

Allgemeine Aussage: Die mRNA der „Impfung“ bleibt nur kurz an der Impfstelle im Muskel..... Wirklich???

Sahin U, Nat. Rev. Drug. Discov. 2014;13:759



mRNA. Moreover, professional antigen-presenting cells, which are the targets for mRNA-based vaccine delivery, are constitutively equipped with a specialized mechanism for mRNA uptake. Beyond applications for cancer immunotherapy, mRNA-based vaccine development may also create opportunities to manage newly emerging pandemics. Recent progress in synthetic DNA technol-

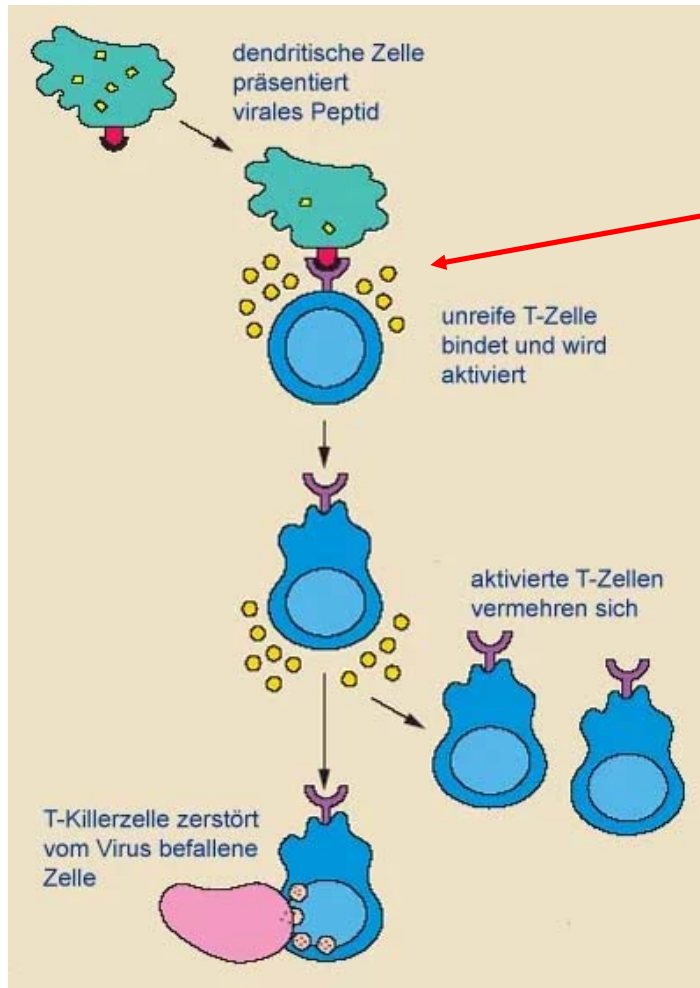
<https://www.aerzteblatt.de/nachrichten/121745/Biontech-Nanopartikel-sind-schwieriger-herzustellen-als-mRNA>

Der Onkologe und Impfstoffforscher betonte, der eigentliche Wirkstoff des Vakzins, die mRNA, ließe sich „innerhalb von Stunden herstellen“. Die Herausforderung liege vielmehr in der Herstellung der Nanopartikel, die die mRNA umhüllten und an ihren Zielort – vor allem **Dendritische Zellen in Lymphknoten** – transportieren sollen.

Je nachdem, wie diese Lipid-Nanopartikel an der Oberfläche konstruiert sind, verhalten sie sich unterschiedlich. Sahin: "Für den Covid-19-Kandidatimpfstoff haben wir Lipid-Nanopartikel gewählt, **die eine Wanderung aus den Muskelzellen in Lymphknoten begünstigt. Dendritische** (Antigen-präsentierende; Anm.) **Zellen** präsentieren dann das entstandene S-Protein dem Immunsystem.

<https://www.diepresse.com/5861311/teil-des-covid-19-impfstoffes-konnte-aus-osterreich-kommen>

Die simple Vorstellung hinter der Idee:



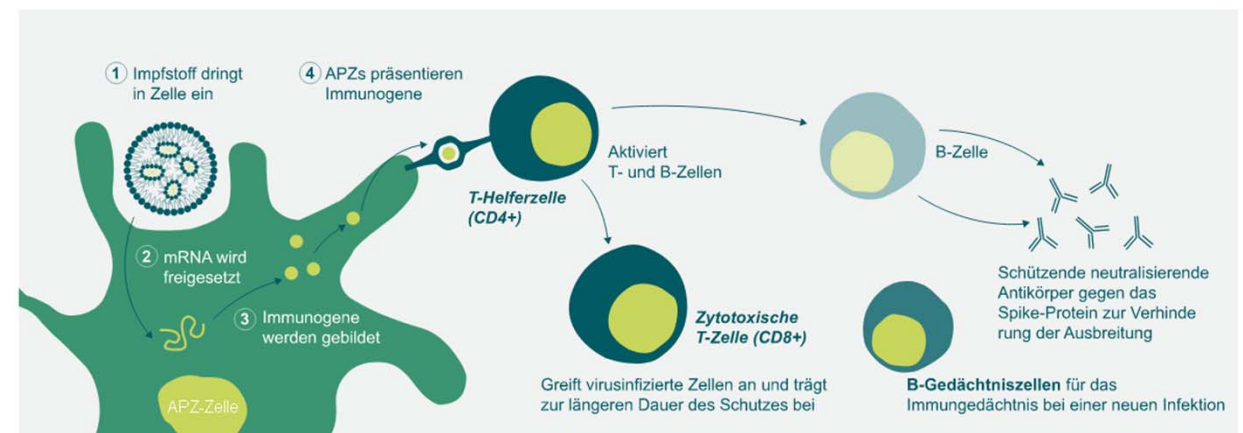
ABER:

Botenstoffe und die richtigen Signale auf den Dendritischen Zellen werden benötigt, um die Immunaktivierung zu erlauben.

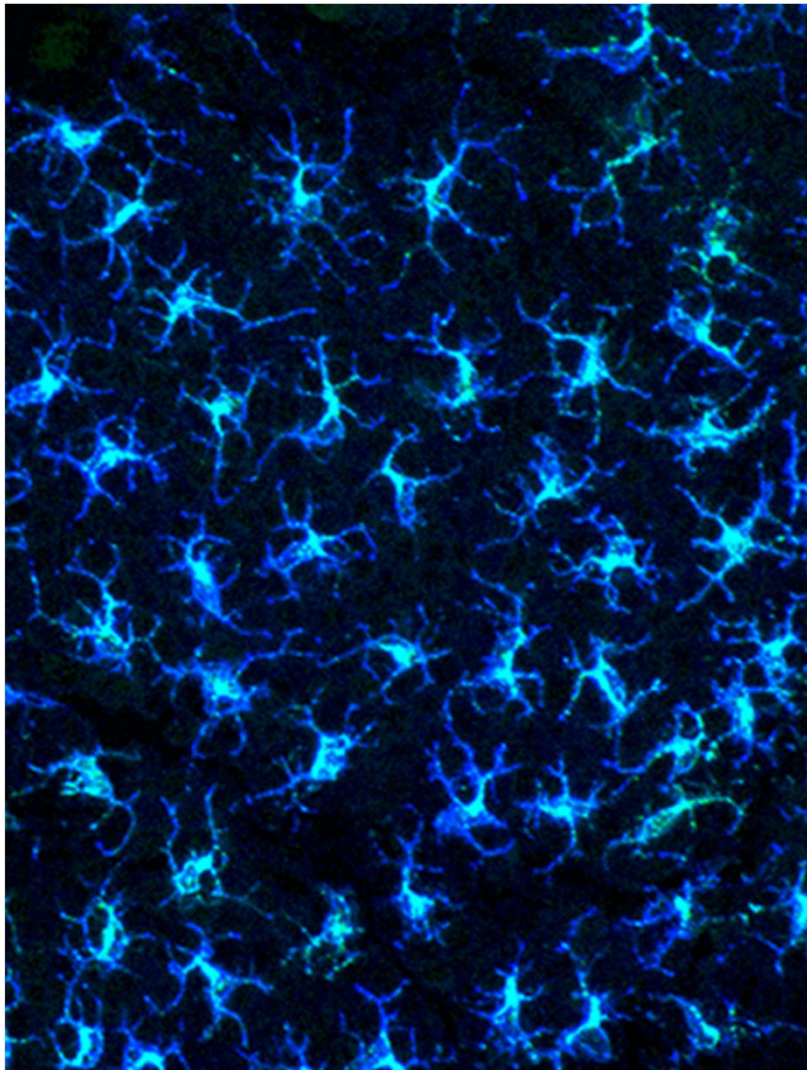
Nur wenn die dendritische Zelle diese Botenstoffe (Cytokine) und die Aktivierungsmoleküle auf der Oberflächen in der richtigen Art bildet, funktioniert das System der Immunaktivierung

BIONTECH

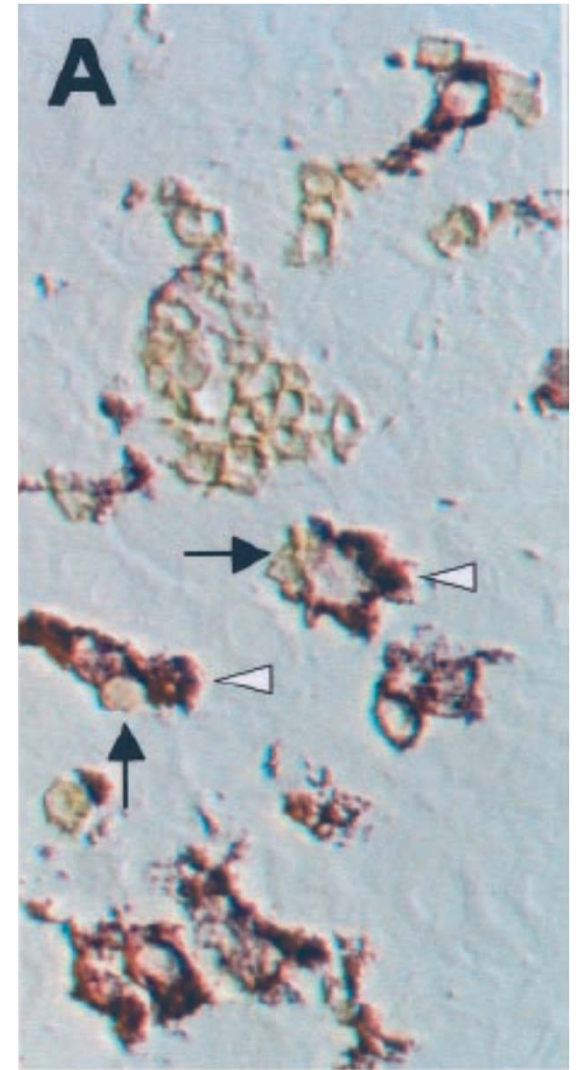
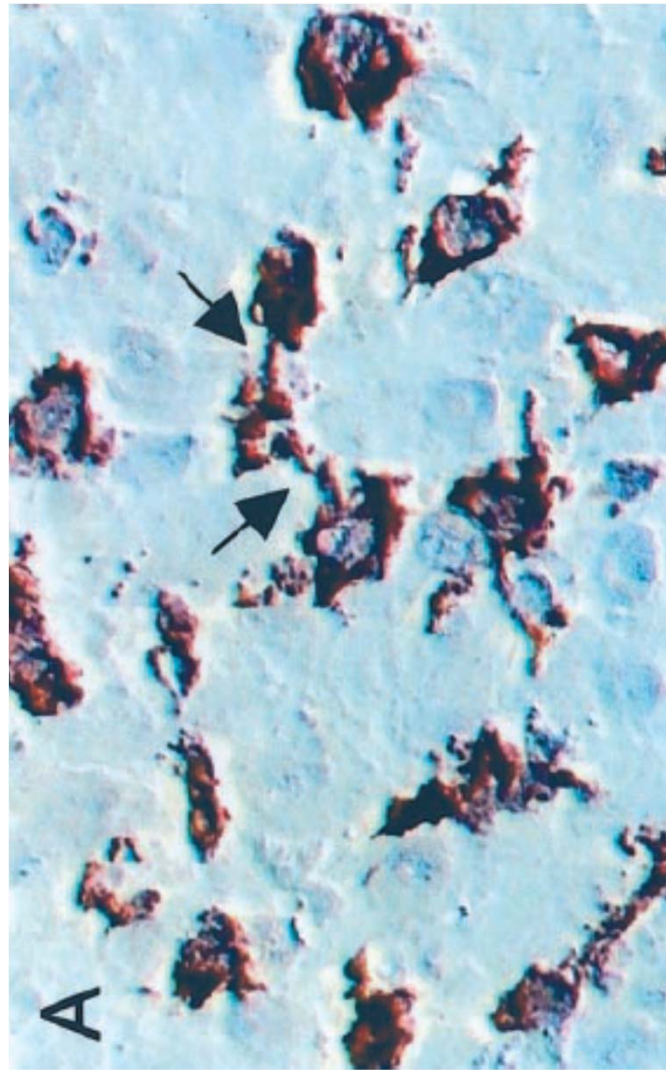
Unsere DNA Übersetzen Forschen Begleiten COVID-19



Dendritische Zellen – Wächternetzwerk in allen Oberflächen des Körpers (Haut/Schleimhaut)

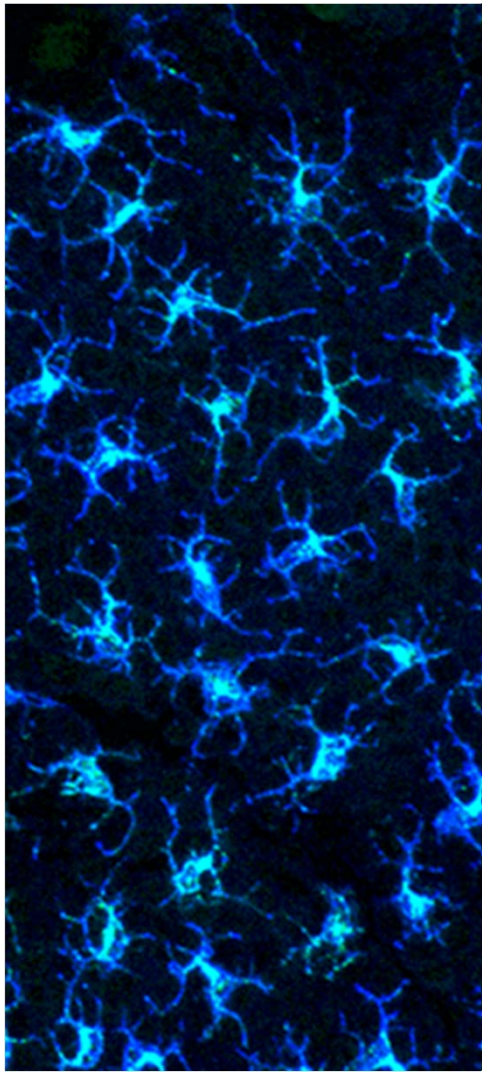


J Immunol 2008 181(11): Titelfeld

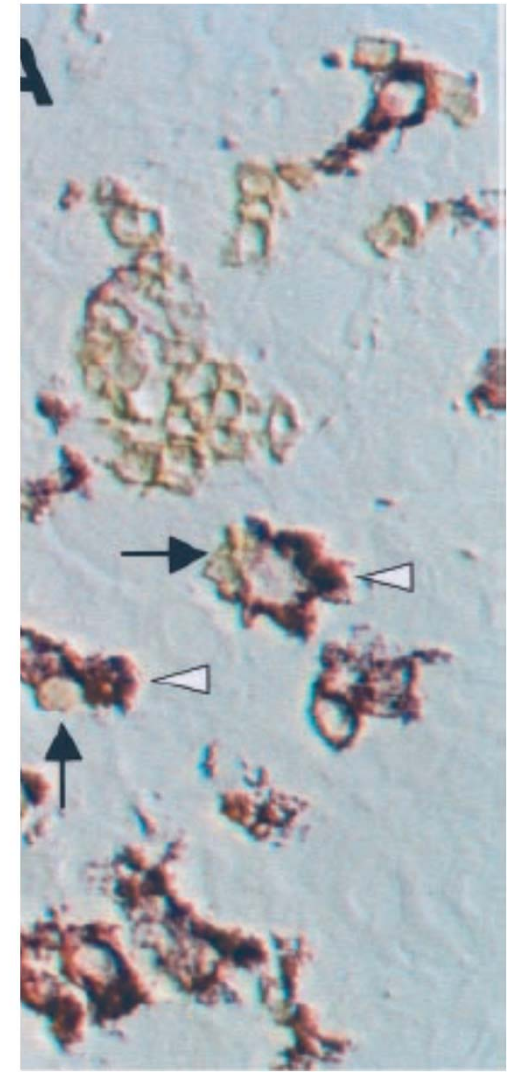


Kämmerer U 2003 Am J Pathol 162(3):887

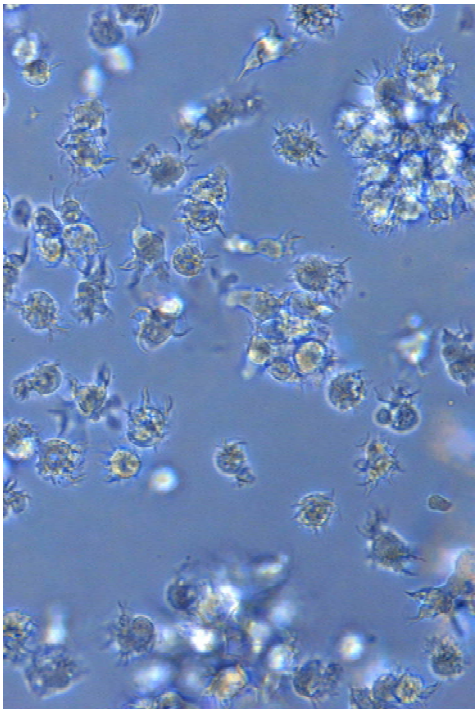
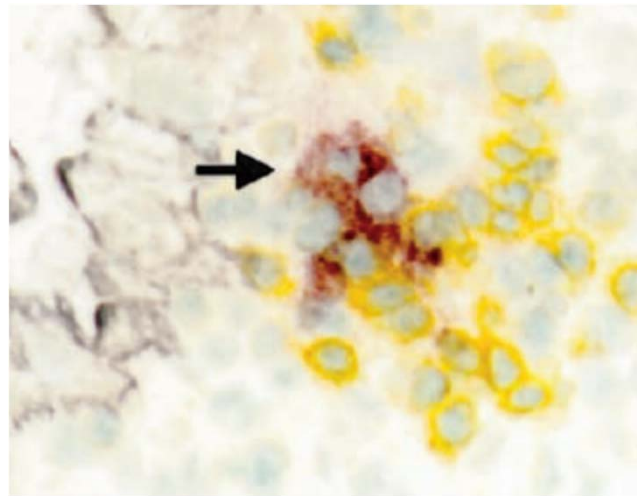
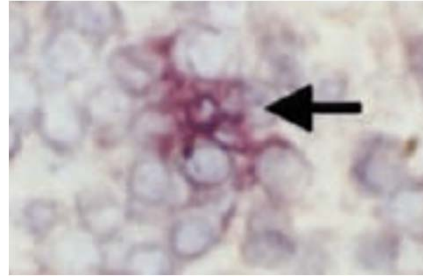
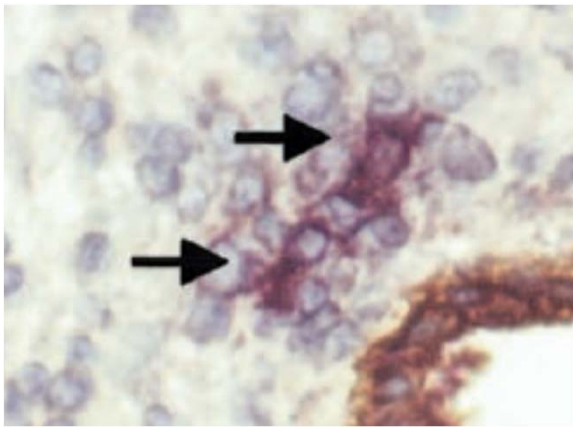
Dendritische Zellen – Wächternetzwerk in allen Oberflächen des Körpers (Haut/Schleimhaut)



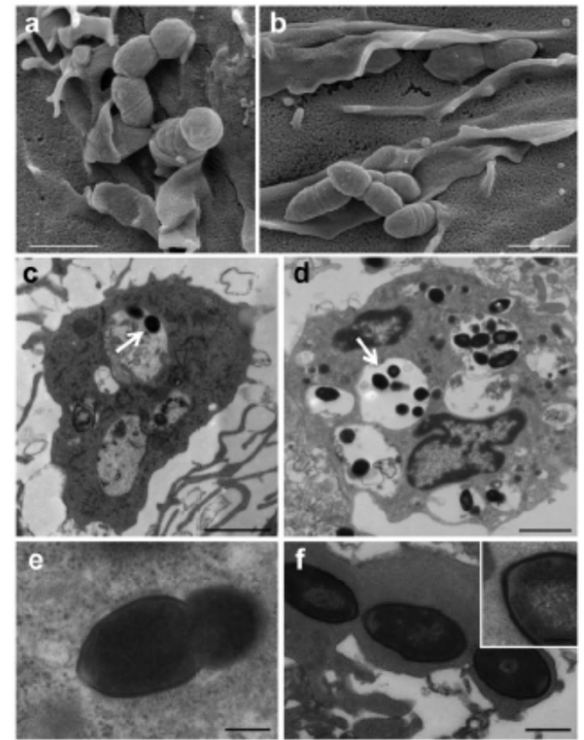
J Immunol 2008 181(11): Titelbild



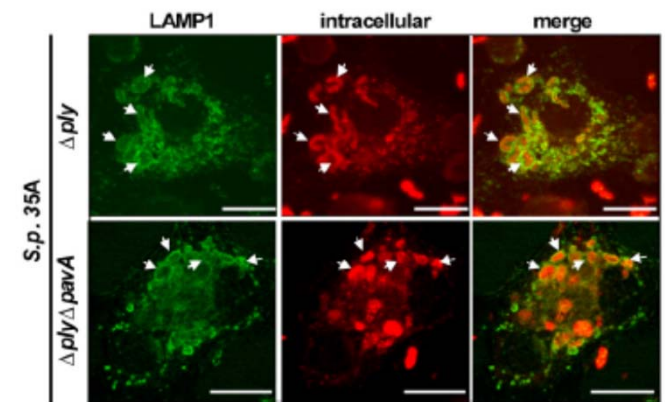
Kämmerer U 2003 Am J Pathol 162(3):887



C

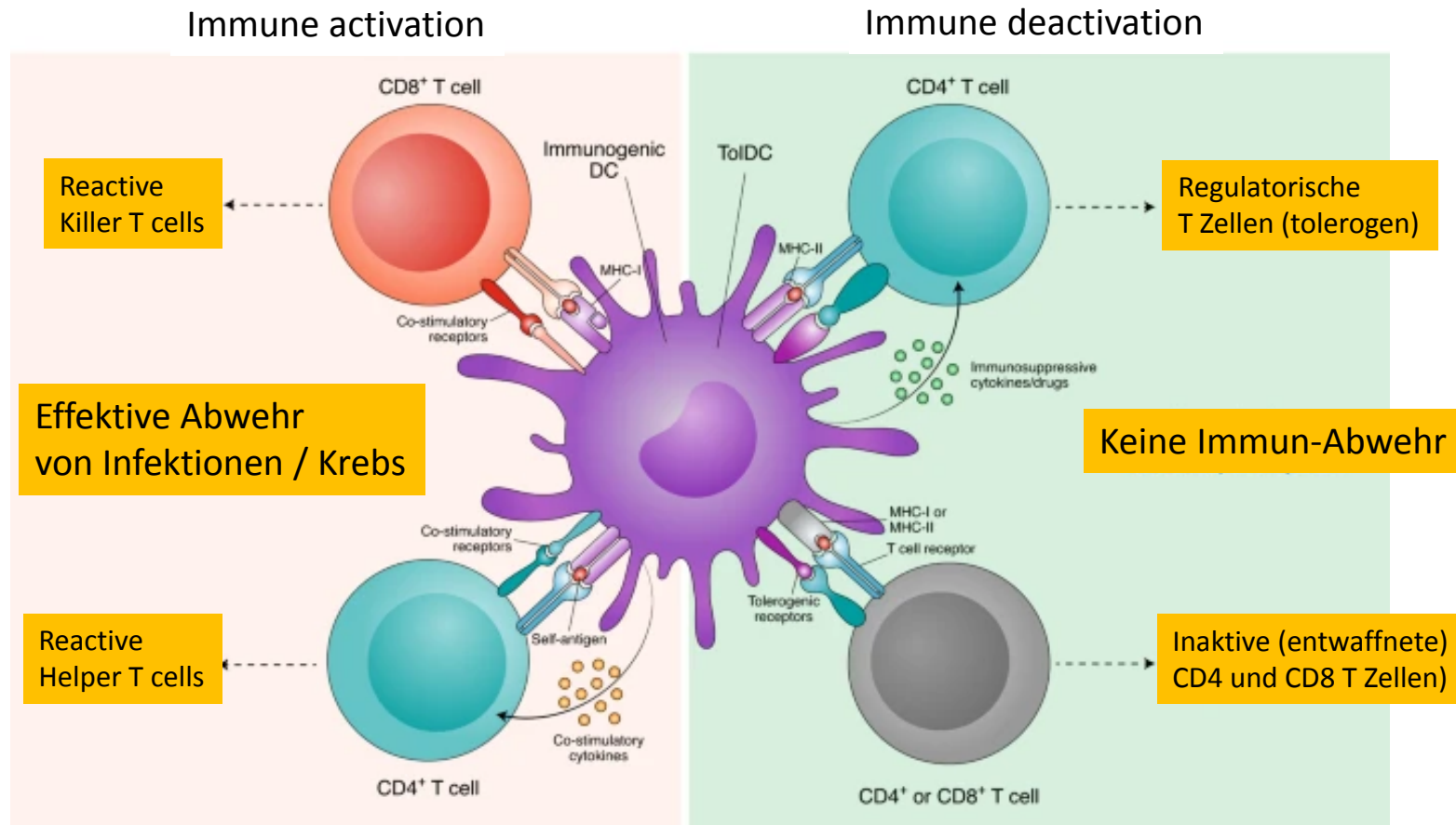


D



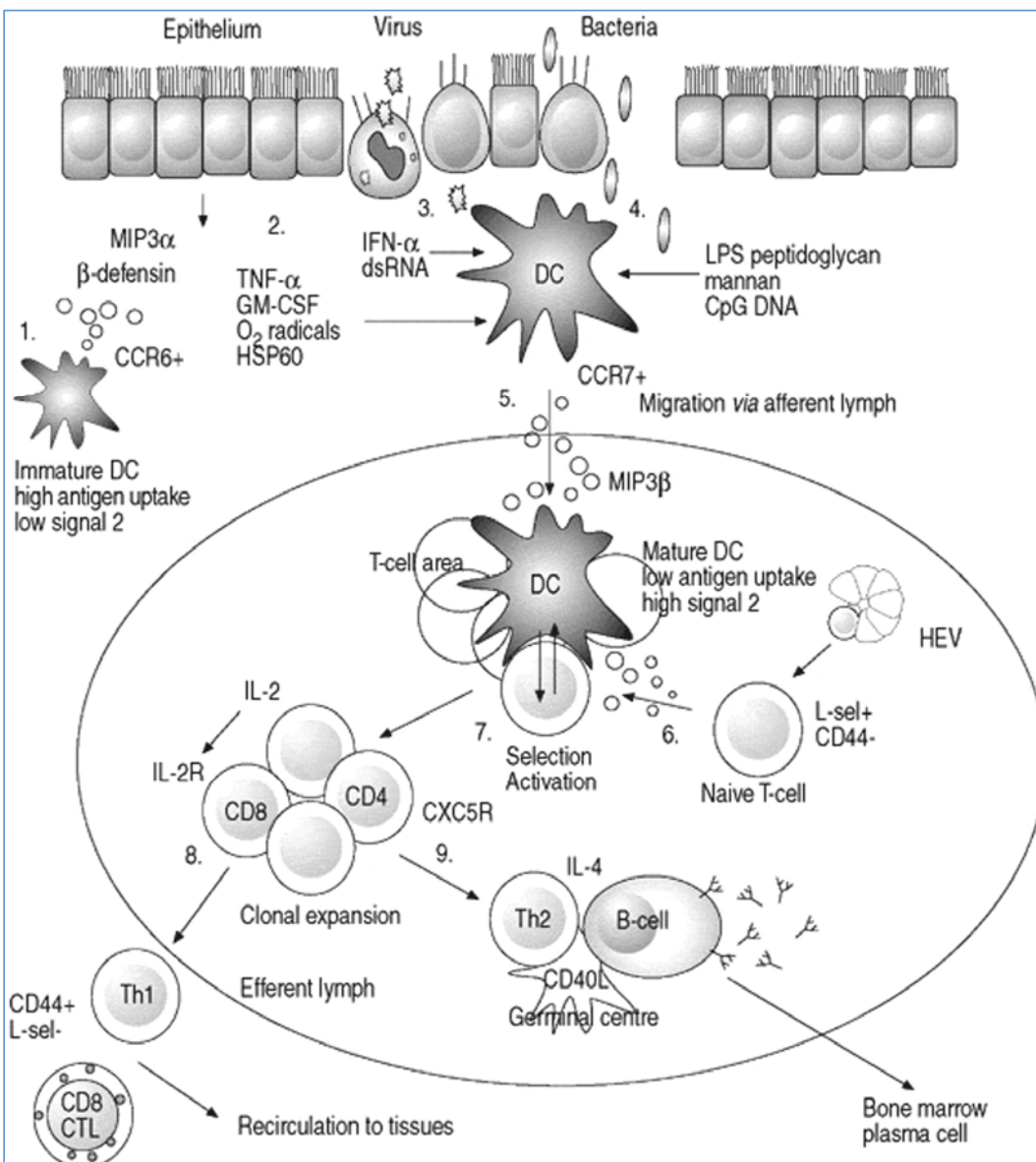
Kämmerer U 2000 Am J Pathol 157(1):159; Noskle N 2009 I Immunol 183(3):1952

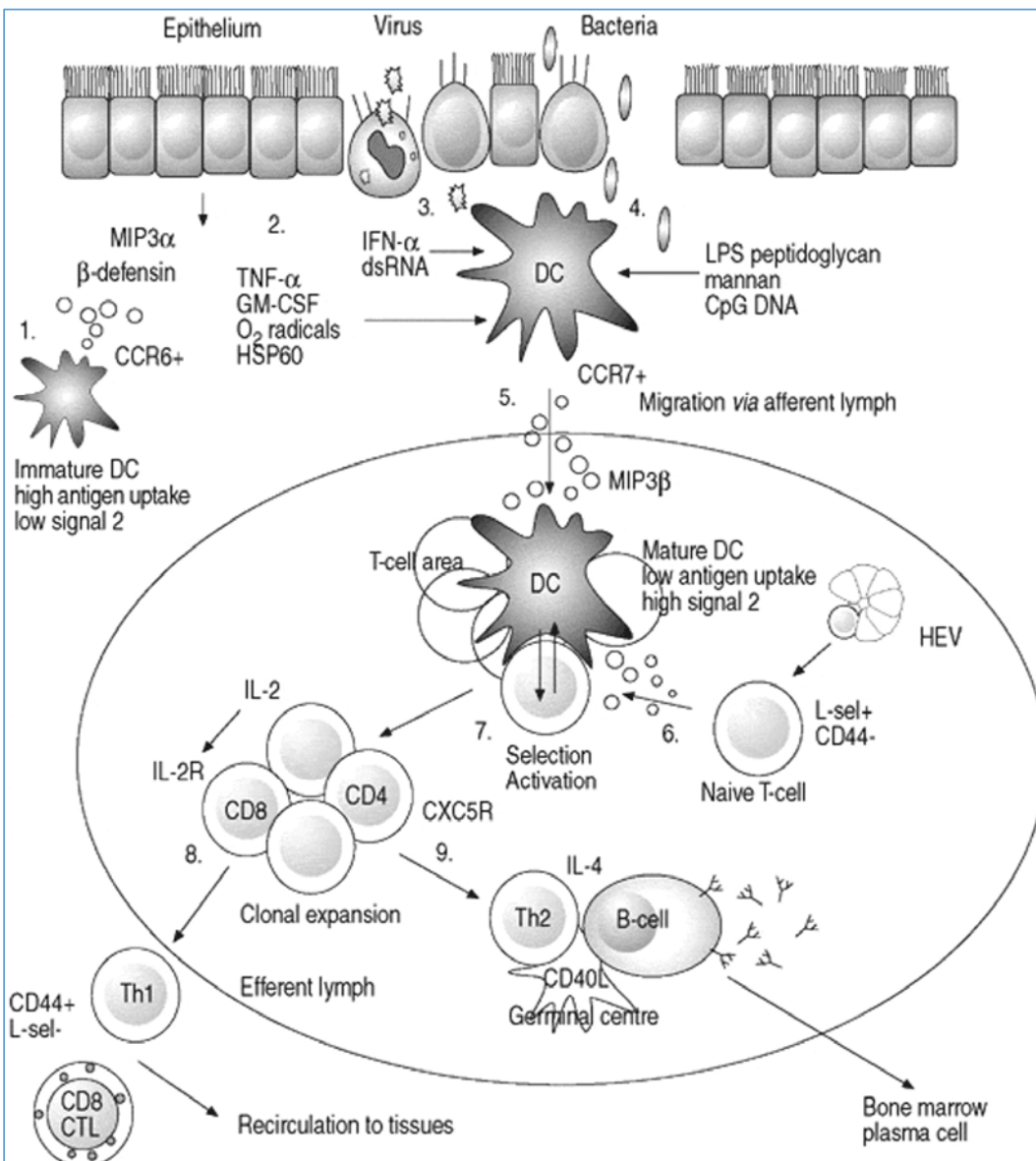
Die zwei Funktionsmöglichkeiten der zentralen Immunaktivierung durch dendritische Zellen



Entzündungsreaktionen
Beseitigen von Krankheitserregern
Autoimmunität
Transplantatabstoßung

Keine Entzündungsreaktionen
Keine Autoimmunität
Toleranz von Fremdgewebe/Erregern





Lambrecht BN 2001 Euro. Resp. J 18:692

Normaler Aktivierungsweg von dendritischen Zellen:

- 1) Erkennen des fremden Antigens durch die Wächterzellen (unreife dendritische Zellen) in der Peripherie
- 3) Wenn die Zellen „Gefahr“ erkannt haben, verlassen sie den Wächterposten und
- 5) wandern in die nächsten Schaltstellen, **die Lymphknoten.**

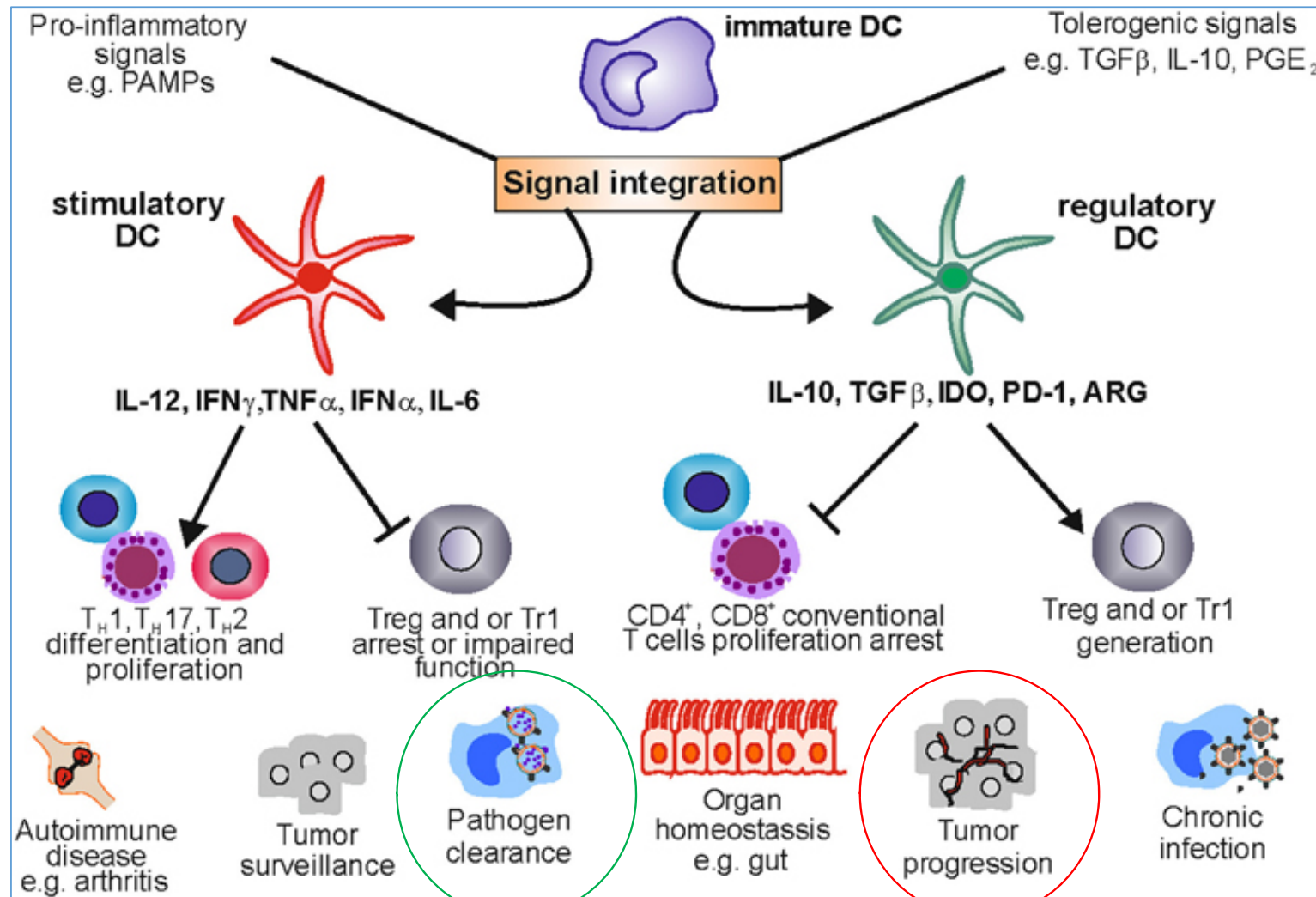
Bei dieser Wanderung ändern sie ihren Aktivierungszustand UND verarbeiten das fremde Antigen

- 7) Im Lymphknoten werden dann die Antigene als kleine Proteinhäppchen (Peptide) auf die Oberfläche der nun ausgereiften dendritischen Zellen (mature DC) transportiert und dort mit aktivierenden Signalen zusammen den T-Zellen präsentiert. So werden diejenigen T-Zellen ausgesucht, die das fremde Antigen erkennen.

- 8) Diese passenden T-Zellen werden aktiviert, vermehren sich und wandern dann in das befallene Gewebe um den Erreger zu bekämpfen

- 9) Auch werden B-Zellen ausgesucht und aktiviert, die dann passende Antikörper bilden

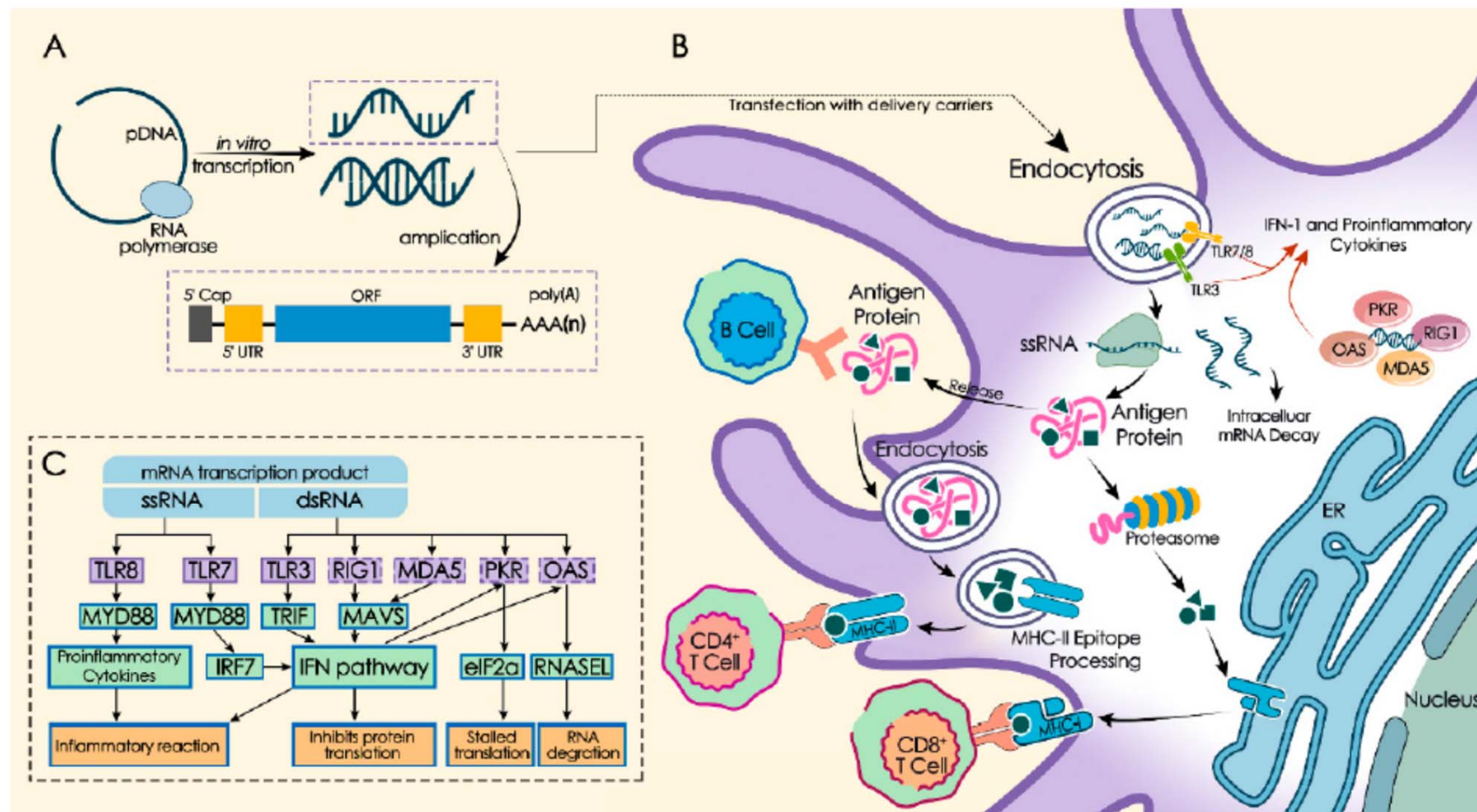
Je nach Antigenart und Milieu (Botenstoffe andere Faktoren) können die dendritischen Zellen bei diesem Prozess entweder das Immunstern auf Abwehr aktivieren oder auf Toleranz



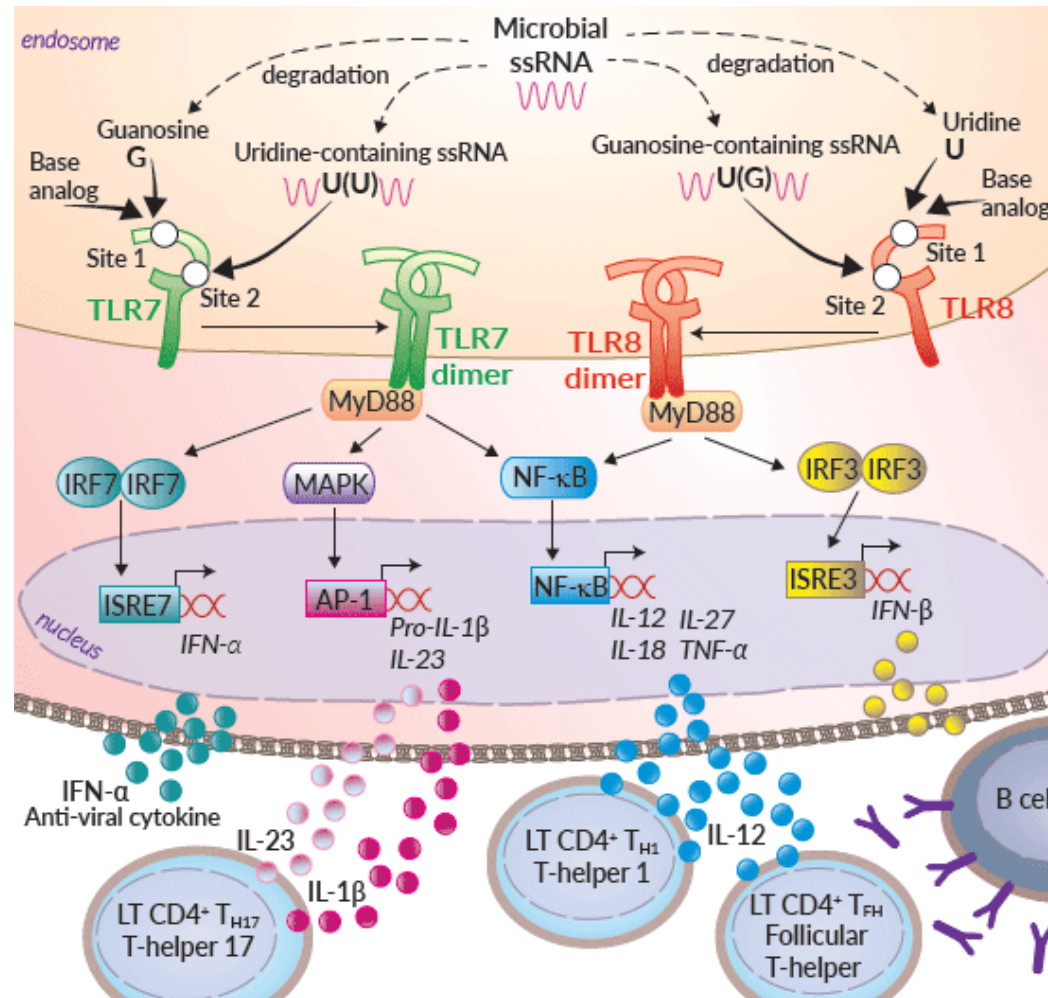
Schmidt SV 2012 Front. Immunol 3:274

Schwanger-
schaft

„Idee“ hinter der mRNA „Vaccine“: mRNA bringt dendritische Zellen dazu, das gewünschte Fremd-Protein zu bilden UND aktiviert eine Entzündungsreaktion, weil diese fremde mRNA über „Toll like Receptors (TLR) als fremd und gefährlich erkannt wird („self-adjutant“)



So aktiviert normalerweise fremde aber natürliche mRNA die dendritischen Zellen in Richtung „Abwehr“



<https://www.invivogen.com/tlr7-tlr8-fraternal-twins-review>

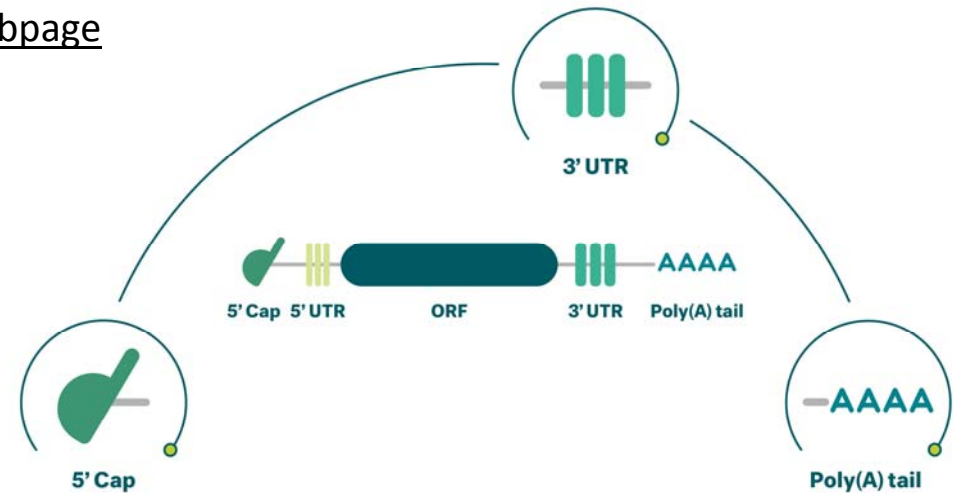
Enthält die “Vaccine” normale mRNA?- Von der Biontech Webpage

Our mRNAs all contain basic structural elements that we believe are critical for successful development:

5' cap: Incorporation of a unique cap analogue into the mRNA helps to achieve superior translational performance by stabilizing the mRNA molecule and directing the immune response.

3' untranslated region: The composition and structure of the 3' untranslated regions of the mRNA molecule are important determinants of the intracellular stability of mRNA.

Poly(A) tail: We have performed extensive research on the structure of the poly(A) tail and the translational performance of mRNA and customized our template design accordingly.



Non-immunogenic vector
Strong antibody responses
Therapeutic protein delivery

We have profound expertise in **incorporating naturally-occurring modified nucleosides into our therapeutic mRNAs**. We have demonstrated that the presence of a variety of modified nucleosides in the manufactured mRNA suppresses its intrinsic immune activation, while leading to superior protein production for long duration. **Deimmunizing** mRNA by incorporating modified nucleosides helps to avoid production of anti-drug antibodies and broadens the therapeutic application of these types of mRNA drugs.

<https://biontech.de/de/how-we-translate/mrna-therapeutics>

„Deimmunisierende“ modifizierte mRNA als Impfprinzip gegen ein gefährliches Virus????

Immunity, Vol. 23, 165–175, August, 2005, Copyright ©2005 by Elsevier Inc. DOI 10.1016/j.immuni.2005.06.008

Suppression of RNA Recognition by Toll-like Receptors: The Impact of Nucleoside Modification and the Evolutionary Origin of RNA

Katalin Karikó,^{1,*} Michael Buckstein,² Houping Ni,² and Drew Weissman²

¹Department of Neurosurgery

²Department of Medicine

University of Pennsylvania School of Medicine
Philadelphia, Pennsylvania 19104

thetic antiviral compound R-848 (Jurk et al., 2002), but a natural ligand has not been identified.

It has been known for decades that selected DNA and RNA molecules have the unique property to activate the immune system. It was discovered only recently that secretion of interferon in response to DNA

RNA, which is abundant in modified nucleosides. We conclude that nucleoside modifications suppress the potential of RNA to activate DCs. The innate immune system may therefore detect RNA lacking nucleoside modification as a means of selectively responding to bacteria or necrotic tissue.

In summary, we demonstrate that selected natural RNA isolated from mammalian and bacterial cells and RNA transcribed in vitro or synthesized chemically activate human DCs and stably transformed 293 cells expressing human TLR3, TLR7, or TLR8. Such activation was reduced or completely eliminated with RNA containing naturally occurring modified nucleosides, such as m5C, m6A, m5U, pseudouridine, or 2'-O-methyl-U. Insights gained from this study could advance our understanding of autoimmune diseases where nucleic acids play a prominent role in the pathogenesis, determine a role for nucleoside modifications in viral RNA, and give future directions into the design of therapeutic RNAs.

Die Wissenschaft hinter der mRNA-“Vaccine“

mRNA-based therapeutics — developing a new class of drugs

Ugur Sahin^{1,2}, Katalin Karikó^{2,3} and Özlem Türeci¹

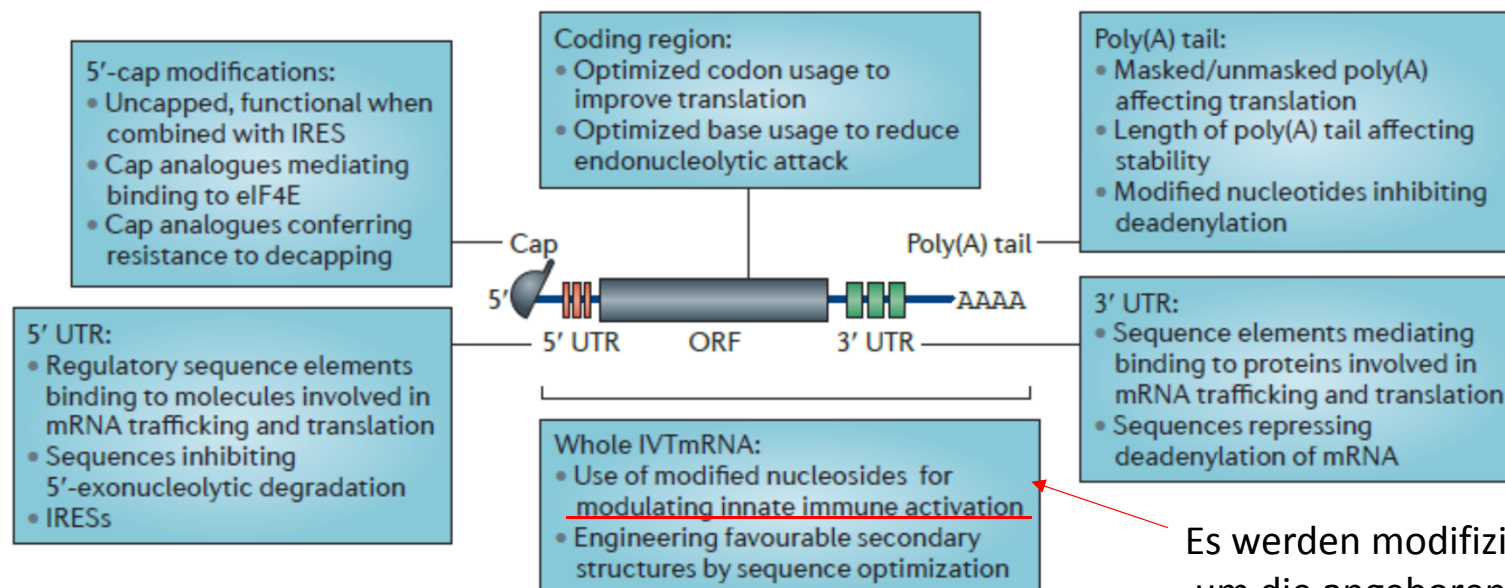
Nat. Rev. Drug Discov. 2014; 13:759

So sollte es eigentlich sein:

Immune-stimulatory activity of IVT mRNA

For vaccination, the strong immune-stimulatory effect and intrinsic adjuvant activity of IVT mRNA are added benefits^{59,60} and lead to potent antigen-specific cellular and humoral immune responses^{9,61}. The type of immune response appears to depend on a range of factors, including the characteristics of the type and size of particles in which the IVT mRNA is incorporated⁶²⁻⁶⁴. In applica-

a Structural modifications for tuning mRNA pharmacokinetics



Es werden modifizierte Nukleotide eingebaut, um die angeborene Immunität zu „modulieren“

Die „Impf“-modifizierte RNA ist so getuned, dass diese nicht so schnell abgebaut wird, wie natürliche mRNA, sondern sehr lange in den Zellen verbleibt, um diese in effektive und langanhaltende Bioreaktoren zu verwandeln

b Effects of increasing mRNA translation and half-life

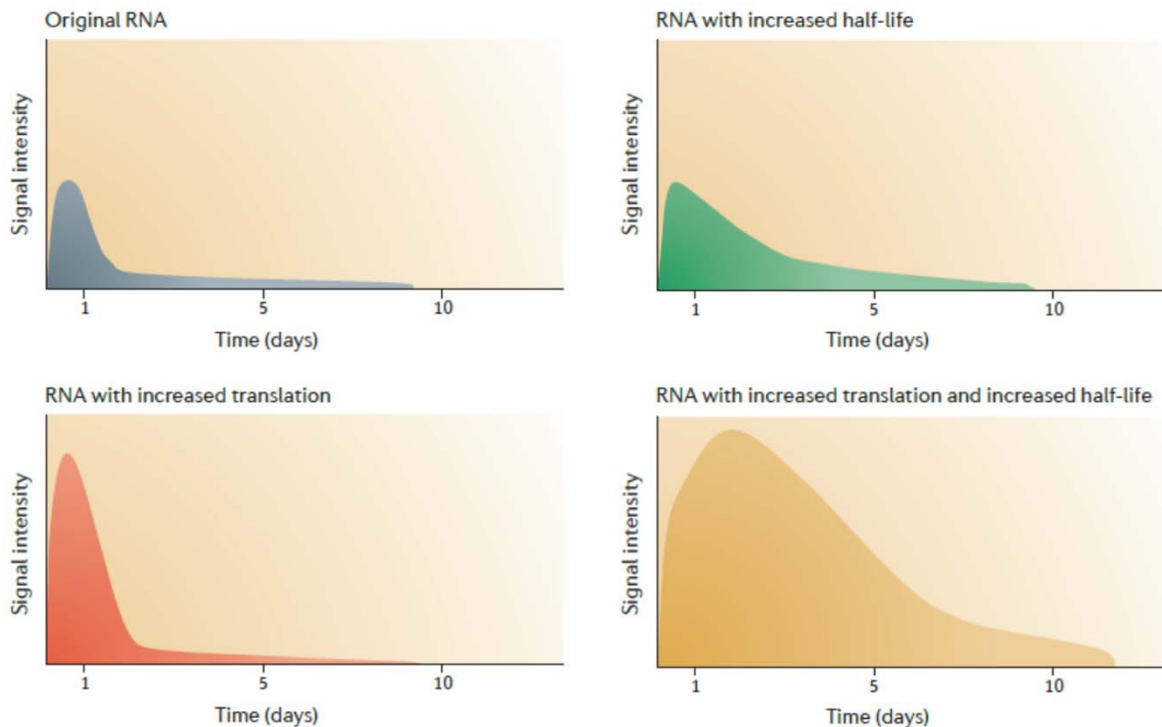
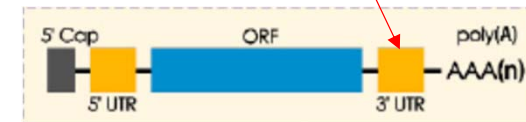
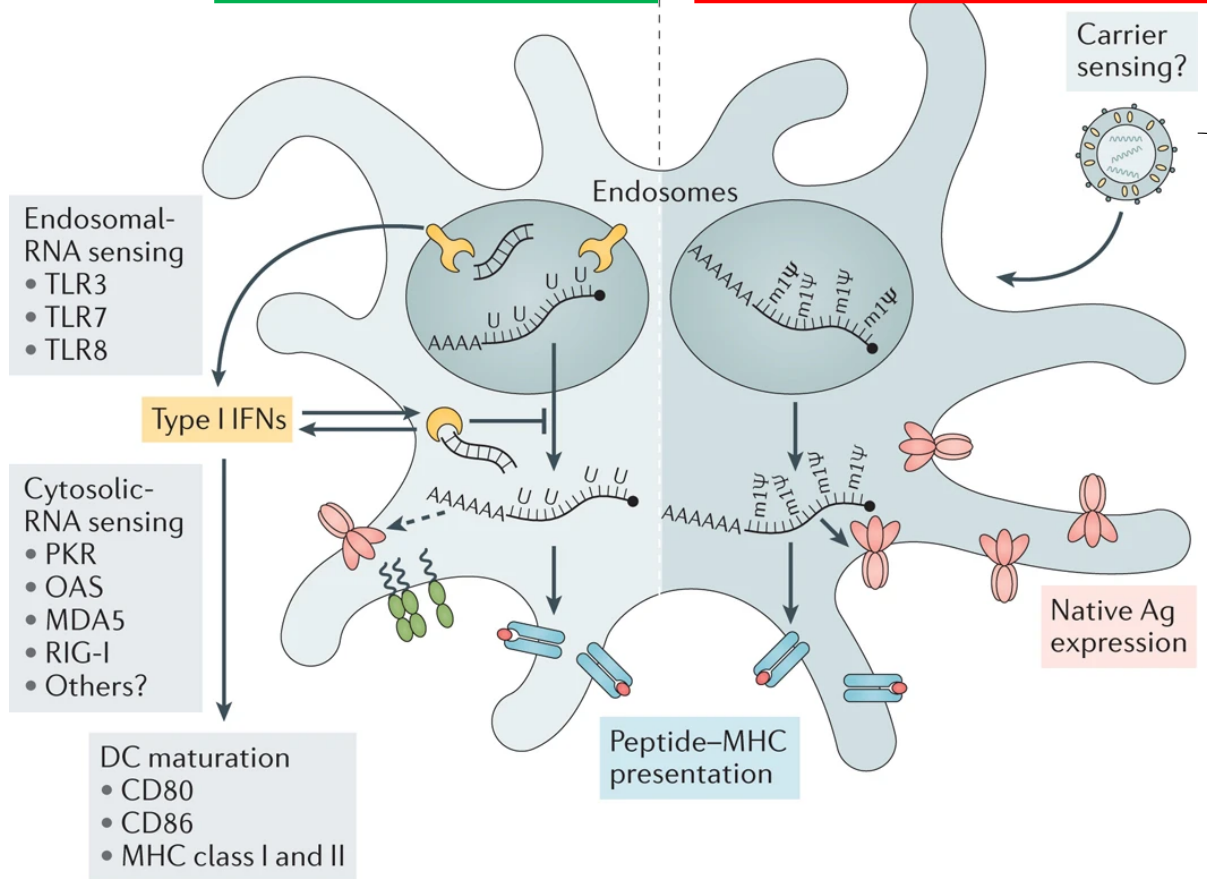


Figure 3 | Tuning mRNA drug dose pharmacokinetics. **a** | Key structural elements of *in vitro* transcribed (IVT) mRNA and strategies for their modifications. **b** | Depending on which elements (for example, modification of caps, untranslated regions (UTRs) or poly(A) tails) are used alone or in combination, the duration and kinetic profile of expression of the protein product can be modulated and fine-tuned. eIF4E, eukaryotic translation initiation factor 4E; IRES, internal ribosome entry site; ORF, open reading frame.

Nebeneffekt der Modifikation:

liquid chromatography purification, the modified mRNA no longer induced any immune-stimulatory effect⁶³. Superior translation of pseudouridine-modified mRNA has been attributed to its increased stability and reduced binding to PKR^{78,185}.

a Unmodified, unpurified mRNA **b Nucleoside-modified, purified mRNA**



Aktive Immunantwort „Entzündungsreaktion“ wird ausgelöst

Aktive abwehring Immunantwort wird unterdrückt

One such example are pseudouridines, which aim at suppressing RNA-mediated immune activation while improving the translational capacity and stability of the RNA

Fazit:

1. Die Lipidhülle der Nanopartikel wurde gezielt so ausgesucht, dass diese von der Injektionsstelle im Muskel in die Lymphknoten wandern (Achsellymphknoten oft geschwollen)
2. Die mRNA wurde technisch so modifiziert, dass sie
 - nicht schnell abgebaut wird (bleibt tage bis Wochen stabil)
 - dass sie über lange Zeit die Zellen veranlassen kann, große Mengen an Spike Protein zu bilden
 - dass sie keine Immunaktivierung in Dendritischen Zellen auslöst
(Aktive unterdrückung der TLR 7/- Mechanismen)

Hiermit wird die Zentrale Schlüsselzelle der Immunantwort in eine effektive Proteinfabrik umgewandelt, aber

in ihrer Rolle als aktive Immunregulatoren (und vor allem hier: Steuerung einer aktiven Immunabwehr) ausgeschaltet:

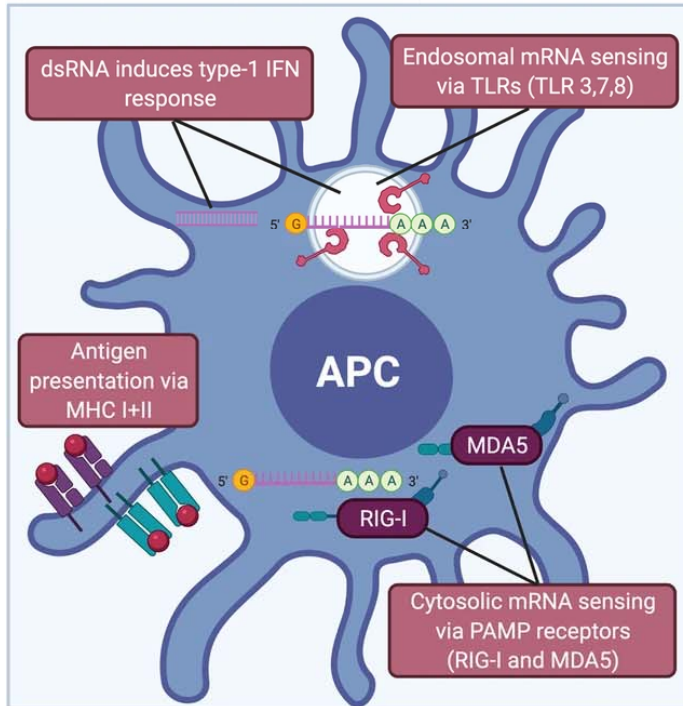
Immunsystem wird ineffektiv: vaccineRNA induzierte Immunsdefizienz (wie AIDS) ist vorprogrammiert:

Neues Krankheitssyndrom VIIDS???? (Vaccine induced immune deficiency syndrome)

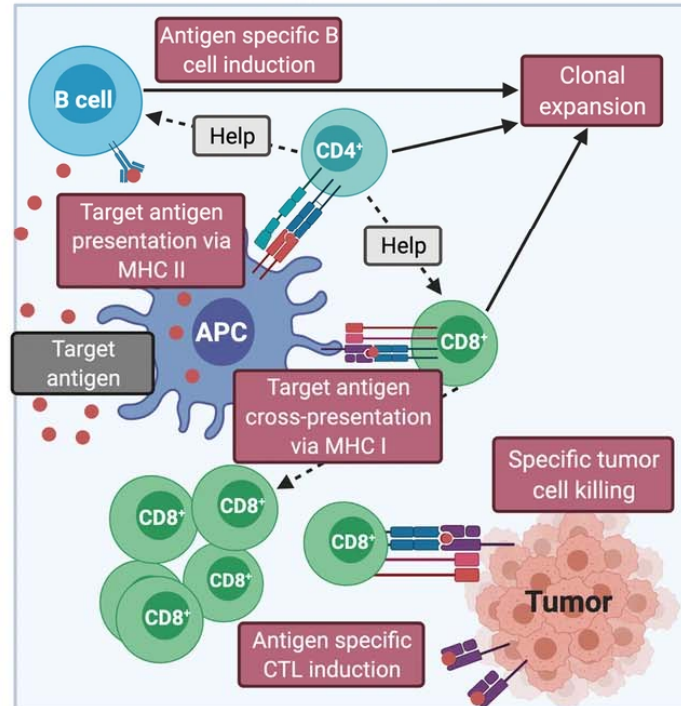




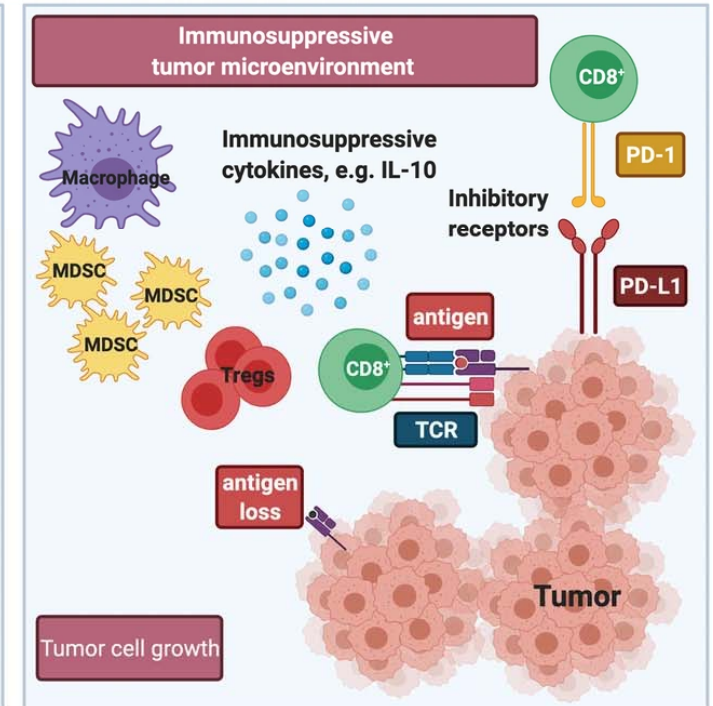
a) Effects of mRNAs on innate immunity



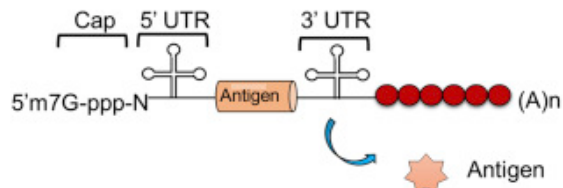
b) Effects of mRNAs on adaptive immunity



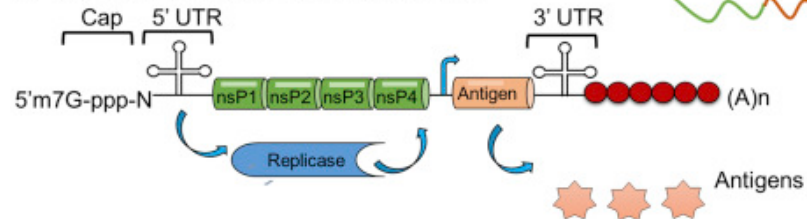
c) Risk of tumor immune-evasion



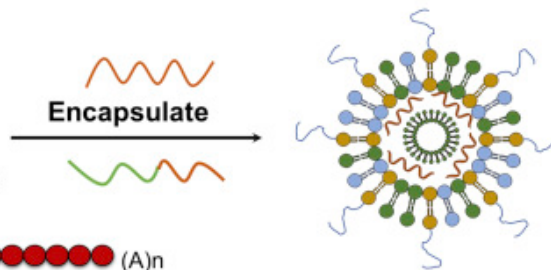
A Conventional non-amplifying mRNA



B Self-amplifying mRNA (replicon)



C mRNA vaccine nanoparticles



Kowalski PS 2019 Mol Therap. 27(4):710

D mRNA vaccine mediated adaptive immune response

