



КОМІСАРЕНКО
Сергій Васильович — академік НАН України, директор Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України



РОМАНЮК
Світлана Іванівна — кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

ПЕРЕМОГА мРНК-ВАКЦИН НАД ПАНДЕМІЄЮ КОРОНАВІРУСУ SARS-CoV-2, ЯКИЙ ВИКЛИКАЄ ЗАХВОРЮВАННЯ COVID-19, АБО ЯК СИНТЕТИЧНА мРНК ПРОСЛИЗНУЛА ПОВЗ ВРОДЖЕНИЙ ІМУННИЙ ЗАХИСТ КЛІТИНИ

Нобелівська премія
з фізіології або медицини 2023 року

Нобелівську премію з фізіології або медицини у 2023 р. присуджено двом вченим: угорсько-американському біохіміку Каталін Каріко (Katalin Karikó) та американському імунологу Дрю Вайсману (Drew Weissman) з Пенсільванського університету в Філадельфії (Каталін Каріко одночасно працює в Угорщині в Сегедському університеті) «за відкриття щодо модифікацій нуклеозидних основ, які дозволили розробити ефективні мРНК-вакцини проти COVID-19». Як зазначено у пресрелізі Нобелівського комітету, відкриття цьогорічних нобелівських лауреатів мали вирішальне значення для створення ефективних мРНК-вакцин проти COVID-19 під час пандемії, що трапилася на початку 2020 р. Їхні революційні відкриття, які фундаментально змінили наше розуміння того, як мРНК взаємодіє з імунною системою, сприяли тому, що безпрецедентно швидко вдалося розробити вакцини для боротьби з однією з найбільших за останній час загроз здоров'ю людини.

Ключові слова: Нобелівська премія з фізіології або медицини 2023 року, Каталін Каріко, Дрю Вайсман, пандемія SARS-CoV-2, COVID-19, мРНК-вакцина.

2 жовтня 2023 р. Нобелівський комітет при Каролінському медичному інституті у Стокгольмі оголосив імена лауреатів Нобелівської премії з фізіології або медицини, розпочавши 122-й нобелівський тиждень. Компанія Clarivate (яка раніше називалася Clarivate Analytics) за аналізом кількості цитувань заздалегідь визначила імена найбільш імовірних претендентів на Нобелівську премію з фізіології або медицини 2023 р.¹

¹ Citation Laureates 2023. Physiology or Medicine. <http://surl.li/nlkxf>



Каталін Каріко і Дрю Вайсман на пресконференції після оголошення лауреатів Нобелівської премії з медицини. Філадельфія, 2 жовтня 2023 р. Фото: Mark Makela/AP

Це насамперед американці Карл Джун (Carl June) — професор імунотерапії відділу патології та лабораторної медицини, директор Центру клітинної імунотерапії Медичної школи Перельман при Пенсільванському університеті у Філадельфії, Стивен Розенберг (Steven Rosenberg) — керівник хірургічного відділення Центру дослідження раку Національного інституту раку в Бетесді (штат Меріленд) та Мішель Саделайн (Michel Sadelain) — директор Центру клітинної інженерії Меморіального онкологічного центру Слоуна—Кеттерінга в Нью-Йорку, які здійснили прорив у лікуванні раку за допомогою інженерії Т-клітин з химерними антигенними рецепторами (CAR T cells).

По-друге, ймовірним кандидатом на премію назвали американця Роба Найта (Rob Knight) — директора Центру мікробіомних інновацій Каліфорнійського університету в Сан-Дієго за проведення обчислювальних та експериментальних досліджень, які розкрили складні мікробні екосистеми людського організму.

По-третє, Нобелівську премію могли б отримати Еммануель Міньо (Emmanuel Mignot) — професор медицини сну відділу психіатрії та поведінкових наук Стенфордського університету (штат Каліфорнія), Кліффорд Сапер (Clifford Saper) — професор нейрології Медичного центру Бет Ізраель Діаконісса і Гарвард-

ської медичної школи в Бостоні (штат Массачусетс) та Масасі Янагісава (Masashi Yanagisawa) — директор Міжнародного інституту інтегративної медицини сну Цукубського університету (Японія), ад'юнкт-професор відділу молекулярної генетики Південно-західного медичного центру Техаського університету в Далласі (США) за генетичні та фізіологічні дослідження циклу сну/неспанья, а також відкриття важливих регуляторів сну гіпокретинів (орексинів), що зумовлюють виникнення нарколепсії — порушення, яке характеризується денними нападами раптового засинання.

Прогнози співробітників компанії Clarivate справдилися лише частково: вони помилилися щодо імен лауреатів, але вгадали, що місцем їхньої роботи є Медична школа імені Реймонда та Рут Перельман при Пенсільванському університеті у Філадельфії (США). Слід зауважити, що дотепер із Пенсільванським університетом були пов'язані долі 27 нобелівських лауреатів, зокрема 9 лауреатів Нобелівської премії з фізіології або медицини², а Медична школа Перельман, яка була заснована в 1765 р. і стала першою медичною школою в США, зараз налічує 49 тис. співробітників, має річний оборот \$11,1 млрд, а також відома своїми переломними досягненнями, такими як протиракова CAR-T-клітинна терапія³.

Отже, в 2023 р. лауреатами 114-ї Нобелівської премії з фізіології або медицини стали угорська дослідниця Каталін Каріко (Katalin Karikó) та американський вчений Дрю Вайсман (Drew Weissman). Секретар Нобелівської асамблеї Томас Перльман оголосив мотивування нагородження: вчених було відзначено цією престижною премією «за відкриття щодо модифікацій нуклеозидних основ, які дозволили розробити ефективні мРНК-вакцини проти COVID-19». Згідно з офіційним пресрелізом, «завдяки своїм новаторським відкриттям, які докорінно змінили наше розуміння того, як мРНК взаємодіє з імунною системою, лауреа-

² Katalin Karikó and Drew Weissman, Penn's Historic mRNA Vaccine Research Team, Win 2023 Nobel Prize in Medicine. <http://surl.li/nlkwu>

³ Penn Medicine. <http://surl.li/nllpl>

ти зробили внесок у безпрецедентні темпи розроблення вакцин під час однієї з найбільших загроз для здоров'я людини в наш час»⁴.

Церемонія нагородження лауреатів відбується за традицією 10 грудня у Стокгольмі в день смерті Альфреда Нобеля. У 2023 р. суму Нобелівської премії збільшили на 1 млн шведських крон порівняно з минулим роком, тобто виплати становитимуть 11 млн шведських крон, або \$984 тис.

Вручення Нобелівських премій рідко обходиться без скандалів. Так і цього року — 1 вересня світом почала ширитися хвиля міжнародного протесту проти рішення Нобелівського фонду запросити послів Росії та Білорусі на церемонію нагородження, хоча у 2022 р. їм було в цьому відмовлено через розв'язання їхніми країнами війни проти України. Вже наступного дня представники Нобелівського фонду заявили, що рішення запросити послів усіх акредитованих у Швеції та Норвегії країн на церемонію вручення Нобелівських премій викликало «бурхливу реакцію», через що запрошення представників Росії, Білорусі, Ірану та ультраправої партії Швеції було скасовано. Однак це обмеження стосувалося лише церемонії в Стокгольмі, але не в Осло, де вручатимуть Нобелівську премію миру.

Отже, що відомо про життєвий шлях і науковій здобутки нобелівських лауреатів з фізіології або медицини 2023 р.?

68-річна дослідниця Каталін Каріко, яка стала 61-ю жінкою-лауреатом Нобелівської премії, працює в Сегедському університеті (Угорщина) і в Пенсільванському університеті в Філадельфії (США). Каталін народилася 17 січня 1955 р. в м. Сольнок у центральній Угорщині. Її батько був м'ясником, а мати — бухгалтером, однак їхні здібності не обмежувалися професійними інтересами: мати захоплювалася музикою, а батько грав на скрипці та любив розв'язувати математичні головоломки. Дитинство Каталін пройшло в містечку Кішуйсаллаш у маленькому будинку без водопроводу, холодильника і телевізора. Вона

⁴ The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2023. Press release. <http://surl.li/nllqi>

зацікавилася біологією ще в ранньому віці, спостерігаючи за роботою батька. Під час навчання у Реформатській гімназії імені Моріца Жигмонда мала значні успіхи у природничих науках, зокрема ще під час навчання в початковій школі на конкурсі з біології посіла третє місце в Угорщині. Після закінчення школи Каріко вступила до Сегедського університету, де в 1978 р. здобула ступінь бакалавра з біології, а в 1982 р. — ступінь доктора філософії з біохімії. Після цього Каріко працювала під керівництвом Єньо Томаша в групі хімії нуклеотидів Інституту біофізики, а потім продовжила свої дослідження в Інституті біохімії Центру біологічних досліджень Угорщини.

Ще в студентські роки Каталін була завербована до розвідувальних служб комуністичної таємної поліції Угорщини, на які вона працювала з 1978 по 1985 р. під тиском постійних погроз руйнування її кар'єри та репресій проти батька. Хоча сама вона стверджує, що не надавала спецслужбам будь-якої інформації і не була агентом.

У 1985 р. фінансування лабораторії, в якій працювала Каріко, припинили, і вона почала шукати роботу за кордоном. Отримавши пропозицію від Роберта Сухадольника з Університету Темпл у Філадельфії (штат Пенсільванія), Каталін виїхала до США разом зі своїм чоловіком і дворічною донькою. Оскільки при виїзді дозволяли обміняти лише \$100, вони контрабандою провезли у плюшевому ведмедикі доньки £900, отриманих на чорному ринку в обмін на виторг від продажу автомобіля. Через три роки Каріко захотіла перейти з Університету Темпл в Університет Джона Гопкінса у Балтиморі (штат Меріленд), однак її керівник Роберт Сухадольник був категорично проти. Він повідомив імміграційній службі, що Каріко нібито перебуває в США «нелегально», і вимагав її депортації. І поки Каріко оскаржувала наказ про екстрадицію, пропозицію роботи вже відкликали. Крім того, Сухадольник поширював негативну інформацію про Каріко, що зробило неможливим пошук роботи в інших установах. Це тривало доти, доки Каталін Каріко не зустріла у Військово-морському шпиталі в



Каталін Каріко. Фото: МТІ/Hegedüs Róber

Бетесді дослідника, який мав власний негативний досвід спілкування з Сухадольником. Завдяки його допомозі у 1988 р. Каталін Каріко перейшла до Військово-медичного університету (Uniformed Services University of the Health Sciences) в Бетесді. Ще через рік вона почала працювати з кардіологом Елліотом Барнатаном у Пенсільванському університеті в Філадельфії, а у 1990 р. отримала посаду ад'юнкт-професора Медичної школи Перельман при Пенсільванському університеті.

На початку 1990-х років тематика досліджень Каріко, яка стосувалася вивчення мРНК, стала вважатися безперспективною. Багато дослідників, біотехнологів і фармацевтичних компаній сумнівалися в потенціалі цього наукового напрямку. Через це Каріко раз за разом почали відмовляти у фінансуванні її досліджень і, незважаючи на підтримку Елліота Барнатана і Девіда Лангера (який її найняв), у 1995 р. її понизили на посаді. Приблизно в цей період у неї діагностували рак, а чоловіка затримали в Угорщині через проблему з візою, і він шість місяців не міг повернутися у США. Незважаючи на ці проблеми, Каталін Каріко вирішила залишитися в університеті і продовжити дослідження мРНК. Ймовірно, на її рішення частково вплинуло й те, що посада в університеті давала можливість оплачувати лише чверть суми за навчання доньки у коледжі. Отримавши кілька патентів США на використання неімуногенної РНК з модифі-

кованими нуклеозидами, у 2006 р. вона стала співзасновником і генеральним директором компанії RNARx. У 2013 р. Каріко перейшла до компанії BioNTech RNA Pharmaceuticals на посаду віцепрезидента, а у 2019 р. стала старшим віцепрезидентом. У 2022 р. вона залишила BioNTech, щоб присвятити більше часу дослідженням на посаді ад'юнкт-професора в Університеті Пенсільванії, а пізніше — професора Сегедського університету в Угорщині.

Каталін Каріко є членом Європейської академії (з 2020), Американської асоціації сприяння розвитку науки, Французької академії наук (з 2021), Німецької національної академії наук, Німецької академії наук «Леопольдина», Угорської академії наук, Національної академії винахідників США, Національної академії медицини США (з 2022) і Європейської організації молекулярної біології (з 2023). Вона стала 13-ю жінкою у світі та першою жінкою в Угорщині, яка отримала Нобелівську премію з медицини або фізіології. Загалом має понад 130 міжнародних нагород, серед яких: премія Сечені, медаль Вільгельма Екснера, премія «За людську гідність», премія Університету Кейо в галузі медицини, велика медаль Французької академії наук (2021), премія Пауля Ерліха та Людвіга Дармштедтера, премія L'Oréal-ЮНЕСКО «Для жінок у науці», премія Луї Жанте в галузі медицини, медаль Гельмгольца, премія Перл Мейстер Грінгард (2022) та ін.

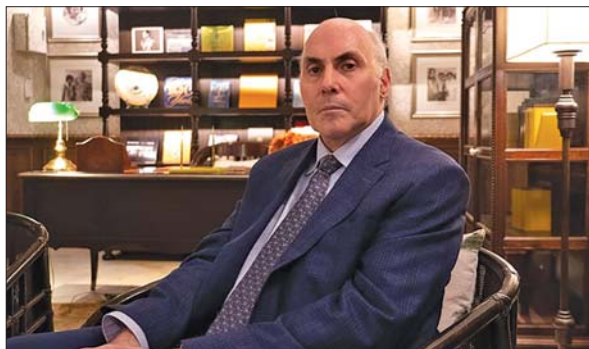
Зараз Каталін Каріко живе в Філадельфії разом зі своїм чоловіком на ім'я Бела Франція, з яким познайомилася під час навчання в Сегедському університеті в 1977 р. Він працює інженером, менеджером житлового комплексу. Їхня донька Сюзан Франція є спортсменкою, дворазовою олімпійською чемпіонкою з веслування (2008, 2012), заміжня за американським архітектором і має двох дітей.

Драматична історія життя і наукових відкриттів Каріко лягла в основу сюжетів кількох книжок, виданих у 2023 р. Це книга Меган Хойт і Вів'єн Мілденбергер «Битва з COVID-19», дві дитячі книжки Деббі Дейді та Джуліани Оклі «Ніколи не здавайся: Доктор Каті Каріко та гонитва за майбутнім вакцин»

і «Маленькі посланці Каті: Доктор Каталін Каріко», а також мемуари самої Каріко «Прорив: Моє життя в науці»⁵.

64-річний Дрю Вайсман є директором Пенсільванського інституту РНК-інновацій і професором медицини Медичної школи Перельман при Пенсільванському університеті у Філадельфії (США). Д. Вайсман народився 7 вересня 1959 р. в містечку Лексінгтон (штат Массачусетс) у сім'ї єврея та італійки. Хоча його мати не прийняла юдаїзм, Дрю ріс, відзначаючи всі єврейські свята. Освіту він здобув у приватних закладах рідного штату. Після закінчення в 1977 р. Лексінгтонської середньої школи Вайсман вступив до Брандейського університету, де спеціалізувався в галузі біохімії та ензимології, а також працював у лабораторії відомого біохіміка Джеральда Фасмана, який розробив методи прогнозування вторинної структури протейнів за їх амінокислотною послідовністю. Після отримання ступенів бакалавра і магістра у 1981 р. Дрю Вайсман вступив до аспірантури Університету Бостона, де під керівництвом дослідниці аутоімунних захворювань Енн Маршак-Ротштейн виконував дисертаційну роботу з імунології, присвячену дослідженню можливості регуляції функцій В-лімфоцитів за допомогою антиідіотипічних антитіл. У 1987 р. Вайсман здобув ступені доктора медицини та доктора філософії, пройшов ординатуру в Медичному центрі Бет Ізраель Діаконісса в Бостоні та отримав стипендію Національного інституту охорони здоров'я США (НІН) на дослідження взаємодії вірусу імунодефіциту людини (ВІЛ-1) з рецепторами імунних клітин, яке виконував під керівництвом Ентоні Фаучі — ще донедавна директора одного з найбільших інститутів НІН, Національного інституту алергії та інфекційних захворювань. У 1997 р. Вайсман перейшов до Пенсільванського університету, щоб відкрити свою лабораторію для вивчення РНК і вродженої імунної системи, де працює й дотепер.

Д. Вайсман є членом Європейської академії (з 1998), Берлінсько-Бранденбурзької



Дрю Вайсман. Фото: Stephen Boitano/LightRocke

академії природничих і гуманітарних наук (з 1999), Королівської шведської академії наук (з 2000), Німецької академії наук «Леопольдина» (з 2001), Французької академії наук, Лондонського королівського товариства (з 2016), Саксонської академії наук, Національної академії медицини США та Американської академії мистецтв і наук (з 2022).

Дрю Вайсман одружений з Мері Еллен Вайсман, вони мають двох дочок, яким прищепили свої культурні та релігійні цінності⁶.

Протягом останніх трьох років (від початку масового застосування мРНК-вакцин проти COVID-19) на Каталін Каріко і Дрю Вайсман буквально «посипалися» престижні наукові нагороди і відзнаки. Разом вони отримали такі нагороди, як премія Розенстіла (2020), премія Луїзи Гросс Горвіц, премія Медичного центру Олбані, премія принцеси Астурійської, премія Фонду BBVA «Межі знань», звання «Герої року» за версією журналу «Тайм» (2021), премія «За прорив» у науках про життя, медаль Бенджаміна Франкліна, медаль Джессі Стівенсон-Коваленко, премія Ласкера—ДеБейкі за клінічні медичні дослідження, гран-прі премії VinFuture, премія Тан з біофармацевтичних наук від Тайванської академії Сініка, премія Фонду Воррена Альперта (2022). У 2022 р. імена Каталін Каріко і Дрю Вайсмана внесли до Національної зали слави винахідників.

Крім того, Дрю Вайсман окремо отримав премію принца Махідола, премію доктора Поля

⁵ Katalin Karikó. Wikipedia. <http://surl.li/nlwrt>
ISSN 1027-3239. Вісн. НАН України, 2023, № 12

⁶ Drew Weissman. Wikipedia. <http://surl.li/nlwzu>

Янсена з біомедичних досліджень, премію Вільяма Колі, щорічну премію Нью-Йоркської медичної академії (2021), премію Японії, премію «Золота тарілка» Американської академії досягнень, премію Genome Valley Excellence, премію IVI-SK bioscience Park MahnHoon, премію фармацевтичної компанії «Ново Нордіск», премію Росса з молекулярної медицини від Інституту медичних досліджень Файнштейна, премію Роберта Коха, міжнародну премію канадського фонду Гайрднера (2022), премію Гарві (вручена у 2023 р. за 2021 р.).

Отже, Каталін Каріко та Дрю Вайсмана було відзначено Нобелівською премією з фізіології або медицини 2023 р. за відкриття, що стосуються модифікацій нуклеозидних основ, які дозволили розробити ефективні мРНК-вакцини проти COVID-19. Що ж такого особливого є в мРНК-вакцинах? До чого тут модифікації нуклеозидних основ? І чому цьогорічні лауреати ще донедавна були нікому не відомі й раптом отримали практично всі можливі нагороди та всесвітнє визнання?

мРНК-вакцина — це вакцина на основі матричної (або інформаційної) рибонуклеїнової кислоти, що кодує протеїн, характерний для патогена, проти якого створюється вакцина (наприклад, вірусу, бактерії чи пухлини). мРНК вакцини, як правило, знаходиться всередині ліпосоми — ліпідної «бульбашки» або всередині капсиду штучного вірусу (вектору), що захищає мРНК від руйнування і забезпечує її проникнення в клітину. Всередині клітини відбувається трансляція введеної мРНК, тобто клітинні механізми синтезу протеїнів (рибосоми) «зчитують», як з матриці, закодовану в мРНК інформацію про амінокислотну послідовність протеїну і синтезують його. Цей протеїн експонується на поверхні антиген-розпізнавальних клітин, розпізнається як чужорідний антиген імунною системою організму реципієнта та ініціює розвиток імунної відповіді проти патогену. Надалі, при потрапленні патогену в організм, імунна система впізнає його за вже відомим їй протеїном і знищує інфекцію (або пухлину), перешкоджаючи розвитку захворювання.

Як бачимо, механізм дії мРНК-вакцин по суті є подібним до традиційних вакцин, історія створення яких починається ще у VIII ст. у стародавній Індії, де винайшли так звану варіоляцію — втирання здоровій людині у шкіру гною від хворого на віспу. Це був смертельно небезпечний метод, проте він поширився по всьому світу. Цікаво, що в Києві за часів Катерини II було відкрито віспяні будинки, в яких за проведення варіоляції держава платила вакцинованим третину річного заробітку (1 срібний рубль). Від цієї процедури відмовилися лише наприкінці XVIII ст., коли в Англії та Німеччині з'явилися більш безпечні способи профілактики — спроби щеплення коров'ячою віспою для захисту від натуральної віспи (зокрема, багатьом відомі публічні експерименти англійського лікаря Едварда Дженнера від 1796 р.).

Відтоді у складі вакцин почали використовувати вбитих (інактивованих) або ослаблених (атенуйованих) збудників, щоб сформувати імунітет проти певного захворювання. Спосіб одержання атенуйованих вакцин відкрив видатний французький вчений Луї Пастер. Саме він розробив вакцини проти сибірки (1881) і сказу (1885). Цікаво, що перше щеплення проти сказу було зроблено 6 липня 1885 р. на прохання матері 9-річного хлопчика Йозефа Мейстера, якого покусав скажений собака. На щастя, лікування закінчилося успішно, хлопчик видужав і потім усе життя працював швейцаром в Інституті Пастера (де на його честь встановили пам'ятник). До речі, асистентом Пастера при вакцинації (сам Пастер, як хімік за освітою, не мав права вакцинувати людей) був наш земляк Микола Гамалея, який потім став відомим академіком. Лише в середині XX ст. було розроблено переважну більшість традиційних вакцин проти інфекційних захворювань.

Оскільки перші вакцини викликали значні побічні реакції, наступним кроком у їх еволюції стало використання у складі вакцин окремих молекул патогенів (протеїнів, зокрема токсинів, олігосахаридів тощо). Французький ветеринар і біолог Гастон Рамон відкрив спо-

сіб інактивації бактеріальних токсинів за допомогою формальдегіду з утворенням безпечних анатоксинів. Так, у 1923 р. він одержав дифтерійний і правцевий анатоксини, які виявилися надзвичайно ефективними компонентами відповідних вакцин. Згодом почали широко використовувати комбіновані вакцини (наприклад, вакцину АКДП, що містила адсорбовані на оксиді алюмінію анатоксини збудників кашлюка, дифтерії та правця), а також кон'юговані вакцини (наприклад, вакцину проти гемофільної інфекції, в якій олігосахариди було кон'юговано з протеїном-носієм).

Прорив у галузі молекулярної біології уможливив отримання будь-яких штучних (рекомбінантних) протеїнів патогенів без необхідності культивування небезпечних збудників. Вакцини на основі рекомбінантних протеїнів (субодиничні вакцини) виявилися більш безпечними, але менш ефективними порівняно з традиційними. Тому й досі їх намагаються вдосконалювати додаванням підсилювальних компонентів (ад'ювантів) або ж застосовують повторні щеплення (ревакцинація). Першою в 1986 р. було схвалено субодиничну вакцину проти гепатиту В, а в 2006 р. — вакцину проти вірусу папіломи людини, яку почали використовувати для профілактики раку шийки матки.

Крім того, рекомбінантні технології було використано для одержання вакцин на основі рекомбінантних вірусів-векторів, які могли ефективно доставляти в клітину протеїни патогену або РНК / ДНК, що їх кодувала. Першими вакцинами цього типу стали вакцини проти лихоманки Ебола, а також вакцина на основі живого ослабленого вірусу везикулярного стоматиту (схвалена в США у 2019 р.) та дводозова вакцина на основі нездатних до реплікації вірусів — аденовірусу Ad26 і модифікованого вірусу коров'ячої віспи Анкара (отримала винятковий дозвіл Європейської комісії у 2020 р.).

Ідея створення вакцин на основі ДНК або РНК виникла на початку 1990-х років і була дуже заманливою, оскільки виробництво таких вакцин є дешевшим, швидшим і безпечнішим порівняно з виробництвом традиційних

вакцин, адже воно взагалі не потребує культивування будь-яких живих клітин і виділення патогенного протеїну. Обнадійливі результати перших випробувань ДНК- і мРНК-вакцин на лабораторних тваринах опублікували, відповідно, американські [1] і французькі дослідники [2]. Однак введення в організм ДНК збудника підіймало питання біобезпеки щодо ймовірності включення чужорідного генетичного матеріалу в геном людини. До того ж випробування на людях показали недостатню ефективність ДНК-вакцин [3]. Однією з причин цього, ймовірно, була необхідність подолання складного шляху до ядра клітини, де відбувалася транскрипція (зчитування) ДНК з утворенням відповідної мРНК.

Вакцини на основі мРНК були безпечніші, але існувала низка нездоланих перешкод на шляху до їх практичного використання: мРНК-вакцини були нестабільними, викликали сильні імунні реакції до чужорідної РНК і слабо стимулювали імунну відповідь проти патогенного протеїну, який ця РНК кодувала.

В результаті вакцини на основі РНК (або ДНК) у 1990-х роках стали вважати цікавою експериментальною розробкою, але абсолютно безперспективною. І саме відкриття, зроблені Каталін Каріко та Дрю Вайсманом, несподівано, ніби магічним чином, усунули всі недоліки мРНК-вакцин, підвищили їхню ефективність і відкрили грандіозні перспективи для практичного використання не лише вакцин, а й будь-яких терапевтичних препаратів на основі мРНК⁷. Як же це сталося?

Початок ери мРНК у біотехнології став можливим завдяки наполегливій роботі багатьох учених, які досліджували ДНК і РНК протягом 50 років до того, як Каталін Каріко та Дрю Вайсман зробили свої відкриття. Революція в розвитку молекулярної біології і генетики почалася з моменту з'ясування структури ДНК, а також відкриття РНК-полімерази та мРНК.

⁷ Karlsson G., Sandberg R. Discoveries concerning nucleoside base modifications that enabled the development of effective mRNA vaccines against COVID-19. <http://surl.li/nlzn>

Відкриття двоспіральної структури ДНК у 1953 р. є, напевне, найвідомішим відкриттям у біології, яке здійснили Френсіс Крік, Джеймс Вотсон та Моріс Вілкінс (які отримали за це Нобелівську премію з фізіології або медицини в 1962 р.) і Розалінда Франклін, яка зробила велику кількість рентгенівських знімків ДНК і допомогла відкриттю моделі ДНК, але померла від раку за чотири роки до нагородження.

РНК-полімераза, що відповідає за синтез мРНК, було відкрито у 1960 р. незалежно американцями Семом Вайсом і Джерардом Гурвіцом. Цікаво, що за рік до цього американським ученим Артуру Корнбергу і Северо Очоа (іспанцю за походженням) вже було присуджено Нобелівську премію з фізіології або медицини 1959 р. за відкриття речовини, яку вважали РНК-полімеразою і яка згодом виявилася рибонуклеазою (ензимом, що розщеплює РНК). Пізніше, за одержання точних зображень молекул РНК-полімерази в різні моменти процесу транскрипції Нобелівську премію з хімії 2006 р. було присуджено біохіміку Роджеру Корнбергу, сину Артура Корнберга. Через рік після відкриття РНК-полімерази дві групи вчених одночасно відкрили і саму мРНК [4, 5].

За відкриття, що стосувалися генетичного контролю синтезу ферментів і вірусів, французькі вчені Жак Моно, Франсуа Жакоб і Андре Львов, які працювали в Інституті Пастера в Парижі, отримали Нобелівську премію з фізіології або медицини 1965 р.

Перший доказ трансляції мРНК *in vitro* продемонстрували в 1969 р. Реймонд Локард і Джеррі Лінгрел. Вони показали, що у пробірці з безклітинною системою ретикулоцитів кролика на основі мРНК миші успішно синтезується закодований протеїн – β -ланцюг гемоглобіну миші [6]. Водночас можливість керувати синтезом протеїнів у живій клітині *in vitro* за допомогою мРНК вперше показали в 1971 р. британські вчені з Оксфордського університету, які при введенні в яйцеклітини жаби мРНК, виділеної з ретикулоцитів (попередників еритроцитів) кролика спостерігали синтез гемоглобіну в клітинах жаби внаслідок трансляції мРНК [7]. Лише майже через

20 років подібний експеримент було успішно проведено *in vivo* групою американського вченого Філіпа Фелгнера. Дослідники показали, що внутрішньом'язове введення мишам ДНК і мРНК привело до стійкого синтезу трьох різних ензимів [8].

Для подолання основних проблем на шляху створення мРНК-вакцин було необхідно виконати кілька завдань: по-перше, для виробництва таких вакцин потрібно було знайти способи швидкого синтезу мРНК у великій кількості; по-друге, необхідно було розробити систему доставки мРНК в організм, яка б захищала її від згубної дії ензимів; по-третє, слід було усунути причину тяжких ускладнень, які викликала чужорідна мРНК через імунну реакцію організму проти неї. Незважаючи на те, що останнє завдання було практично нездійсненним, а його невиконання робило саму ідею мРНК-вакцин безперспективною, вчені зосередилися на реалізації перших двох завдань.

У середині 1980-х років було виявлено дві потужні РНК-полімерази, здатні забезпечити швидкий синтез мРНК *in vitro*. Пол Кріг і Дуглас Мелтон відкрили РНК-полімераза бактеріофага SP6, який вражає збудника сальмонельозу *Salmonella typhimurium* [9], а в лабораторії Ф. Вільяма Стадієра клонували РНК-полімераза бактеріофага T7 [10], на основі якої було розроблено і запатентовано ефективну систему транскрипції *in vitro* [11]. Після її оптимізації згодом було створено вискоєфективну систему для масштабного отримання мРНК.

У 1976 р. Роберт Лангер і Джуда Фолкман першими повідомили про використання нано- і мікрочастинок для упакування ДНК і РНК з метою їх використання як ліків [12]. Ця робота отримала багато критики, оскільки люди не розуміли, як велика молекула нуклеїнової кислоти може вийти з полімерної частинки. Вони казали: «Це як пройти крізь стіну!». Невдовзі було зроблено перші спроби використати для захисту мРНК і доставки її в клітини *in vitro* ліпосоми – штучні «бульбашки» з фосфоліпідів і холестерину, що нагадують природні мембранні везикули [13]. У 1987 р. стався прорив у цій галузі: Філіп Фелгнер уперше синтезував каті-

онний ліпід і одержав на його основі стабільні, позитивно заряджені ліпосоми (ліпофектин), які ефективно взаємодіяли з негативно зарядженими об'єктами (нуклеїновими кислотами та клітинною мембраною). У своїй роботі він показав можливість доставки ДНК у клітини за допомогою ліпофектину [14]. Невдовзі Роберт Малоун зі співробітниками вперше продемонстрували доставку мРНК з використанням подібних катіонних ліпосом [15].

Однак введення ліпофектину в живий організм призводило до небажаних побічних ефектів через його позитивний заряд. Цю проблему вдалося вирішити Пітеру Каллісу з Університету Британської Колумбії у Ванкувері (Канада), який розробив менш токсичні іонізовані катіонні ліпіди, що могли змінювати свій заряд з позитивного (в кислому середовищі) на нейтральний (у нейтральному середовищі організму). Згодом було виявлено ще більш ефективні іонізуючі катіонні ліпіди і на їх основі розроблено ліпосомні наночастинки, які склалися з кількох шарів: іонізованого катіонного ліпіда, допоміжного ліпіда, холестерину, а також поверхневого шару поліетиленгліколю, який запобігав агрегації наночастинок та неспецифічному поглинанню їх макрофагами і клітинами печінки [16].

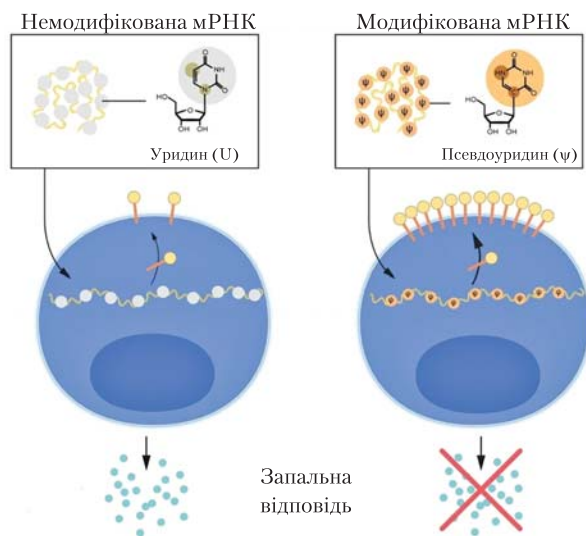
Підвищити ефективність доставки ДНК- / РНК-вакцин намагалися також за допомогою рекомбінантних вірусних векторів, що використовували природний механізм проникнення вірусу в клітину. Зокрема, застосування як вектора РНК вірусу гарячки лісу Семлікі (Уганда), здатного до самореплікації, дозволило збільшити число копій мРНК і, відповідно, збільшити кількість протеїну, який синтезується [17]. Однак вірусні вектори також викликали імунну відповідь проти себе, що могло спричинити небажані реакції організму на вакцину.

На початку 1990-х років кілька груп учених працювали над вдосконаленням терапевтичних препаратів на основі мРНК і систем їх доставки. У 1992 р. було продемонстровано можливість лікування нецукрового діабету введенням мРНК, що кодувала вазопресин, щурам,

які внаслідок мутації були нездатні синтезувати цей гормон [18]. У цей час Каталін Каріко в Пенсільванському університеті працювала над створенням мРНК-терапії для лікування ішемії та інсультів, зокрема досліджувала, як структурно-функціональні особливості мРНК впливають на рівень експресії терапевтичного протеїну. В результаті Каріко відкрила, що додавання до 3'-кінця мРНК довшої послідовності поліаденозину, так званого поліаденозинового «хвоста» або полі(А), приводило до поліпшення експресії протеїну (люциферази) в клітинах мозку щурів [19].

Велику роль у розвитку цих досліджень відіграв Дрю Вайсман, який у Пенсільванському університеті займався дослідженням дендритних клітин та їх ролі у вакцинації. Це був дуже перспективний напрям досліджень, адже не дарма у 2011 р. першовідкривач ролі дендритних клітин в імунітеті Ральф Штайнман отримав Нобелівську премію з фізіології або медицини. Каріко і Вайсман працювали в різних будівлях і департаментах Пенсільванського університету, а тому могли ніколи й не зустрітися, проте випадково познайомилися, коли зіткнулися і посварилися біля копіювального апарату, який був необхідний їм обом для копіювання наукових статей. Згодом вони швидко знайшли спільну мову і з'ясували, що обоє цікавляться використанням мРНК у медицині. Так почалося співробітництво, яке привело до результатів, гідних Нобелівської премії, і яке вони планують продовжувати й надалі.

На той час Вайсман ставив перед собою амбітну мету — розробити вакцину проти вірусу імунодефіциту людини (ВІЛ-1), який вражає клітини імунної системи. Він створив системи для культивування дендритних клітин і оцінки їх активації та здатності презентувати антиген. Каріко і Вайсман ввели в дендритні клітини синтетичну мРНК, що кодувала Gag — структурний протеїн ВІЛ-1, і виявили *in vitro* стимулювання імунних реакцій Т-клітин [20]. Крім того, введення мРНК приводило до активації та дозрівання дендритних клітин [21]. Спочатку здавалося, що отримані результати свідчили про розвиток специфічної Т-клітинної



© The Nobel Committee for Physiology or Medicine.
Mattias Karlén

Цьогорічні нобелівські лауреати виявили, що включення нуклеозидів з модифікованими основами у транскрибовану *in vitro* мРНК можна використовувати для блокування активації запальних реакцій (секреції сигнальних молекул) та збільшення кількості синтезованого протеїну, що відповідає структурі введеної мРНК

імунної відповіді проти ВІЛ-1, однак згодом з'ясувалося, що мРНК сама викликала неспецифічні імунні реакції, які є значною перешкодою для практичного використання препаратів (і вакцин) на її основі.

Механізм цього явища став зрозумілим після того, як інші вчені відкрили Toll-подібні рецептори (TLR), які розпізнавали молекулярні структури, асоційовані з патогеном (PAMP), і запускали механізми неспецифічного імунного захисту (наприклад, синтез протівірусних цитокінів) [22]. Невдовзі було знайдено ліганди для багатьох TLR, в тому числі TLR3, який розпізнає проміжний продукт реплікації вірусу – дволанцюгову РНК [23], а також TLR7 і TLR8, які розпізнають одноланцюгову вірусну РНК і деякі форми синтетичної РНК [24]. Каріко зацікавилася TLR після публікації про те, що неметильовані CpG-мотиви, які часто трапляються в бактеріальній ДНК і яких мало у ДНК ссавців, активують TLR9 [25]. Водночас

Каріко і Вайсман показали, що транскрибована *in vitro* мРНК забруднена дволанцюговою РНК, яка може активувати TLR3 і таким чином стимулювати цитокінову відповідь [26]. Очищення мРНК, а також збільшення довжини її полі(А) «хвоста» приводило до значного зниження продукції цитокінів, однак остаточно не рятувало від імунної відповіді проти штучно одержаної *in vitro* мРНК.

Незважаючи на невдачі та критику інших учених, Каріко і Вайсман не здавалися, наполегливо продовжували досліджувати різні модифікації мРНК, і врешті-решт їм вдалося зробити відкриття, яке повністю змінило їхнє життя і подальший розвиток біотехнологічної галузі. У 2005 р. після отримання відмов від журналів Nature і Science вони опублікували в журналі Immunity результати дослідження щодо впливу різних модифікацій мРНК на цитокінову відповідь дендритних клітин [27]. Ці модифікації утворюються внаслідок дії певних ензимів на нуклеозидні основи (іноді й на рибозу) у складі мРНК і здатні змінювати електростатичний заряд, гідрофобність поверхні та інші властивості молекули, що впливають на її стабільність, просторову структуру, специфічність спарювання основ тощо. Каріко і Вайсман виявили, що прокаріотична, мітохондріальна і транскрибована *in vitro* мРНК стимулювали цитокінову відповідь, а загальна мРНК ссавців, яка містила багато модифікованих нуклеозидів, не стимулювала її у дендритних клітин. Крім того, включення нуклеозидів з певними модифікованими основами у транскрибовану *in vitro* мРНК скасовувало активацію запальних реакцій. Наприклад, майже повне скасування розпізнавання рецептором TLR3 спостерігали при включенні N6-метиладенозину (m6A) та 2-тіоуридину (s2U), тоді як активації TLR7 та TLR8 можна було уникнути за допомогою m6A, s2U, 5-метилцитидину (m5C), 5-метилуридину (m5U) та псевдоуридину (Ψ), а скасувати активацію дендритних клітин можна було лише за допомогою модифікації уридинів (m5U, s2U та Ψ). На сьогодні налічують понад сотню різних посттранскрипційних модифікацій РНК (в еукаріотів їх більше, ніж

у прокаріотів), однак їхнє функціональне значення здебільшого залишається невідомим.

Надалі Каріко і Вайсман показали, що введення псевдоуридину в мРНК не лише зменшує її імуногенність, а й приводить до більш ефективної трансляції та збільшення продукування протеїну [28]. Також було з'ясовано механізм, що пояснював це явище. Виявилось, що транскрибована *in vitro* мРНК активує протеїназу R (PKR), яка розпізнає дволанцюгову РНК вірусів і фосфорилує фактор ініціації трансляції еукаріот eIF2 α , що інгібує синтез протеїну й унеможливує розмноження вірусу в клітині. Тоді як мРНК, що містить модифікований нуклеозид псевдоуридин, менш ефективно зв'язується з PKR і синтез протеїну не пригнічується [29]. Крім того, транскрибована *in vitro* мРНК з модифікованими нуклеозидами менш ефективно зв'язується з іншим ключовим ензимом противірусного захисту — 2'-5'-олігоаденілатсинтетазою (OAS), яка й собі індукує РНКазу L, що руйнує всю РНК у клітині, включно з вірусною [30].

Для блокування цих противірусних механізмів і підвищення синтезу протеїну, який закодований у мРНК, було розроблено методи очищення транскрибованої *in vitro* мРНК від дволанцюгової РНК за допомогою високоефективної рідинної хроматографії (що збільшувало синтез протеїну в 10–1000 разів) [31]. Пізніше, вже під час роботи Каріко в BioNTech, було розроблено простіший і дешевший метод селективного зв'язування мРНК з целюлозою в буфері, що містив етанол [32].

У 1997 р. американська компанія Merix Bioscience (у 2004 р. змінила назву на Argos Therapeutics, а в 2019 р. — на CoImmune) першою почала розвивати технології мРНК. У перші роки свого існування Merix Bioscience розробила імунотерапію з використанням мРНК для стимуляції *in vitro* клітин імунної системи хворого на рак. Цей підхід згодом зазнав невдачі на пізній стадії клінічних випробувань. Однак досвід Merix Bioscience надихнув інших провідних учених у галузі вивчення мРНК заснувати власні біотехнологічні компанії. Так, з'явилися дві німецькі компанії CureVac (2000) і BioNTech

(2008), метою яких стало розроблення мРНК-вакцин проти інфекційних та злоякісних захворювань. У 2010 р. було засновано американську компанію Moderna, що планувала використовувати мРНК для доставки терапевтичних протеїнів і перетворення соматичних клітин на плюрипотентні клітини.

Цікаво, що CureVac замість включення модифікованих нуклеозидів до складу мРНК використовувала оптимізацію кодонів і 5'- і 3'-нетрансльованих ділянок мРНК, що також дозволило підвищити ефективність виробництва протеїну [33]. Ця компанія досягла певних успіхів у розробленні персоналізованої мРНК-вакцини проти меланоми з використанням фактора росту GM-CSF як ад'юванту (2008), а також у створенні мРНК-вакцини проти сказу (2017).

Слід зазначити, що перші успіхи CureVac нікого не зацікавили. Так, на одній конференції неназваний нобелівський лауреат, що сидів у першому ряду, сказав співзасновнику CureVac Інгару Герру: «Це повне лайно, що ви нам тут розповідаєте...». В ті часи через скептичне ставлення було важко отримати фінансування для проведення клінічних досліджень мРНК. Головний науковий співробітник компанії CureVac Стів Пасколо став першим об'єктом дослідження: він зробив собі ін'єкцію мРНК і досі має невеликі шрами на нозі, які залишилися після біопсії, коли зразки тканини було взято для аналізу. Крім того, наукові установи, як правило, не хотіли патентувати розробки, пов'язані з мРНК. Так, відділ технологічного розвитку Гарвардського університету вирішив не патентувати відкриття групи Пола Кріга, яке стосувалося одержання синтетичної мРНК за допомогою РНК-полімерази бактеріофага SP6. Кріг із колегами просто віддали свої реактиви корпорації Promega, яка торгувала реактивами і надала їм раніше інструменти для синтезу РНК. Натомість учені отримали скромні гонорари та ящик шампанського *Veuve Clicquot*.

У 1990-х роках і впродовж більшої частини 2000-х років майже всі компанії з виробництва вакцин, вирішуючи, куди спрямовувати

свої ресурси, однозначно віддавали перевагу іншим розробкам, а не роботі над мРНК. Тоді вважали загальноприйнятим, що мРНК є занадто нестабільною та схильною до деградації, а її виробництво дуже дороге. Згодом інвестори все ж зацікавилися технологією мРНК: компанії BioNTech було виділено \$150 млн, а невеликий мРНК-стартап під назвою RNARx (2006) отримав скромнішу суму (\$97 396) у вигляді гранту для малого бізнесу від уряду США [34]. Засновниками RNARx були біохімік Каталін Каріко та імунолог Дрю Вайсман, які відіграли вирішальну роль у впровадженні мРНК-вакцин. Однак слід зазначити, що цей успіх досяг грандіозного масштабу завдяки справжній біді — коронавірусній пандемії, яка охопила весь світ.

На початку XXI ст. все частіше стали реєструвати спалахи вірусних інфекцій, які мали потенціал до переростання у пандемію, наприклад спалахи вірусу Зіка. Цей вірус вперше було виділено в 1947 р. від макак-резусів у лісі Зіка в Уганді (Африка). З 1950-х років його реєстрували в районах екваторіального поясу Африки та Азії, однак у 2007–2015 рр. він почав поширюватися на схід і досяг островів Океанії, Південної та Центральної Америки. Вірус Зіка передавався з укусами комарів і викликав гарячку Зіка, небезпечно своїми ускладненнями, зокрема синдромом Гієна—Барре (що проявлявся як млявий параліч унаслідок гострої автоімунної запальної полірадикулонейропатії) та мікроцефалією новонароджених, які заражались вірусом від інфікованих матерів під час вагітності.

Причиною поширення рідкісних вірусів стало все більше «занурення» людини в дику природу Азії, Південної Америки та Африки, де вона дедалі частіше стикалася з видами тварин, які є природними резервуарами вірусів. Крім того, глобалізація, яка торкнулася всіх сфер життя, вимагала швидкого переміщення людей на великі відстані, що давало вірусним інфекціям можливість дуже швидко поширюватися в напрямках найбільш завантажених маршрутів авіакомпаній. За таких умов розвиток місцевого спалаху до рівня пандемії міг від-

бутися за лічені тижні. Подолання потенційної небезпеки виникнення пандемій потребувало нових технологій для швидкого розроблення вакцин і діагностикумів, які б допомогли своєчасно виявити хворих і захистити здорове населення від інфікування або хоча б зменшити негативні наслідки захворювання. Технології на основі мРНК відповідали заданим критеріям і тому все більше привертала увагу дослідників як з академічних установ, так і з біотехнологічних компаній. У 2017 р. Вайсман і його колеги з кількох наукових закладів опублікували результати успішних доклінічних випробувань на мишах і мавпах мРНК-вакцини з модифікованими нуклеозидами проти вірусу Зіка [35]. Того самого року компанія Moderna розпочала клінічні випробування цієї вакцини, а також мРНК-вакцин проти штамів H10N8 і H7N9 вірусу грипу людини [36] і двох штамів пташиного грипу.

Люди традиційно вважали вірус грипу найбільш вірогідним кандидатом на роль ініціатора ймовірної нової пандемії, пам'ятаючи про найсмертоноснішу за всю історію людства пандемію грипу «іспанки», спричинену вірусом грипу H1N1, яка тривала з січня 1918 р. по грудень 1920 р. і призвела до близько 500 млн інфікованих та 50 млн померлих. Однак біда прийшла, звідки не чекали — від коронавірусів, які раніше викликали у людини лише легку сезонну застуду. Один за одним в Азії почали виникати нові види коронавірусів, що переходили від тварин до людини, викликали тяжкі, смертельно небезпечні респіраторні захворювання та швидко поширювалися світом. Перша епідемія (2002–2004 рр.) була спричинена коронавірусом SARS-CoV, що перейшов до людей від цивет, викликав тяжкий гострий респіраторний синдром (SARS) і за 5 місяців поширився з Китаю на 37 країн на всіх континентах, інфікувавши понад 8400 людей, з яких 916 з летальним результатом. Друга епідемія виникла у 2012 р. у Саудівській Аравії і була спричинена коронавірусом MERS-CoV, який перейшов до людей від верблюдів і викликав середньосхідний респіраторний синдром (MERS). Епідемія MERS охопила 26 країн

(передусім Середнього Сходу) і спричинила 2519 випадків захворювання, з яких 866 були летальними.

Епідемії SARS і MERS вражали своїми летальними наслідками (на щастя, вони не досягли України), однак наступна епідемія, яка виникла в китайському місті Ухань у листопаді 2019 р., значно перевершила за своїми масштабами попередні та змінила життя людей у всьому світі. Нове респіраторне захворювання здобуло назву коронавірусна хвороба 2019 року (COVID-19), його викликав коронавірус SARS-CoV-2, який перейшов до людей, ймовірно, від кажанів (хоча активно обговорюється і версія про штучне походження цього вірусу). За три чверті року від моменту появи перших випадків інфікування SARS-CoV-2 вірус поширився у 188 країнах, інфікувавши близько 28 млн людей і спричинивши майже 1 млн смертей [37]. Станом на 10 березня 2023 р., коли Університет Джона Гопкінса в Балтиморі (штат Меріленд) припинив збір статистичних даних щодо пандемії COVID-19, зафіксована кількість інфікованих становила понад 676 млн, а померлих — майже 6,9 млн. В Україні зареєстровано понад 5,7 млн випадків зараження, з яких близько 120 тис. виявилися летальними⁸, хоча ці дані, ймовірно, занижені, оскільки після 24 лютого 2022 р. збір статистичних даних по всій території України став неможливим у зв'язку з веденням бойових дій.

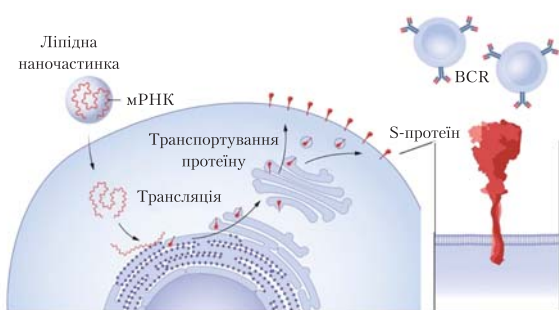
На відміну від епідемії SARS 2002—2004 рр., коли причина виникнення захворювання стала зрозумілою лише через кілька тижнів, інформацію про новий вірус SARS-CoV-2, який викликає серйозне респіраторне захворювання COVID-19, було передано службами охорони здоров'я КНР до ВООЗ наприкінці грудня 2019 р., і в найкоротший термін (уже 10 січня 2020 р.) китайські вчені опублікували повну послідовність геному SARS-CoV-2. Це було вкрай важливим для створення ефективних діагностикумів та інженерії вакцин проти вірусу. У березні 2020 р. опубліковано просторову

⁸ COVID-19 dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University (JHU). <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>

структуру «шипоподібного» S-протеїну оболонки коронавірусу SARS-CoV-2 з високою роздільною здатністю, що дозволило визначати епітопи для нейтралізуючих антитіл [38].

Розробленням вакцин різних типів проти COVID-19 займалося понад 300 компаній, причому третина з них пішли перевіреним шляхом — створювали «субодичні» вакцини на основі рекомбінантних протеїнів коронавірусу SARS-CoV-2. В Інституті біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України за участі авторів цієї статті та за підтримки колективного гранту Національного фонду досліджень України 2020.01/0322 було проведено дослідження, спрямовані на розроблення вакцини проти COVID-19 на основі рекомбінантних протеїнів SARS-CoV-2. В результаті одержано дослідний зразок вакцини проти COVID-19 на основі рекомбінантного злитого кон'югату — рецептор-зв'язувального домену (RBD) S-протеїну коронавірусу SARS-CoV-2 із високоімуногенним носієм — дифтерійним токсодом CRM197 та N-протеїном нуклеокапсиду вірусу [39]. Попередні випробування на тваринах показали, що зразок вакцини виявив достатню імуногенність, гарну місцеву переносимість і низьку токсичність. Прототип вакцини на основі N-протеїну вірусу було також створено в Інституті мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України та в Інституті біології клітини НАН України у дріжджах — на основі S-протеїну коронавірусу. На додаток до згаданих вище субодичних вакцин в Інституті біохімії було створено також модель вакцини на основі рекомбінантного аденовірусу AdvC5, нездатного до самореплікації, та рекомбінантних RBD-S та CRM-197, яка зараз проходить патентування за кордоном. На жаль, у зв'язку з відсутністю в Україні лабораторій рівня біобезпеки BSL-3 для роботи з культурою SARS-CoV-2 противірусну активність створених вакцин не вдалося перевірити.

Водночас провідні розробники вакцин проти COVID-19 на основі мРНК зробили неможливе: вони менше ніж за рік завершили всі стадії клінічних випробувань, причому вакцини було розроблено лише за три місяці після



© The Nobel Committee for Physiology or Medicine. Mattias Karlén

Вироблення спайк-протеїну поверхні вірусу (антигену) після вакцинації мРНК і розпізнавання його В-клітинами імунної системи вакцинованих. За допомогою ліпідних наночастинок, що містять мРНК, мРНК потрапляє в клітину і діє як матриця для синтезу S(спайк)-протеїну. Потім спайк-протеїн тимчасово експресується на поверхні клітини, де він розпізнається В-клітинами через їхні В-клітинні імуноглобулінові рецептори (BCR), стимулюючи синтез і секрецію спайк-специфічних (протівірусних) антитіл

секвенування геному вірусу. Це стало можливим завдяки створенню протягом десяти попередніх років механізму пришвидшеного проведення досліджень і використанню штучного інтелекту для керування роботизованими системами масової паралельної обробки мРНК⁹.

Першою вийшла на ринок мРНК-вакцина проти COVID-19 Comirnaty виробництва Pfizer-BioNTech (США/Німеччина), яка 2 грудня 2020 р. отримала дозвіл на використання у Великій Британії¹⁰. Слідом за нею протягом 2021 р. з'явилося ще три вакцини: мРНК-вакцина Spikevax від компанії Moderna (США), а також дві вакцини на основі аденовірусів від Oxford-AstraZeneca (Велика Британія/Швеція) і Johnson & Johnson (США/Бельгія).

«Мішенню» переважної більшості вакцин проти COVID-19 був «шипоподібний» S-протеїн на поверхні коронавірусу SARS-CoV-2,

⁹ I was there when: AI helped create a vaccine. <http://surl.li/nmclw>

¹⁰ Pfizer and BioNTech achieve first authorization in the world for a vaccine to combat COVID-19. <http://surl.li/nmcqc>

який через свій рецептор-зв'язувальний домен (RBD) зв'язувався з відповідним йому рецептором (ангіотензин-конвертувальним ферментом другого типу ACE-2) на поверхні клітин-мішеней на тканинах людини. В процесі проникнення (після злиття вірусу з мембраною клітин людини) вірус змінював свою конфомацію. Успіх розроблених вакцин проти COVID-19 став можливим також завдяки стабілізації протеїну S у вихідній конфомації (до проникнення) за допомогою введення пролінів у певних позиціях у його S2-домени. Цей спосіб стабілізації було вперше застосовано ще в 1998 р. при введенні пролінів у домен гемаглютиніну 2 вірусу грипу [40]. Згодом його почали використовувати й при розробленні вакцин проти інших вірусів, зокрема в мРНК-вакцинах проти MERS (Moderna, 2017) і COVID-19 (Pfizer/BioNTech, Moderna, 2020), а також у деяких вакцинах проти COVID-19, спричиненого іншими варіантами вірусу.

На момент початку пандемії COVID-19 у світі не існувало жодної офіційно затвердженої до використання мРНК-вакцини, і ніхто не знав, наскільки ефективною і безпечною є мРНК-технологія. З іншого боку, кілька провідних компаній, спираючись на десятиліття фундаментальних досліджень, оптимізували платформу мРНК, і жодна інша технологія не дозволяла отримати вакцини проти COVID-19 так швидко. Розробники мРНК-вакцин були готові до виклику і ризикнули. Компанія BioNTech (Німеччина) на чолі з Угуром Шахіном і його дружиною Озлем Тюреджі за участі Карін Каріко працювала в партнерстві з Pfizer (США) [41], а Moderna (Массачусетс, США) тісно співпрацювала з Центром дослідження вакцин Національного інституту здоров'я США, в якому проводили тестування вакцини [42]. Обидві компанії взяли до уваги відкриття Каріко і Вайсмана і тому у складі вакцин проти COVID-19 використали мРНК із модифікованими нуклеозидними основами. Зокрема, було повністю замінено уридини на N1-метилпсевдоуридини (m1Ψ), щоб уникнути небажаних запальних реакцій і збільшити продукцію протеїну. Клінічні випробування пока-

зали, що мРНК-вакцини викликали потужну імунну відповідь з утворенням клітин пам'яті, однак через 4–5 місяців після вакцинації спостерігалось зниження рівня антитіл, що свідчило про необхідність проведення ревакцинацій. мРНК-вакцини захищали від захворювання на COVID-19 з високою ефективністю (близько 95 %) [43] і виявилися відносно безпечними, викликаючи, як правило, лише місцеві прояви реактогенності, а серйозні побічні ефекти (такі як підвищення ризику виникнення міокардиту) траплялися вкрай рідко [44]. Значною перевагою мРНК-вакцин було й те, що залежно від актуального варіанту коронавірусу можна було швидко змінити послідовність мРНК у складі вакцини. Після виходу на ринок мРНК-вакцин ними було охоплено понад 80 % вакцинованих проти COVID-19 людей у Європі та понад 95 % – у Сполучених Штатах¹¹.

Успішне застосування мРНК-вакцин для захисту людства від пандемії COVID-19 і захмарні прибутки біотехнологічних компаній-розробників привернули ще більшу увагу вчених та інвесторів до технології мРНК, що підвищує ймовірність її вдосконалення у майбутньому і ширшого використання. Можливо, буде розроблено нові способи оптимізації мРНК до клінічного застосування (без введення модифікованих нуклеозидних основ), зокрема використовуючи модифікації полі-А «хвоста», або кільцеву мРНК, яка є більш стійкою до дії ензимів [45], або самоампліфікуючі вірусні РНК-реплікони [46]. Наступним кроком може стати створення пероральної або назальної нановакцини для цілеспрямованої доставки синтетичної мРНК у дихальні шляхи; полівалентної мРНК-вакцини, яка кодує багато антигенних детермінант вірусу від різних штамів і може слугувати унікальним інструментом у боротьбі з майбутніми пандеміями. Дехто вважає, що перспективною мішенню для мультивалентної вакцини проти COVID-19 може бути коронавірусний протеїн нуклеокапсиду N, в якому рідко бувають мутації.

¹¹ Our World in Data. Coronavirus (COVID-19) Vaccinations. <http://surl.li/nmext>

Сьогодні технологію мРНК використовують у широкому спектрі біомедичних застосувань і нанотехнологій: від доставки генів за допомогою наночастинок до генної терапії з використанням різноманітних наноматеріалів, відкриваючи нову еру мРНК-наномедицини. Тому системи доставки продовжують вдосконалювати: створюють нові вектори доставки на основі вірусоподібних частинок; олігомерів протеїнів і пептидів, які самі збираються в наночастинок; позаклітинних везикул; наноструктур ДНК; ліпідних, полімерних і гібридних наночастинок; неорганічних наночастинок із золота, кремнезему, графену, фосфату кальцію; металоорганічних каркасів, що складаються з катіонів металів і органічних лінкерів тощо. Ці системи доставки можуть націлюватися на певний орган чи тканину (пасивно чи активно, внаслідок зв'язування з лігандом, з яким взаємодіють певні клітини), а також контролювано вивільняти свій вміст (за дії певних факторів середовища: рН, присутність відновників, або забезпечуючи поступове вивільнення протягом тривалого періоду, зокрема при введенні у складі гідрогелів). Для підвищення імуногенності мРНК-вакцин до конструкції системи доставки включають ад'юванти або використовують для побудови наночастинок матеріали з ад'ювантними властивостями, наприклад природні зовнішні мембранні везикули, що виділяються бактеріями. Для систем доставки обирають нетоксичні компоненти або зменшують токсичність позитивно заряджених наночастинок екрануванням за допомогою шару поліетиленгліколю, циклодекстрину чи саліциламідів. Важливими чинниками, які враховують при розробленні систем доставки, є також біорозкладність і біосумісність, масштабованість виробництва, стабільність рецептури в середовищі організму, а також при зберіганні [47].

Крім того, може бути корисним використання штучного інтелекту для розроблення високоструктурованих суперскладчастих ланцюгів мРНК, які здатні збільшити стійкість мРНК-вакцин при зберіганні та транспортуванні (актуальним є зниження вимог щодо глибокого

охладження мРНК-вакцин). Іншою перспективною розробкою можуть бути вакцини, які достатньо вводити один раз без проведення ревакцинацій. Такі вакцини доставляють за допомогою стабільних наночастинок або локальних пластирів (наприклад, мікроглок), і вони періодично стимулюють імунітет, вивільняючи чергову дозу вакцини, що особливо актуально для груп населення, які не мають вільного доступу до медичних послуг [48].

мРНК-вакцини допомогли людству подолати пандемію COVID-19, але вони також можуть захистити його від багатьох інших інфекційних захворювань, зокрема запропонувати універсальний захист від грипу і навіть лікувати злоякісні пухлини. Слід зазначити, що відкриття Каріко і Вайсмана зробили технологію мРНК придатною до застосування з метою вирішення практично будь-якої медичної проблеми. На сьогодні найбільш перспективними для використання мРНК є такі напрями:

- 1) розроблення вакцин проти невідомих патогенів, здатних викликати пандемію, або проти вірусів, що швидко мутують;
- 2) боротьба з інфекційними захворюваннями, які важко піддаються лікуванню, або з «невловимими» збудниками;
- 3) розроблення вакцин, що навчають імунну систему боротися зі злоякісними пухлинами;
- 4) терапія рідкісних генетичних розладів і використання технологій редагування генів.

Оскільки синтетичну мРНК можливо виготовити за кілька днів, мРНК-вакцини можна швидко створювати для боротьби з новими інфекційними загрозами або швидко змінювати, щоб усунути вплив постійної еволюції вірусів, таких як коронавірус SARS-CoV-2 або вірус грипу. Біотехнологічна компанія Moderna випробувала мРНК-вакцини проти збудника віспи мавп, вірусів Зіка та Ніпа, які можуть стати джерелом нових пандемій [49]. Зараз багато компаній (Moderna, Pfizer, Sanofi Pasteur і GlaxoSmithKline у партнерстві з CureVac) зосередили свої зусилля на розробленні мРНК-вакцини проти грипу, який щороку спричиняє 400 тис. смертей у світі. Кілька компаній також працюють над комбінованими вакцинами, які

одночас захищають і від COVID-19, і від грипу. Яка стратегія переможе (використання універсальної вакцини чи щорічних вакцинацій, адаптованих до сезонних штамів), покаже час. Тогорічні випробування лабораторією Вайсмана універсальної мРНК-вакцини проти грипу, яка містила інформацію про антигени всіх 20 відомих підтипів вірусу грипу людини, показали, що вакцина захищала мишей і тхорів не лише від цих підтипів вірусу грипу, а й від інших також [50]. Крім того, цього року стартує клінічне випробування іншої мРНК-вакцини проти грипу, яка націлена на консервативну частину вірусу, що не так сильно змінюється з року в рік¹². Вакцина, яка б захищала не лише від наявних нових варіантів коронавірусу, а й від майбутніх зоонозних штамів, поки що в планах, але ці мрії стають усе ближчими до реальності. Сам Вайсман запевняє, що зараз уже є 18 майданчиків для виробництва мРНК-вакцини проти грипу, які вже працюють або ще будуються по всьому світу. До того ж він загадково зазначив, що таке «досить неймовірне» місце є й в Україні¹³. Що це за місце, автори не знають, але опанування технології створення мРНК-вакцин є стратегічним завданням вчених України. Поки що зусилля одного з авторів статті переконати керівництво нашої Академії, керівництво МОЗ України та директорат ВООЗ знайти і зосередити матеріальні та інтелектуальні ресурси на створенні мРНК-вакцин в Україні успіху не мали.

За фінансової підтримки BioNTech Д. Вайсман працює над створенням мРНК-вакцин і проти інших інфекційних захворювань, таких як генітальний герпес, СНІД, малярія. До списку захворювань, проти яких зараз розробляють мРНК-вакцини, можна додати такі хвороби, як гепатити В і С, лептоспіроз, туберкульоз, хвороба Лайма, псевдомембранозний коліт (викликаний *Clostridium difficile*), гастроентерит (викликаний норовірусом),

¹² Willyard C. mRNA vaccines just won a Nobel Prize. Now they're ready for the next act. <http://surl.li/nmfjf>

¹³ Weber T. Why we get annual flu shots – and how universal vaccines could knock out viruses. <http://surl.li/nmflf>

респіраторно-синцитіальна вірусна інфекція, оперізувальний лишай, простий герпес, акне, хламідіоз та багато інших.

мРНК-вакцини дають надію на подолання «невловимих» збудників інфекційних захворювань, таких як вірус Епштейна–Барр та цитомегаловірус (CMV), що викликає вроджені дефекти у немовлят, а також потенційно смертельну інфекцію у людей з ослабленою імунною системою. Понад 50 років не вдавалося отримати вакцину проти CMV, оскільки він використовує для входу в клітину та виходу з неї антигенний комплекс, що складається з п'яти протеїнів і який важко імітувати субодиночною вакциною. Натомість мРНК може забезпечити синтез цих протеїнів у клітині та їх правильне збирання. Цікаво, що вакцина проти CMV від Moderna, яка зараз проходить останню фазу випробувань, стимулює імунну відповідь у деяких тканинах сильніше, ніж природне інфікування CMV. Очевидно, нарешті настав час покінчити з цією найпоширенішою причиною інфекційної інвалідності [49].

Одним із «проблемних» інфекційних захворювань, що досі не вдається подолати, є малярія, на яку щороку хворіє 200 млн людей і гине приблизно 400 тис., особливо дітей. Збудником малярії є малярійний плазмодій (*Plasmodium falciparum*) — вид паразитичних найпростіших, здатний розвивати резистентність до протималярійних препаратів, що робить профілактику і лікування малярії малоефективними. Нещодавно було розроблено моноклональні антитіла проти консервативної ділянки циркумспорозойтного протеїну (CSP) плазмодія, яка не піддається мутаціям. Ці антитіла блокували можливість зараження спорозоїтами клітин печінки, де збудник перетворюється на іншу форму, здатну руйнувати еритроцити та викликати захворювання. Випробування на добровольцях показали, що розроблені антитіла здатні захищати людей від зараження малярійним плазмодієм протягом пів року, що відкриває перспективи створення ефективної мРНК-вакцини проти малярії [51].

мРНК-вакцини можуть також захистити від захворювань, що передаються статевим шля-

хом. Найбільш поширеним з них є інфекція, яку викликає вірус простого герпесу 2 (HSV-2), — це невиліковна хвороба, яка може супроводжуватися сильним болем, впливати на психічне та емоційне здоров'я, збільшувати ризик зараження збудниками інших інфекцій (наприклад, ВІЛ), а також може бути смертельною для новонароджених і ембріонів у випадку інфікування матері. Фрідман, Вайсман та їхні колеги розробили мРНК-вакцину проти HSV-2, яка ініціює імунну відповідь проти трьох антигенів вірусу (gC2, gD2 і gE2). Дослідження на мишах показали, що ця вакцина забезпечує ефективний захист не лише від HSV-2, а й від HSV-1 [52].

мРНК-вакцини можна націлити не лише на певні антигени збудників інфекційних захворювань, а й на десятки антигенів пухлинних клітин, що має стимулювати імунну систему до боротьби з раком і ускладнити раковим клітинам пошук способів ухилення від імунної відповіді. Зараз тривають клінічні випробування нового класу таких персоналізованих вакцин проти злоякісного росту. Але мРНК-вакцини проти злоякісних пухлин можуть бути не просто вакцинами, що містять інформацію про певні протеїни, а й терапевтичними препаратами. мРНК здатна доставляти в клітини супресори пухлин, імуностимулювальні молекули (наприклад, цитокіни) для підсилення імунотерапії раку або спонукати клітини виробляти антитіла, які можуть допомогти викликати імунну відповідь. Цей напрям активно розробляє компанія BioNTech. Крім того, мРНК можна використовувати в клітинній терапії, в якій у клітини пацієнта *ex vivo* вводять мРНК для зміни клітинного фенотипу або функції, а потім їх розмножують і повертають пацієнту [49].

Насправді експериментальну мРНК-вакцину проти злоякісного росту від BioNTech вперше було розроблено та випробувано на людях ще у 2008 р., коли у хворих на меланому значно зменшився ризик розвитку нових метастатичних уражень. Пізніше клінічні дослідження терапевтичної мРНК-вакцини FixVac (BioNTech), націленої на чотири основні пухлинні антигени меланоми, в поєднанні



Каталін Каріко і Дрю Вайсман у Пенсільванському університеті. Фото: Peggy Peterson/Penn Medicine/Reuters

з інгібіторами контрольних точок, які блокували протеїн PD1, показали успішну індукцію Т-клітинної імунної відповіді проти пухлини [53]. Протипухлинна мРНК-вакцина від Moderna, яка використовує інший підхід, подібним чином викликала імунну відповідь у солідних пухлинах, а її поєднання з інгібіторами контрольних точок привело до зменшення пухлин у 6 пацієнтів із 20. Нещодавнє доклінічне дослідження BioNTech також показало, що застосування терапії CARVac — поєднання мРНК-вакцини з CAR-T-клітинною терапією приводило до активації дендритних клітин, які своєю чергою стимулювали й підвищували ефективність CAR-T-клітин.

Поки тривають випробування мРНК-вакцин проти раку, єдиною офіційно схваленою у 2010 р. в США вакциною проти раку залишається персоналізована вакцина Provenge (Sipuleucel-T) від Dendreon Corporation проти метастатичного раку передміхурової залози, яка стимулює імунну відповідь на простатичну кислоту фосфатазу (PAP) — антиген, притаманний раку простати. Ця вакцина не використовує технологію мРНК і налаштовується персонально для кожного пацієнта. Клінічні випробування показали, що вона збільшує виживаність чоловіків із метастатичним раком передміхурової залози, стійким до гормонів, приблизно на чотири місяці. Досить дороге лікування (\$141 тис. за курс) з використанням

Provenge проводять тільки в США, незважаючи на отримані дозволи на використання в країнах Європи та в Китаї¹⁴.

З 2008 по 2013 р. було розроблено кілька інструментів редагування генів на основі мРНК, таких як нуклеази цинкового пальця, TALEN і CRISPR-Cas9. Виявилося, що головний недолік мРНК — її нестабільність — може бути перевагою при використанні в системах для редагування генів. Так, при редагуванні геному (наприклад, за допомогою технології CRISPR-Cas9) дуже важливо, щоб ензими, які розрізають ДНК, не затримувалися в клітині надто довго через ймовірність ненавмисного редагування. мРНК може забезпечити доставку інструкцій для синтезу певних ензимів та зникнення їх після виконання роботи [49].

Компанії працюють над мРНК-терапією для рідкісних захворювань, таких як муковісцидоз. Люди з цим захворюванням мають мутації в гені CFTR, що відповідає за транспортування іонів хлору через мембрану клітини. Ці мутації призводять до утворення липкого слизу, який закорковує легені та викликає респіраторні інфекції з рецидивами. Компанія Vertex у співпраці з Moderna розробили й отримали дозвіл на випробування мРНК-препарату, який при вдиханні потрапляє в легені й виправляє мутації в гені CFTR. Moderna також розпочала клінічні випробування мРНК-препаратів для лікування таких метаболічних розладів, як метилмалонова і пропіонова ацидемії¹⁵.

Оскільки в мРНК-терапію вже було інвестовано мільярди доларів, неухильно зростає кількість біотехнологічних компаній, які застосовують мРНК-технології для лікування онкологічних, генетичних, серцево-судинних та інфекційних захворювань. Серед них — Moderna, CureVac, BioNTech, Argos Therapeutics, Translate Bio, Ethris і Arcturus. На сьогодні проводять понад 200 клінічних випробувань мРНК-вакцин проти різних захворювань, з яких майже 100 — проти раку.

¹⁴ Graff S. How mRNA vaccines help fight cancer tumors, too. <http://surl.li/nmgaa>

¹⁵ Willyard C. mRNA vaccines just won a Nobel Prize. Now they're ready for the next act. <http://surl.li/nmfjf>

Відкриття, зроблені Каріко і Вайсманом, стали важливим кроком на шляху до створення двох найважливіших і найприбутковіших вакцин в історії: вакцин проти COVID-19 на основі мРНК, які було введено сотням мільйонів людей у всьому світі. Лише у 2021 р. глобальні продажі цих продуктів перевищили \$80 млрд¹⁶. Коли справа стосується величезних грошей, слави та престижних відзнак, одразу починаються судові процеси щодо прав на інтелектуальну власність і дебати про те, хто зробив найбільший внесок у відкриття та чи дійсно нобелівські лауреати заслужили на таку честь. Цьогорічна Нобелівська премія з фізіології або медицини не стала винятком.

Пенсільванський університет у 2006 р. подав заявку на патент щодо винаходу Каріко і Вайсмана, який стосувався використання модифікованої мРНК. Moderna намагалася отримати ліцензію на цей патент, але спізнилася: університет, не досягнувши компромісу з компанією RNARx, у 2010 р. надав виключні патентні права за \$300 тис. невеликому постачальнику лабораторних реактивів у Медісоні, який тепер називається Cellscript. Залишившись без прав на патент, Moderna була змушена у 2014 р. отримати патент на власний модифікований нуклеозид, який би так само позбавляв мРНК імуногенності. Згодом Moderna отримала ще кілька патентів, але це не допомогло уникнути численних судових позовів, які почали подавати один на одного основні виробники мРНК-вакцин проти COVID-19. Судові засідання з цього питання триватимуть і в 2024 р., хоча певних результатів уже досягнуто: у 2021 р. компанія Cellscript, яка володіє правами на патент Каріко і Вайсмана, отримала за субліцензії по \$75 млн від Moderna та BioNTech — розробників перших мРНК-вакцин проти COVID-19, що містять модифіковану мРНК¹⁷. Однак складні ліцензійні відносини між основними гравцями зберігають за Пенсільван-

ським університетом, Каріко і Вайсманом право отримувати значну фінансову вигоду в майбутньому від продажу мРНК-вакцин.

Дослідники досі сперечаються про те, чи є відкриття Каріко і Вайсмана важливим для успішного розроблення мРНК-вакцин і чи заслужено вони отримали Нобелівську премію. Так, Роберт Мелоун, який був співавтором двох важливих робіт під керівництвом Філіпа Фелгнера щодо введення мРНК у клітини організму [8, 15], вважає саме себе винахідником мРНК-вакцин і жаліється, що його «викреслили з історії» і «збагатилися на продуктах його розуму». Слід зауважити, що Роберт Мелоун не був першим, хто ввів мРНК у живі клітини [7] або використав ліпосоми для доставки мРНК [13]. Катіонні ліпіди, з якими він працював, також було винайдено без його участі [14]. Принаймні внесок Філіпа Фелгнера та інших провідних учених того часу, що досліджували мРНК, був більшим. Можливо, скептичне ставлення до заслуг Роберта Мелоуна спричинене ще й пов'язаними з ним скандалами: Мелоун просував препарати для лікування COVID-19 (фамотидин і гідроксихлорохін) до завершення клінічних випробувань через власну зацікавленість і безпідставно критикував мРНК-вакцини, стверджуючи, що вони надзвичайно токсичні завдяки протеїну S, шкідливі для дітей, викликають в американців масовий психоз, певну форму СНІДу і численні смерті (доказом цього було сфальсифіковане відео про загибель нібито від мРНК-вакцини відомого 17-річного футболіста Джейка Веста, який насправді помер у 2013 р. від зупинки серця). Водночас Мелоун зізнався, що зробив щеплення вакциною Moderna через тривалий перебіг COVID-19 і тому, що йому з дружиною потрібно було подорожувати. В результаті судових позивів і розгляду цього питання на рівні Конгресу обліковий запис Мелоуна у Twitter було «назавжди призупинено» (лише наприкінці 2022 р. Ілон Маск його знову відкрив, запровадивши нову політику в компанії)¹⁸.

¹⁶ Sagonowsky E., Liu A., Kansteiner F., Becker Z., Dunleavy K. The top 10 vaccine companies worldwide. <http://surl.li/nkslg>

¹⁷ Nobel for Physiology 2023. What does it Miss? <http://surl.li/nmhvs>

¹⁸ Robert W. Malone. Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/Robert_W._Malone

Слід відзначити вагомий внесок у розвиток мРНК-технологій і інших розробників ефективних засобів доставки мРНК у клітини. Так, завдяки Пітеру Каллісу, який розробив наночастинки з іонізованих катіонних ліпідів, було засновано кілька успішних компаній, зокрема Alnylam Pharmaceuticals, яка створила перший дозволений в США препарат на основі інтерференційних олігонуклеотидів Patisiran (комерційна назва Opattro), який пригнічує синтез протеїну транстиретину шляхом РНК-інтерференції та призначений для лікування рідкісного захворювання — спадкової амілоїдної полінейропатії.

У своїх дослідженнях Каталін Каріко спиралася на роботу вчених з Університету Вісконсину та біотехнологічної компанії Vical Incorporated, які у 1990 р. (за участі Роберта Мелуона) розробили основні підходи до одержання *in vitro* транскрипційної мРНК, здатної забезпечити синтез певного протеїну в живій клітині [8]. Сама Каріко вважає, що протягом десятиліть кожний учений робив свій внесок у розвиток технології мРНК, і вона разом з Дрю Вайсманом зробила свій. Так уже вийшло, що цей внесок виявився «останньою краплею», яка нарешті схилила терези наукового прогресу в бік доцільності використання мРНК-технологій для створення вакцин і терапевтичних препаратів нового покоління.

Дехто каже, що інші також використовували модифіковану мРНК (наприклад, компанія Moderna, сама назва якої є скороченням від «MODified RNA») або успішно створили мРНК-вакцину, не використовуючи модифіко-

вані нуклеозиди (як компанія CureVac). Слід зауважити, що за результатами клінічних випробувань вакцина CureVac проти COVID-19 виявилася набагато менш ефективною (48,2 %) за аналогічні мРНК-вакцини з модифікованими нуклеозидами [54] і не отримала дозвіл на використання в Європі. І навіть якщо в майбутньому буде знайдено альтернативні й водночас не менш ефективні способи зробити мРНК неімуногенною, відкриття Каріко і Вайсмана не втратить своєї значущості, адже вони зробили головне — показали іншим дослідникам шлях, яким синтетична мРНК може прослизнути повз вроджений імунний захист клітини.

Історія цього відкриття не може не вражати: вона сповнена драматичних подій, щасливих випадковостей, геніальних здогадок, наполегливої праці і, безперечно, незламної волі у відстоюванні своїх ідей. Неможливо сказати, чого тут більше: впливу долі чи ролі особистості. Просто дивовижно, що у 2005 р. абсолютно ніхто не звернув увагу на відкриття, яке в подальшому започаткувало нову еру для технології та виробництва мРНК-вакцин, дало людству захист від масштабної пандемії COVID-19 і подібних викликів у майбутньому, а тоді його автори, попри очікування, не отримали жодного телефонного дзвінка. Однак тепер з упевненістю можна припустити, що їхні телефони дзвонять практично безперервно, а прогрес нової галузі науки на стику імунології, генетики та наномедицини, яка відкриває широкі перспективи використання мРНК для боротьби з багатьма захворюваннями різної природи, вже ніщо не зможе зупинити.

REFERENCES

1. Tang D.C., DeVit M., Johnston S.A. Genetic immunization is a simple method for eliciting an immune response. *Nature*. 1992. **356**(6365): 152–154. <https://doi.org/10.1038/356152a0>
2. Martinon F., Krishnan S., Lenzen G., Magné R., Gomard E., Guillet J.G., Lévy J.P., Meulien P. Induction of virus-specific cytotoxic T lymphocytes in vivo by liposome-entrapped mRNA. *Eur. J. Immunol.* 1993. **23**(7): 1719–1722. <https://doi.org/10.1002/eji.1830230749>
3. Liu M.A., Ulmer J.B. Human clinical trials of plasmid DNA vaccines. *Adv. Genet.* 2005. **55**: 25–40. [https://doi.org/10.1016/S0065-2660\(05\)55002-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2660(05)55002-8)
4. Brenner S., Jacob F., Meselson M. An unstable intermediate carrying information from genes to ribosomes for protein synthesis. *Nature*. 1961. **190**: 576–581. <https://doi.org/10.1038/190576a0>

5. Gros F., Hiatt H., Gilbert W., Kurland C.G., Risebrough R.W., Watson J.D. Unstable ribonucleic acid revealed by pulse labelling of *Escherichia coli*. *Nature*. 1961. **190**: 581–585. <https://doi.org/10.1038/190581a0>
6. Lockard R.E., Lingrel J.B. The synthesis of mouse hemoglobin beta-chains in a rabbit reticulocyte cell-free system programmed with mouse reticulocyte 9S RNA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1969. **37**(2): 204–212. [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(69\)90720-7](https://doi.org/10.1016/0006-291x(69)90720-7)
7. Gurdon J.B., Lane C.D., Woodland H.R., Marbaix G. Use of frog eggs and oocytes for the study of messenger RNA and its translation in living cells. *Nature*. 1971. **233**(5316): 177–182. <https://doi.org/10.1038/233177a0>
8. Wolff J.A., Malone R.W., Williams P., Chong W., Acsadi G., Jani A., Felgner P.L. Direct gene transfer into mouse muscle in vivo. *Science*. 1990. **247**(4949 Pt. 1): 1465–1468. <https://doi.org/10.1126/science.1690918>
9. Krieg P.A., Melton D.A. Functional messenger RNAs are produced by SP6 in vitro transcription of cloned cDNAs. *Nucleic Acids Res.* 1984. **12**(18): 7057–7070. <https://doi.org/10.1093/nar/12.18.7057>
10. Dunn J.J., Studier F.W. Complete nucleotide sequence of bacteriophage T7 DNA and the locations of T7 genetic elements. *J. Mol. Biol.* 1983. **166**(4): 477–535. [https://doi.org/10.1016/s0022-2836\(83\)80282-4](https://doi.org/10.1016/s0022-2836(83)80282-4)
11. Studier F.W., Moffatt B.A. Use of bacteriophage T7 RNA polymerase to direct selective high-level expression of cloned genes. *J. Mol. Biol.* 1986. **189**(1): 113–130. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(86\)90385-2](https://doi.org/10.1016/0022-2836(86)90385-2)
12. Langer R., Folkman J. Polymers for the sustained release of proteins and other macromolecules. *Nature*. 1976. **263**(5580): 797–800. <https://doi.org/10.1038/263797a0>
13. Ostro M.J., Giacomoni D., Lavelle D., Paxton W., Dray S. Evidence for translation of rabbit globin mRNA after liposome-mediated insertion into a human cell line. *Nature*. 1978. **274**(5674): 921–923. <https://doi.org/10.1038/274921a0>
14. Felgner P.L., Gadek T.R., Holm M., Roman R., Chan H.W., Wenz M., Northrop J.P., Ringold G.M., Danielsen M. Lipofection: a highly efficient, lipid-mediated DNA-transfection procedure. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1987. **84**(21): 7413–7417. <https://doi.org/10.1073/pnas.84.21.7413>
15. Malone R.W., Felgner P.L., Verma I.M. Cationic liposome-mediated RNA transfection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1989. **86**(16): 6077–6081. <https://doi.org/10.1073/pnas.86.16.6077>
16. Gref R., Minamitake Y., Peracchia M.T., Trubetsky V., Torchilin V., Langer R. Biodegradable long-circulating polymeric nanospheres. *Science*. 1994. **263**(5153): 1600–1603. <https://doi.org/10.1126/science.8128245>
17. Zhou X., Berglund P., Rhodes G., Parker S.E., Jondal M., Liljeström P. Self-replicating Semliki Forest virus RNA as recombinant vaccine. *Vaccine*. 1994. **12**(16): 1510–1514. [https://doi.org/10.1016/0264-410x\(94\)90074-4](https://doi.org/10.1016/0264-410x(94)90074-4)
18. Jirikowski G.F., Sanna P.P., Maciejewski-Lenoir D., Bloom F.E. Reversal of diabetes insipidus in Brattleboro rats: intrahypothalamic injection of vasopressin mRNA. *Science*. 1992. **255**(5047): 996–998. <https://doi.org/10.1126/science.1546298>
19. Karikó K., Keller J.M., Harris V.A., Langer D.J., Welsh F.A. In vivo protein expression from mRNA delivered into adult rat brain. *J. Neurosci. Methods*. 2001. **105**(1): 77–86. [https://doi.org/10.1016/s0165-0270\(00\)00355-1](https://doi.org/10.1016/s0165-0270(00)00355-1)
20. Weissman D., Ni H., Scales D., Dude A., Capodici J., McGibney K., Abdoal A., Isaacs S.N., Cannon G., Karikó K. HIV gag mRNA transfection of dendritic cells (DC) delivers encoded antigen to MHC class I and II molecules, causes DC maturation, and induces a potent human in vitro primary immune response. *J. Immunol.* 2000. **165**(8): 4710–4717. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.165.8.4710>
21. Ni H., Capodici J., Cannon G., Communi D., Boeynaems J.M., Karikó K., Weissman D. Extracellular mRNA induces dendritic cell activation by stimulating tumor necrosis factor-alpha secretion and signaling through a nucleotide receptor. *J. Biol. Chem.* 2002. **277**(15): 12689–12696. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110729200>
22. Akira S., Hemmi H. Recognition of pathogen-associated molecular patterns by TLR family. *Immunol. Lett.* 2003. **85**(2): 85–95. [https://doi.org/10.1016/s0165-2478\(02\)00228-6](https://doi.org/10.1016/s0165-2478(02)00228-6)
23. Diebold S.S., Kaisho T., Hemmi H., Akira S., Reis e Sousa C. Innate antiviral responses by means of TLR7-mediated recognition of single-stranded RNA. *Science*. 2004. **303**(5663): 1529–1531. <https://doi.org/10.1126/science.1093616>
24. Heil F., Hemmi H., Hochrein H., Ampenberger F., Kirschning C., Akira S., Lipford G., Wagner H., Bauer S. Species-specific recognition of single-stranded RNA via toll-like receptor 7 and 8. *Science*. 2004. **303**(5663): 1526–1529. <https://doi.org/10.1126/science.1093620>
25. Hemmi H., Takeuchi O., Kawai T., Kaisho T., Sato S., Sanjo H., Matsumoto M., Hoshino K., Wagner H., Takeda K., Akira S. A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature*. 2000. **408**(6813): 740–745. <https://doi.org/10.1038/35047123>
26. Karikó K., Ni H., Capodici J., Lamphier M., Weissman D. mRNA is an endogenous ligand for Toll-like receptor 3. *J. Biol. Chem.* 2004. **279**(13): 12542–12550. <https://doi.org/10.1074/jbc.M310175200>
27. Karikó K., Buckstein M., Ni H., Weissman D. Suppression of RNA recognition by Toll-like receptors: the impact of nucleoside modification and the evolutionary origin of RNA. *Immunity*. 2005. **23**(2): 165–175. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2005.06.008>

28. Karikó K., Muramatsu H., Welsh F.A., Ludwig J., Kato H., Akira S., Weissman D. Incorporation of pseudouridine into mRNA yields superior nonimmunogenic vector with increased translational capacity and biological stability. *Mol. Ther.* 2008. **16**(11): 1833–1840. <https://doi.org/10.1038/mt.2008.200>
29. Anderson B.R., Muramatsu H., Nallagatla S.R., Bevilacqua P.C., Sansing L.H., Weissman D., Karikó K. Incorporation of pseudouridine into mRNA enhances translation by diminishing PKR activation. *Nucleic. Acids Res.* 2010. **38**(17): 5884–5892. <https://doi.org/10.1093/nar/gkq347>
30. Anderson B.R., Muramatsu H., Jha B.K., Silverman R.H., Weissman D., Karikó K. 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): 9329–9338. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr586>
31. Karikó K., Muramatsu H., Ludwig J., Weissman D. Generating the optimal mRNA for therapy: HPLC purification eliminates immune activation and improves translation of nucleoside-modified, protein-encoding mRNA. *Nucleic Acids Res.* 2011. **39**(21): e142. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr695>
32. Baiersdörfer M., Boros G., Muramatsu H., Mahiny A., Vlatkovic I., Sahin U., Karikó K. A Facile Method for the Removal of dsRNA Contaminant from In Vitro-Transcribed mRNA. *Mol. Ther. Nucleic Acids.* 2019. **15**: 26–35. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2019.02.018>
33. Hoerr I., Obst R., Rammensee H.G., Jung G. In vivo application of RNA leads to induction of specific cytotoxic T lymphocytes and antibodies. *Eur. J. Immunol.* 2000. **30**(1): 1–7. [https://doi.org/10.1002/1521-4141\(200001\)30:1<1::AID-IMMU1>3.0.CO;2-#](https://doi.org/10.1002/1521-4141(200001)30:1<1::AID-IMMU1>3.0.CO;2-#)
34. Dolgin E. The tangled history of mRNA vaccines. *Nature.* 2021. **597**(7876): 318–324. <https://doi.org/10.1038/d41586-021-02483-w>
35. Pardi N., Hogan M.J., Pelc R.S., 33 coauthors, Weissman D. Zika virus protection by a single low-dose nucleoside-modified mRNA vaccination. *Nature.* 2017. **543**(7644): 248–251. <https://doi.org/10.1038/nature21428>
36. Bahl K., Senn J.J., Yuzhakov O., Bulychev A., Brito L.A., Hassett K.J., Laska M.E., Smith M., Almarsson Ö., Thompson J., Ribeiro A.M., Watson M., Zaks T., Ciaramella G. Preclinical and clinical demonstration of immunogenicity by mRNA vaccines against H10N8 and H7N9 influenza viruses. *Mol. Ther.* 2017. **25**(6): 1316–1327. <https://doi.org/10.1016/j.jymthe.2017.03.035>
37. Komisarenko S.V. Scientists' pursuit for SARS-COV-2 coronavirus: strategies against pandemic. *Ukr. Biochem. J.* 2020. **92**(6): 5–52. <https://doi.org/10.15407/ubj92.06.005>
38. Wrapp D., Wang N., Corbett K.S., Goldsmith J.A., Hsieh C.L., Abiona O., Graham B.S., McLellan J.S. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science.* 2020. **367**(6483): 1260–1263. <https://doi.org/10.1126/science.abb2507>
39. Kryniina O.I., Romaniuk S.I., Gorbatiuk O.B., Korchynskyi O.H., Rebrüev A.V., Kulyk Ya.S., Kozadaieva Ye.O., Siromolot A.A., Guzyk M.M., Kolybo D.V., Komisarenko S.V. Production of recombinant SARS-CoV-2 proteins and diphtheria toxoid CRM197-based fusion. *Ukr. Biochem. J.* 2021. **93**(6): 31–45. <https://doi.org/10.15407/ubj93.06.031>
40. Qiao H., Pelletier S.L., Hoffman L., Hacker J., Armstrong R.T., White J.M. Specific single or double proline substitutions in the “spring-loaded” coiled-coil region of the influenza hemagglutinin impair or abolish membrane fusion activity. *J. Cell. Biol.* 1998. **141**(6): 1335–1347. <https://doi.org/10.1083/jcb.141.6.1335>
41. Sahin U., Muik A., Derhovanessian E., 38 coauthors, Türeci Ö. COVID-19 vaccine BNT162b1 elicits human antibody and TH1 T cell responses. *Nature.* 2020. **586**(7830): 594–599. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2814-7>
42. Corbett K.S., Edwards D.K., Leist S.R., 58 coauthors, Graham B.S. SARS-CoV-2 mRNA vaccine design enabled by prototype pathogen preparedness. *Nature.* 2020. **586**(7830): 567–571. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2622-0>
43. Polack F.P., Thomas S.J., Kitchin N., 24 coauthors, Gruber W.C., C4591001 Clinical Trial Group. Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine. *N. Engl. J. Med.* 2020. **383**(27): 2603–2615. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2034577>
44. Husby A., Køber L. COVID-19 mRNA vaccination and myocarditis or pericarditis. *Lancet.* 2022. **399**(10342): 2168–2169. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)00842-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)00842-X)
45. Qu L., Yi Z., Shen Y., 28 coauthors, Wei W. Circular RNA vaccines against SARS-CoV-2 and emerging variants. *Cell.* 2022. **185**(10): 1728–1744.e16. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.03.044>
46. O'Connor M.A., Hawman D.W., Meade-White K., 23 coauthors, Erasmus J.H. A replicon RNA vaccine can induce durable protective immunity from SARS-CoV-2 in nonhuman primates after neutralizing antibodies have waned. *PLoS Pathog.* 2023. **19**(4): e1011298. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1011298>
47. Sun B., Wu W., Narasipura E.A., Ma Y., Yu C., Fenton O.S., Song H. Engineering nanoparticle toolkits for mRNA delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2023. **200**: 115042. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2023.115042>

48. Conde J., Langer R., Rueff J. mRNA therapy at the convergence of genetics and nanomedicine. *Nat. Nanotechnol.* 2023. **18**(6): 537–540. <https://doi.org/10.1038/s41565-023-01347-w>
49. Dolgin E., Ledford H. mRNA COVID vaccines saved lives and won a Nobel – what’s next for the technology? <https://www.nature.com/articles/d41586-023-03119-x>
50. Arevalo C.P., Bolton M.J., Le Sage V., 13 coauthors, Weissman D., Hensley S.E. A multivalent nucleoside-modified mRNA vaccine against all known influenza virus subtypes. *Science.* 2022. **378**(6622): 899–904. <https://doi.org/10.1126/science.abm0271>
51. Cohen J. ‘Landmark’ study finds artificial antibodies can protect against malaria. *Science News.* <https://doi.org/10.1126/science.abl8960>
52. Egan K.P., Awasthi S., Tebaldi G., Hook L.M., Naughton A.M., Fowler B.T., Beattie M., Alameh M.G., Weissman D., Cohen G.H., Friedman H.M. A trivalent HSV-2 gC2, gD2, gE2 nucleoside-modified mRNA-LNP vaccine provides outstanding protection in mice against genital and non-genital HSV-1 infection, comparable to the same antigens derived from HSV-1. *Viruses.* 2023. **15**(7): 1483. <https://doi.org/10.3390/v15071483>
53. Sahin U., Oehm P., Derhovanessian E., 37 coauthors, Türeci Ö. An RNA vaccine drives immunity in checkpoint-inhibitor-treated melanoma. *Nature.* 2020. **585**(7823): 107–112. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2537-9>
54. Cromer D., Reynaldi A., Steain M., Triccas J.A., Davenport M.P., Khoury D.S. Relating in vitro neutralization level and protection in the CVnCoV (CUREVAC) Trial. *Clin. Infect. Dis.* 2022. **75**(1): e878–e879. <https://doi.org/10.1093/cid/ciac075>

Serhiy V. Komisarenko

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3244-3194>

Palladin Institute of Biochemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Svitlana I. Romaniuk

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3900-6755>

Palladin Institute of Biochemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

THE VICTORY OF mRNA VACCINES OVER THE PANDEMIC OF THE SARS-CoV-2,
THE CORONAVIRUS THAT CAUSES THE DISEASE COVID-19, OR HOW SYNTHETIC
mRNA SLIPPED PAST THE CELL'S INNATE IMMUNE DEFENSE

Nobel Prize in Physiology or Medicine for 2023

The Nobel Prize in Physiology or Medicine in 2023 was awarded to two scientists: the Hungarian-American biochemist Katalin Karikó and the American immunologist Drew Weissman from the University of Pennsylvania, Philadelphia (Katalin Karikó simultaneously works at the Szeged University in Hungary) “for their discoveries concerning nucleoside base modifications that enabled the development of effective mRNA vaccines against COVID-19”. As stated in the press release of the Nobel Committee, the discoveries by the two Nobel Laureates were critical for developing effective mRNA vaccines against COVID-19 during the pandemic that began in early 2020. Through their groundbreaking findings, which have fundamentally changed our understanding of how mRNA interacts with our immune system, the laureates contributed to the unprecedented rate of vaccine development during one of the greatest threats to human health in modern times.

Keywords: Nobel Prize in Physiology or Medicine 2023, Katalin Karikó, Drew Weissman, SARS-CoV-2 pandemic, COVID-19, mRNA vaccine.

Cite this article: Komisarenko S.V., Romaniuk S.I. The victory of mRNA vaccines over the pandemic of the SARS-CoV-2, the coronavirus that causes the disease COVID-19, or how synthetic mRNA slipped past the cell’s innate immune defense. *Visn. Nac. Akad. Nauk Ukr.* 2023. (12): 3–25. <https://doi.org/10.15407/visn2023.12.003>