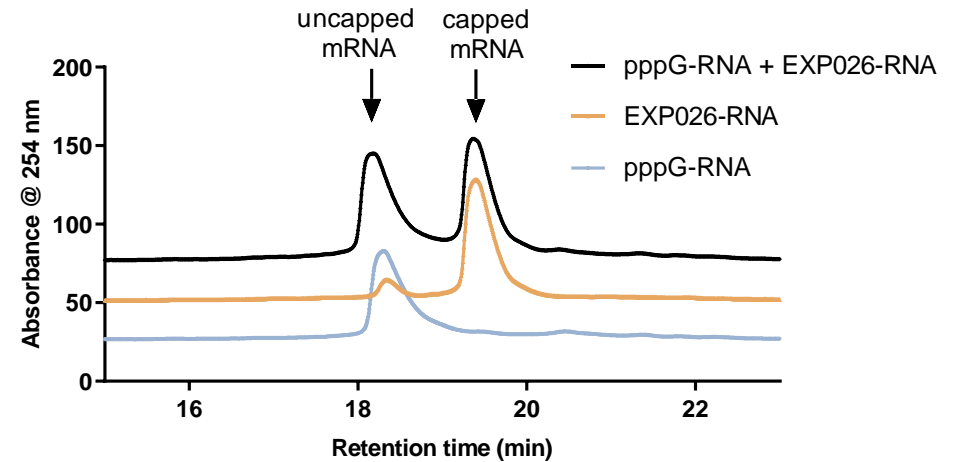
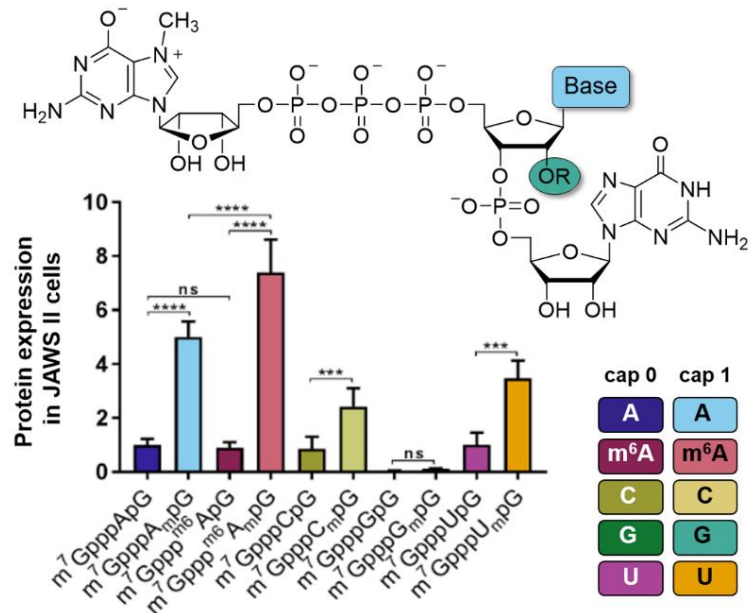
Co dalej?

Z czego wynikają szczególne właściwości β -S-ARCA ?



Co dalej?

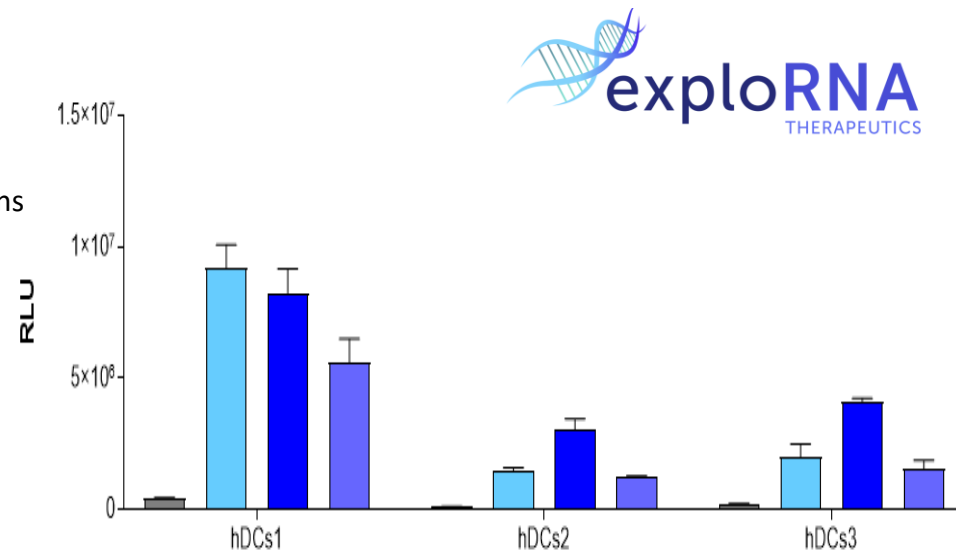
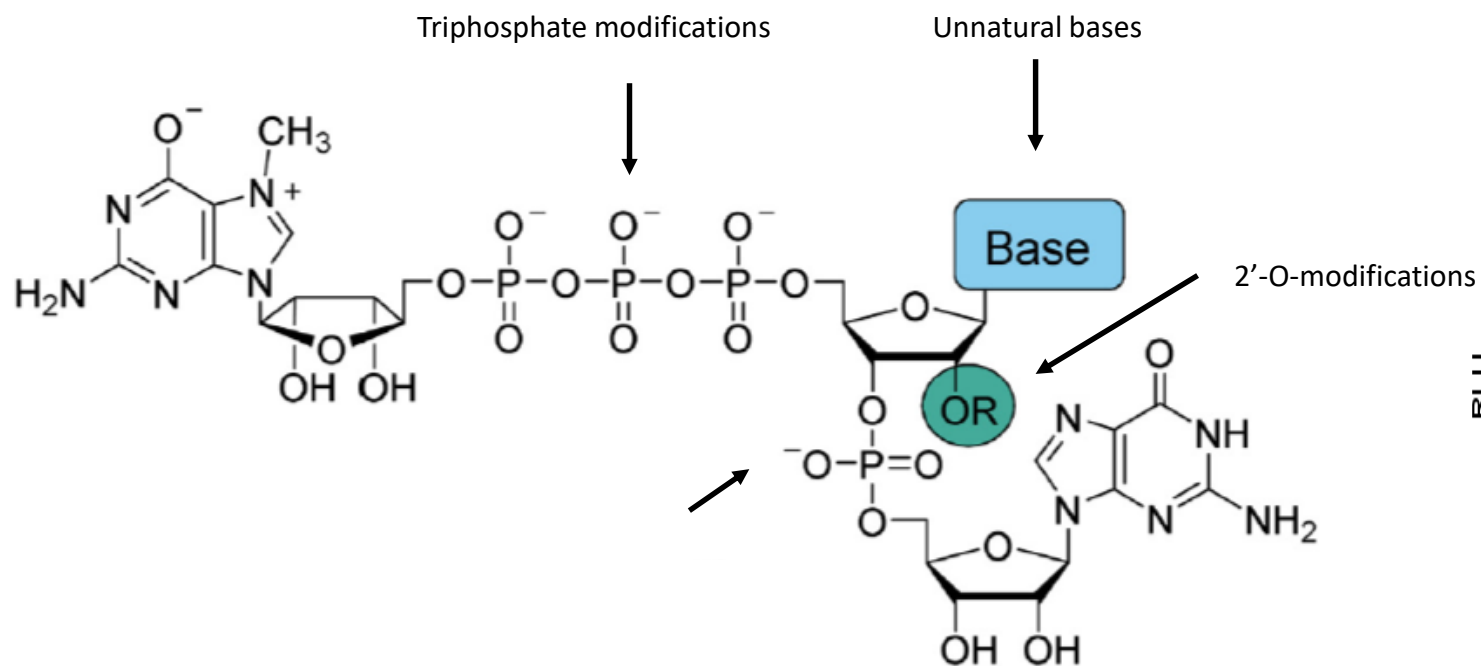
Szukamy nowych analogów o ulepszonych właściwościach



- Modyfikacje „wewnętrzne” w mRNA
- Modyfikacje końca 3'

Co dalej?

Szukamy nowych analogów o ulepszonych właściwościach

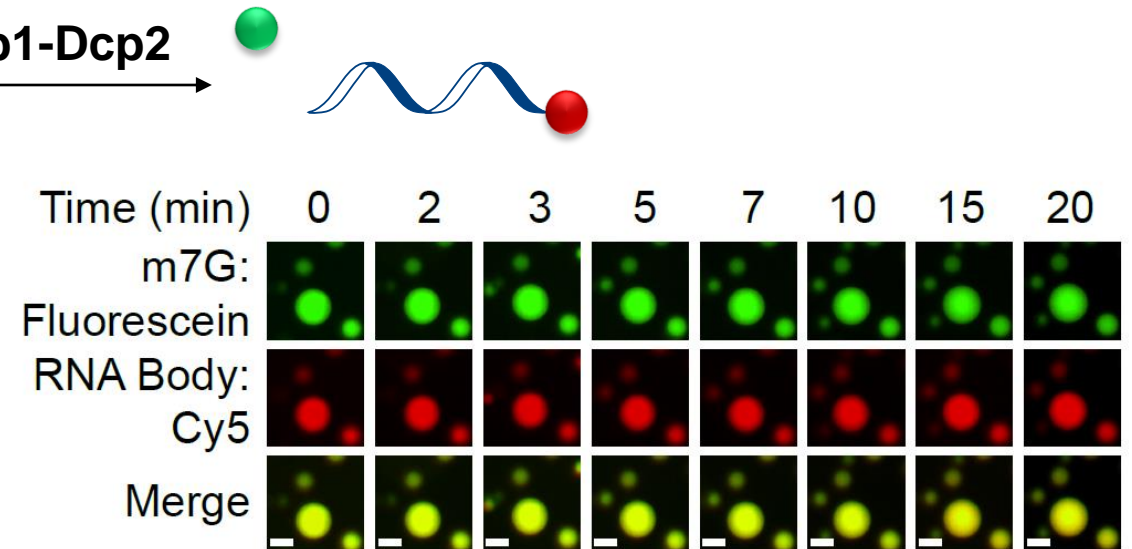
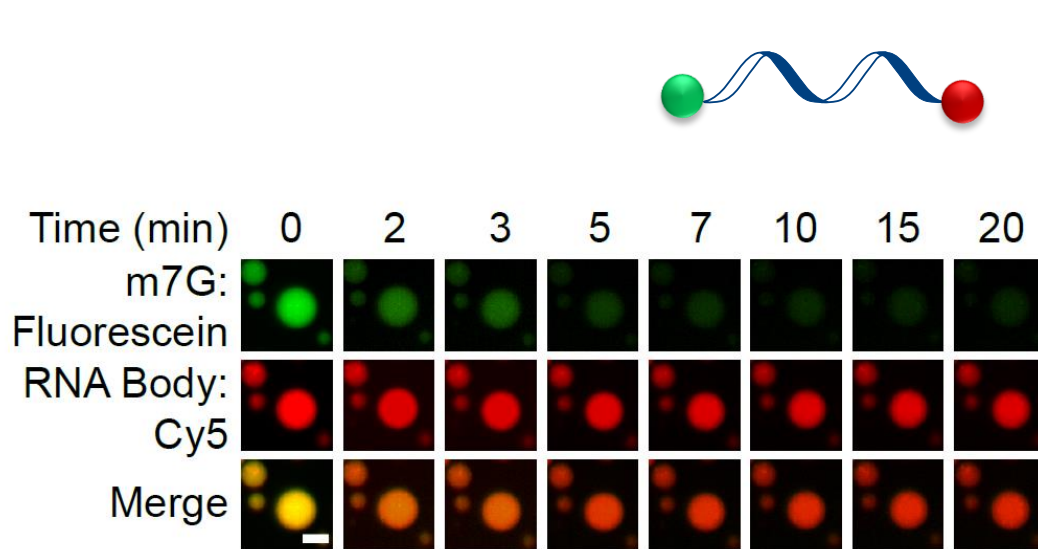
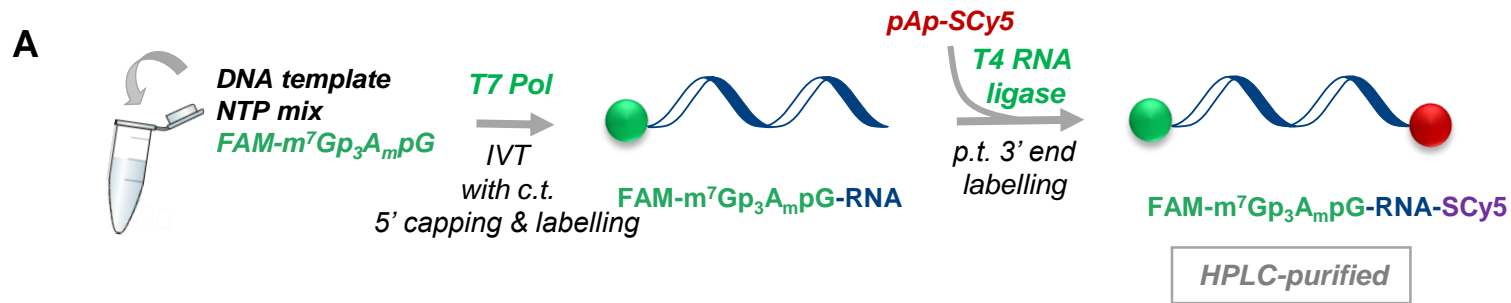


Co dalej?

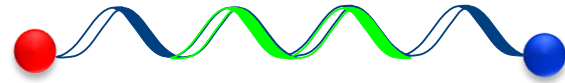
Szukamy sposobów na „podglądanie” terapeutycznych mRNA w komórce i in vivo



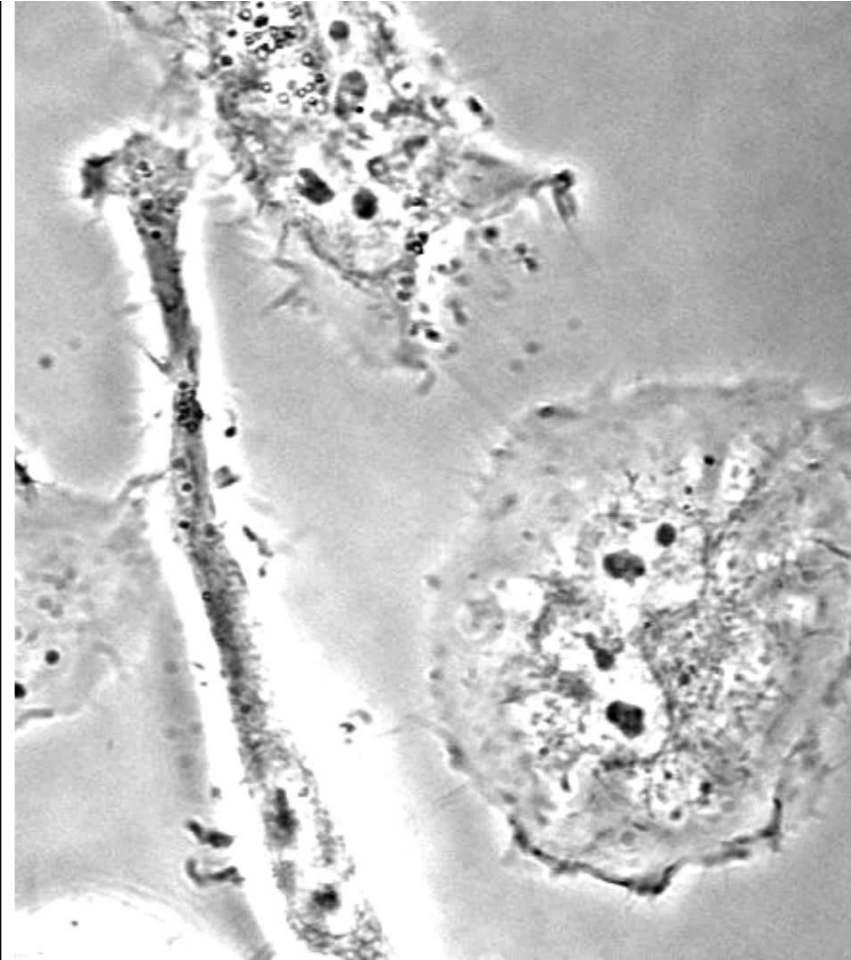
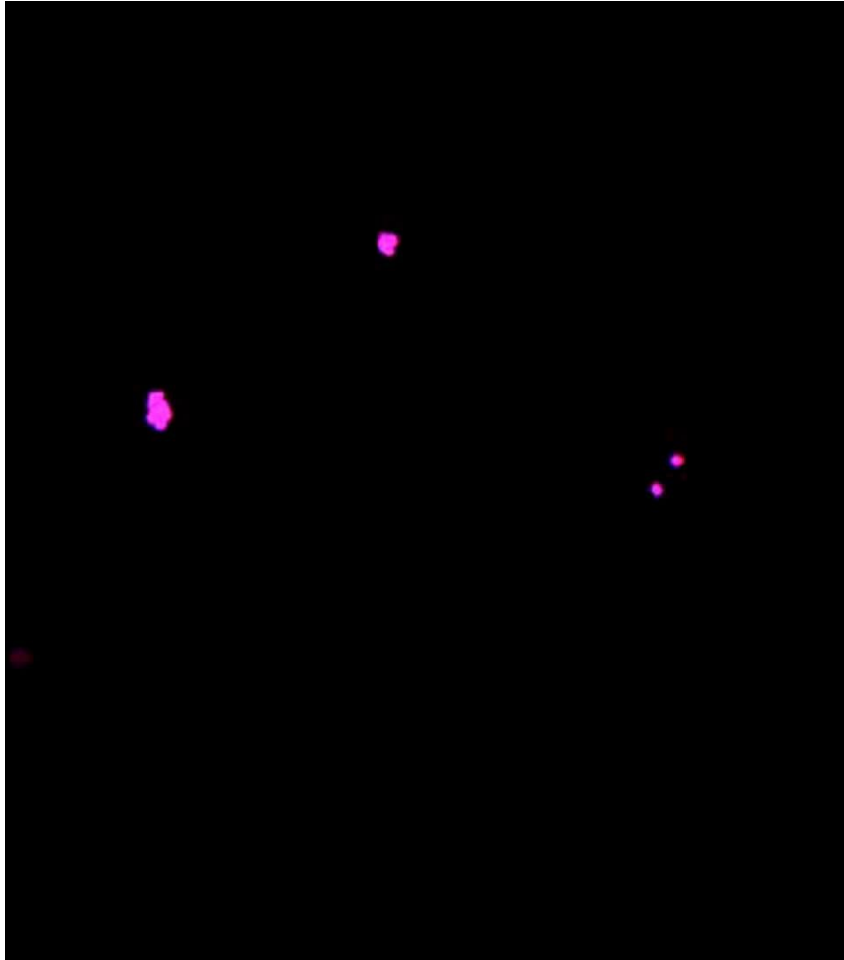
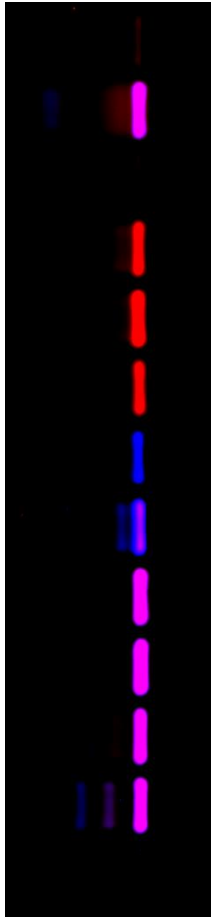
Badanie degradacji mRNA



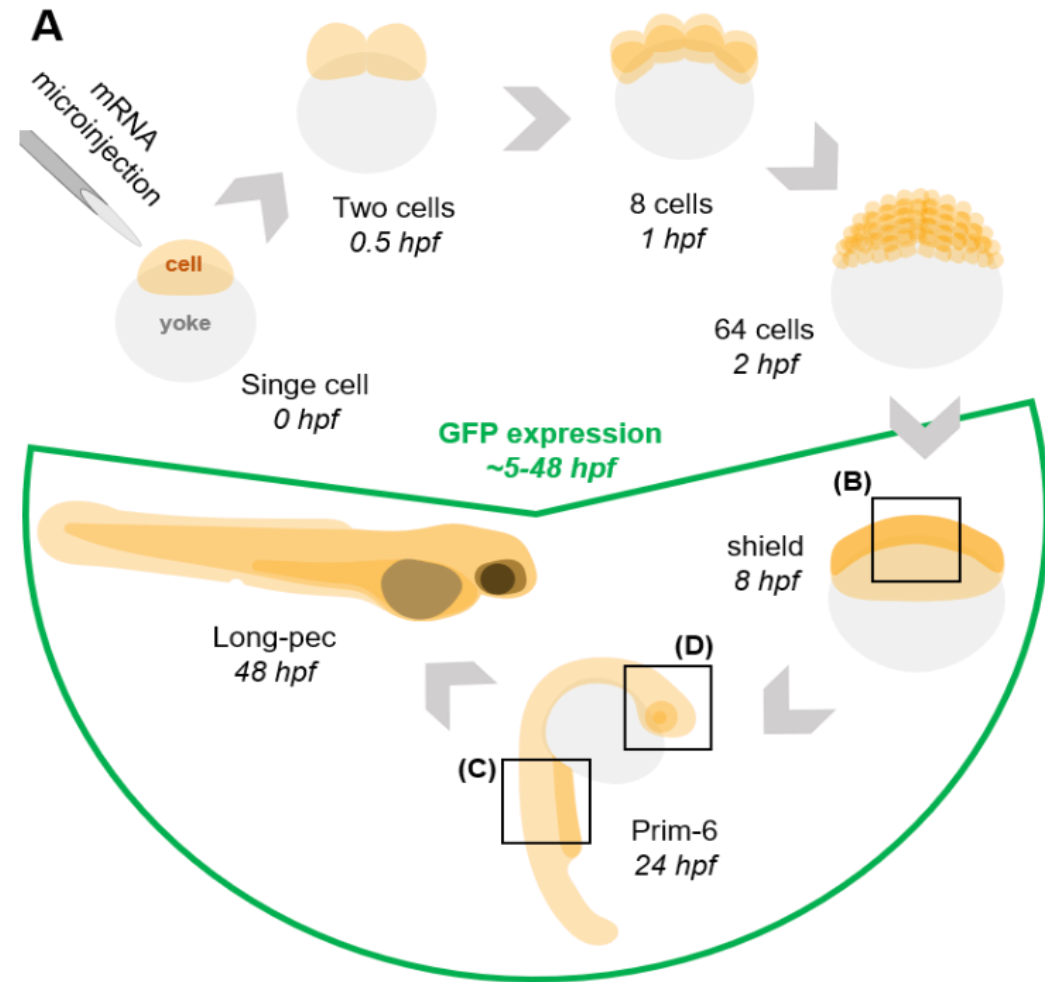
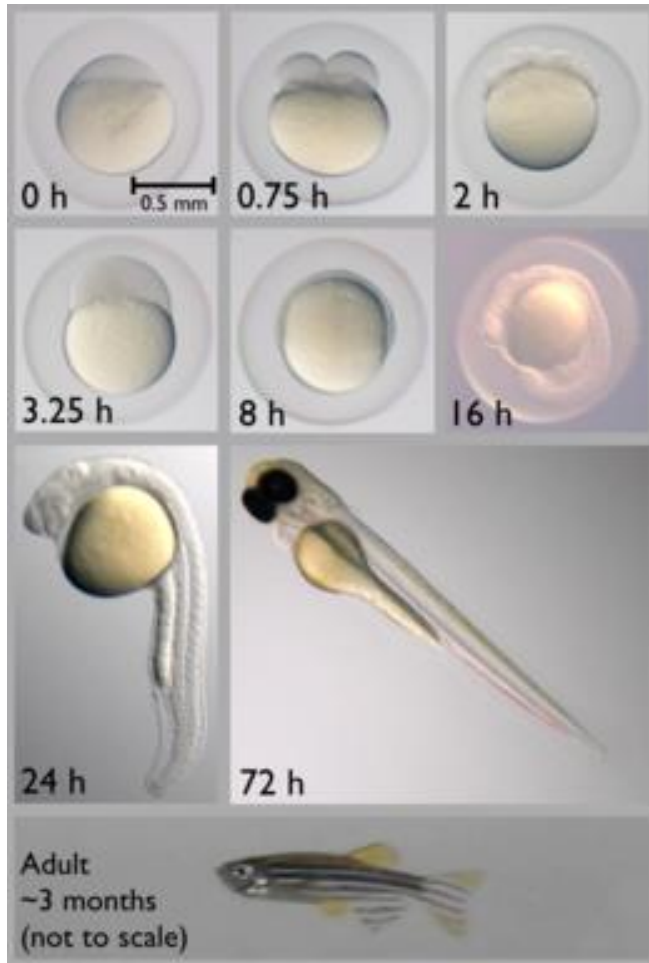
Śledzenie mRNA w komórce



Green Fluorescent Protein (GFP)

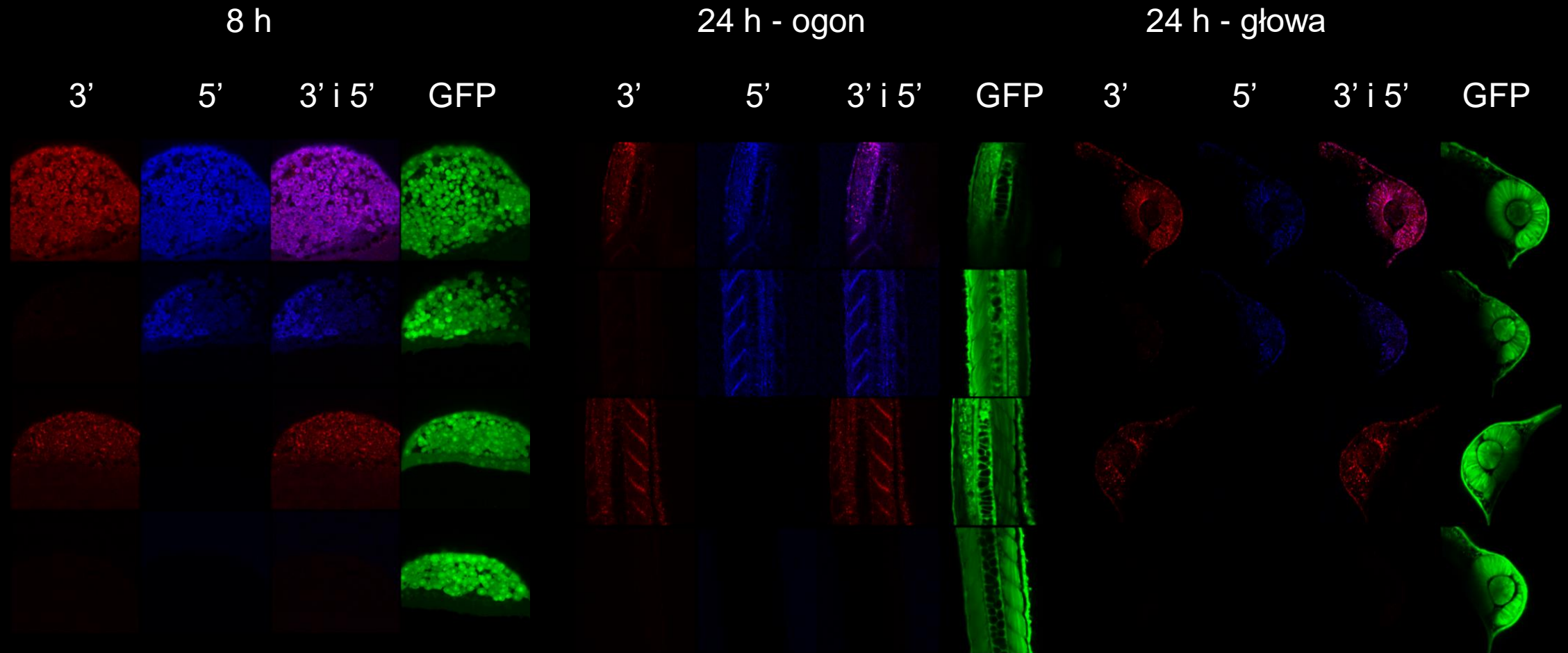


Śledzenie mRNA w organizmie?



<https://en.wikipedia.org/wiki/Zebrafish>

Jednoczesna obserwacja mRNA i białka w zarodku *D.reiro*





Collaboration with Aleksandra Siekierska, Univ. Lueven

NASZ ZESPÓŁ

*Zakład Biofizyki, IFD,
Wydział Fizyki UW*

Centrum Nowych Technologii UW



prof. Jacek JEMIELITY

Dr Mikołaj CHROMIŃSKI

Dr Anaix DEPAIX

Dr Karolina DRAŻKOWSKA

Dr Dorota KUBACKA

Dr Łukasz MARKIEWICZ

Dr Paweł SIKORSKI

Dr Mirosław ŚMIETAŃSKI

Dr Marcin WARMIŃSKI

Dr Błażej WOJTCZAK

Mgr Sebastian CHMIELIŃSKI

Mgr Karolina KACZMARSKA

Mgr Marek BARANOWSKI

Mgr Marcelina BEDNARCZYK

Mgr Renata KASPRZYK

Mgr Michał KOPCIAŁ

Mateusz KOZARSKI

Mgr Adam MAMOT

Mgr Agnieszka MŁYNARSKA

Mgr Anna NOWICKA

Mgr Olga PERZANOWSKA

Mgr Dominika STRZELECKA

Mgr Tomasz ŚPIEWŁA

Mgr Przemysław WANAT

Mgr Zofia WARMIŃSKA

Mgr Kamil ZIEMKIEWICZ

Natalia BARAN

Mateusz FIDO

Sebastian GOŁOJUCH

Radosław WÓJCIK

A laboratory setup featuring three syringes filled with a pink liquid, mounted on a white frame. The syringes are positioned in front of a large window that offers a panoramic view of a city skyline with various skyscrapers and buildings under a clear blue sky. The scene is brightly lit, suggesting a sunny day. The syringes are connected to a network of clear plastic tubing. In the foreground, there are some blurred laboratory components, including what appears to be a round-bottom flask and a control panel with a small screen.

Dziękuję za uwagę