


# Studie ukazuje, že kontaminace DNA ve vakcíně COVID společnosti Pfizer překračuje 500krát povolenou úroveň

 [infokurýr.cz/n/2024/05/21/studie-ukazuje-ze-kontaminace-dna-ve-vaccine-covid-spolecnosti-pfizer-prekracuje-500krat-povolenou-uroven](https://infokurýr.cz/n/2024/05/21/studie-ukazuje-ze-kontaminace-dna-ve-vaccine-covid-spolecnosti-pfizer-prekracuje-500krat-povolenou-uroven)

kurýr

21. května 2024

***Nová recenzovaná studie vyvolává obavy z neadekvátních testovacích metod k měření kontaminantů DNA v mRNA vakcínách COVID-19. Expert na genomiku Kevin McKernan kritizoval metody studie, ale tvrdil, že kontaminace je stále nad povolenými limity a že současné předpisy jsou „zcela nedostatečné.“***

Nová recenzovaná studie vyvolává obavy ohledně metod používaných k testování mRNA vakcíny Comirnaty COVID-19 vyrobené společnostmi Pfizer a BioNTech na možnou kontaminaci DNA.

Ve studii zveřejněné tento měsíc v *Methods and Protocols* němečtí vědci Brigitte König a Jürgen O. Kirchner zpochybňují spolehlivost techniky kvantitativní PCR (qPCR), kterou společnost Pfizer-BioNTech používá k měření kontaminace DNA v účinné látce použité ve vakcíně. .

Vědci experimentovali s rozpouštěním Comirnatyho lipidových nanočástic. Našli nečistoty DNA, které byly 360 až 534krát vyšší než limit 10 ng (nanogramů) na dávku stanovený regulátory po celém světě.

Výzkumníci navrhli, že metody fluorescenční spektroskopie by mohly spolehlivěji kvantifikovat celkové množství kontaminace DNA v konečném vakcínovém produktu připraveném k použití.

Kevin McKernan, hlavní vědecký pracovník a zakladatel Medicinal Genomics, řekl *The Defender*, že ačkoli autoři upozornili na některé důležité body týkající se kontaminace DNA v mRNA vakcínách

COVID-19, fluorometrická barviva mohou být nespolehlivá, což vede k nadměrným naměřeným hodnotám.

### **„Masivní nedostatečné hlášení kontaminace DNA“**

Výrobci jako Pfizer-BioNTech používají testy kontaminace DNA založené na metodě qPCR aplikované na účinnou látku vakcíny před jejím zkombinováním s lipidovými nanočásticemi.

König a Kirchner poukázali na to, že test qPCR zkoumá pouze malý segment o 69 párech bází původního templátu DNA o 7824 párech bází použitého k výrobě vakcíny mRNA.

To znamená, že společnost Pfizer zkontroluje méně než 1 % původního příspěvku. Zbývajících 99 % zůstává neanalyzováno, což vede k „masivnímu podhodnocení kontaminace DNA,“ uvedli vědci.

Vědci také tvrdili, že tento malý segment může být zničen během procesu enzymového štěpení jinou rychlostí než zbývající fragmenty templátu DNA, což dále komplikuje přesná měření.

Dalším komplikujícím faktorem je, že cílová sekvence qPCR se překrývá s úsekem DNA nazývaným promotor T7, který se používá k produkci mRNA. Buněčné mechanismy nebo vedlejší produkty by se mohly vázat na tuto promotorovou oblast a blokovat tak detekci testem qPCR.

David Speicher, Ph.D., spoluautor s McKernanem a dalšími předtiskové studie o fragmentech DNA ve vakcínách Moderna a Pfizer COVID-19, vyjádřil podobné obavy.

PCR může kvantifikovat pouze specifickou sekvenci DNA/RNA, na kterou cílí použité primery, vysvětlil The Defender. Pokud se v této cílové sekvenci vyskytnou zlomy nebo mutace, DNA nebude replikována a zátěž bude podhodnocena.“

„Předpokládá se také, že DNA ve vakcíně pochází pouze z plazmidu a ne z bakteriálního nebo jiného zdroje,“ řekl Speicher.

McKernan poukázal na další problém: Regulační orgány umožňují společnosti Pfizer používat qPCR k měření DNA a fluorometrii k měření RNA.

„Předpisy EMA [Evropské lékové agentury] vyžadují poměrové měření RNA:DNA,“ řekl. „Poměry by se neměly měřit v centimetrech pro RNA a metrech pro DNA.“

Řekl, že Pfizer by měl měřit RNA i DNA pomocí fluorometrie nebo qPCR. „Když si dovolí kombinovat nástroje, jako jsou tyto, umožňují přímý podvod.“

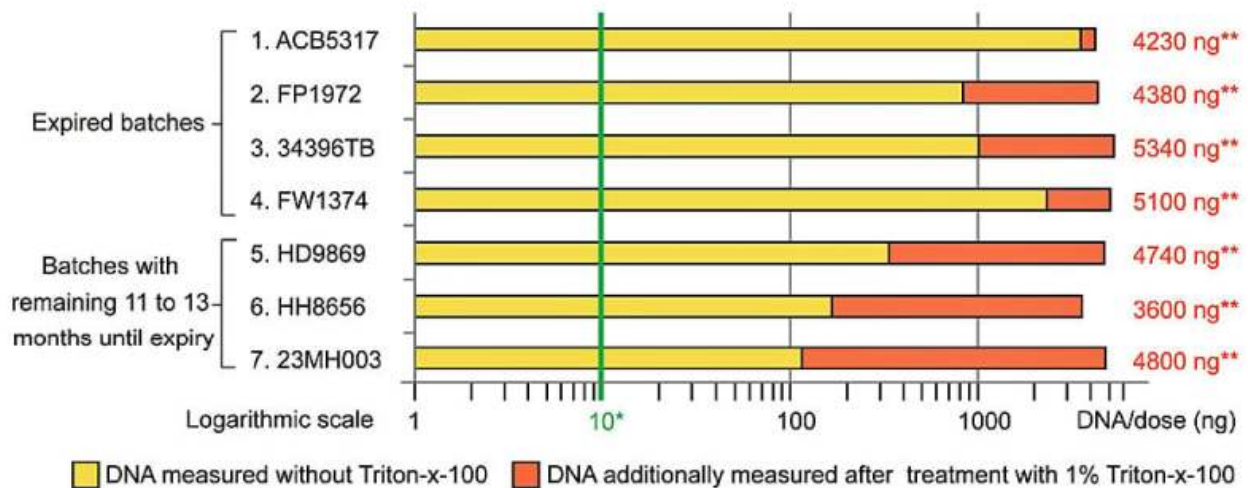
McKernan také sdílel část patentové přihlášky Moderna, která uznává, že qPCR je nevhodná pro měření malých fragmentů DNA.

**„Už nediskutujeme o tom, zda jsou nahrávky kontaminované“**

Aby se předešlo nástrahám qPCR, která detekuje pouze malou část kontaminované DNA, König a Kirchner navrhli použít techniky fluorescenční spektroskopie, jako je Qubit, ke kvantifikaci celkového obsahu DNA v konečném vakcínovém produktu.

Tyto metody využívají fluorescenční barviva, která se specificky vážou na nukleové kyseliny, jako je DNA a RNA.

V jejich experimentech fluorescenční technikou s Comirnaty byla po rozbití nanočástic zjištěna kontaminace DNA, která byla výrazně nad limitem 10 ng/dávku.



Obr. 2. Kvantifikace celkové DNA v šaržích Comirnaty pomocí Qubit fluorometrie bez a s přidáním Triton-X-100 jako detergentu pro dezintegraci lipidových nanočástic obsažených ve formulaci vakcíny. Zdroj: Brigitte König a Jürgen O. Kirchner.

McKernan, který psal o omezeních fluorometrie na svém Substacku, nabádal k opatrnosti při zvažování výsledků Königa a Kirchnera.

„Fluorometrická barviva mohou komunikovat mezi RNA a DNA, takže velké množství RNA ve vakcíně způsobuje, že barvivo specifické pro DNA poskytuje určitý signál z RNA,“ řekl The Defender. „To vede k nafouknutým hodnotám DNA ve studii König.“

Aby se tyto obavy vyřešily, McKernan řekl, že by výzkumníci měli provádět kontrolu RNázy. RNáza je enzym, který odstraňuje RNA, takže při měření DNA nedochází k interferenci s RNA.

Bez této kontroly Koenig a Kirchner „vytvořili snadný cíl pro své kritiky,“ řekl.

Ve výzkumu připravovaném k publikaci McKernan uvedl, že několik laboratoří, které provádějí experimenty s RNázou, zaznamenalo 10násobné snížení signálu DNA ve fluorometrii.

„To znamená, že kontaminace DNA je stále výrazně nad limitem FDA [US Food and Drug Administration],“ říká McKernan. Zdůraznil, že jeho „vlasy trhající kritika“ studie by neměla snižovat nebo

vykolejovat výzvy k přehodnocení testovacích protokolů pro kontaminaci DNA mRNA vakcín.

„Už nediskutujeme o tom, zda jsou očkování kontaminovaná,“ řekl. „Právě diskutujeme o tom, zda jsou 10 nebo 100krát nad limitem a jak moc se liší od šarže k šarži.“

### **Možná rizika kontaminace DNA**

König a Kirchner vyjádřili obavu, že by do lidských buněk během vakcinace mohly být začleněny vyšší úrovně kontaminace DNA, než se očekávalo, s neznámými důsledky, pokud je tato DNA integrována do genomu.

Citovali „riziko inzerční mutageneze“, ve které cizí segmenty DNA narušují normální genové sekvence, když jsou vloženy do genomu, což potenciálně vede k mutacím a souvisejícím onemocněním, jako je rakovina.

Výzkumníci jako McKernan již zjistili, že DNA v mRNA vakcínách COVID-19 obsahuje gen opičího viru 40 (SV40) podporující rakovinu a sekvence DNA plazmidu E. coli, které zbyly z výroby vakcíny.

V prezentaci na konferenci International Crisis Summit-5 v únoru McKernan poznamenal, že Moderna ve své patentové přihlášce na mRNA vakcínu COVID-19 uznala rizika inzerční mutageneze.

# Moderna Patent speaks to the risk of insertional mutagenesis from DNA contamination

(12) United States Patent de Fougerolles et al.	(10) Patent No.: US 10,898,574 B2 (43) Date of Patent: *Jan. 26, 2021
(54) DELIVERY AND FORMULATION OF ENGINEERED NUCLEIC ACIDS	(58) Field of Classification Search None See application file for complete search history.
(71) Applicant: ModernaTX, Inc., Cambridge, MA (US)	(56) References Cited U.S. PATENT DOCUMENTS
(72) Inventor: Antonin de Fougerolles, Waterloo (BE); Sayda M. Elbaskir, Cambridge, MA (US)	5,034,566 A 7/1991 Summerton et al. 5,436,189 A 6/1995 Kuhl 5,480,677 A 2/1996 Sanghvi et al. 5,512,439 A 4/1996 Holmes et al. 5,781,722 A 11/1997 Montgomery et al. 5,637,859 A 6/1997 Burke et al. 5,639,873 A 6/1997 Baranov et al. 5,641,400 A 6/1997 Kalkbush et al. 5,789,578 A 8/1998 Barton et al. 5,808,039 A 9/1998 Reddy et al. 5,989,911 A 11/1999 Fontaine et al. 6,022,715 A 2/2000 Marinkova et al. 6,022,717 A 2/2000 Nivon et al. 6,248,208 B1 6/2001 Cook 6,305,578 B1 10/2001 Dinkofsky et al. 6,423,662 B1 7/2002 Hedrow 6,511,832 B1 1/2003 Ozanturk et al. 6,521,411 B2 2/2003 Decker et al. 7,041,569 B2 4/2010 Hohlgrub et al. 8,073,780 B2 12/2011 Pearce 8,095,567 B2 1/2012 Kow et al. 8,664,194 B2 3/2014 de Fougerolles et al. 8,680,060 B2 3/2014 de Fougerolles et al. 8,691,750 B2 4/2014 Cozzano et al. 8,710,200 B2 4/2014 Schuen et al. 8,716,865 B2 5/2014 Rossi et al. 8,802,438 B2 8/2014 Rossi et al. 8,822,663 B2 9/2014 Schuen et al.
(*) Notice: Subject to any disclaimer, the term of this patent is extended or adjusted under 35 U.S.C. 154(b) by 0 days. This patent is subject to a terminal dis- claimer.	(Continued)
(21) Appl. No.: 15/927,730	FOREIGN PATENT DOCUMENTS
(22) Filed: Mar. 21, 2018	CA 2038489 A1 8/1991 CA 2473135 A1 6/2003
(55) Prior Publication Data US 2019/0060458 A1 Feb. 28, 2019	(Continued)
Related U.S. Application Data	
(60) Continuation of application No. 15/379,284, filed on Dec. 14, 2016, now Pat. No. 9,950,068, which is a division of application No. 14/537,513, filed on Jul. 22, 2014, now Pat. No. 9,533,047, which is a continuation of application No. 13/897,362, filed on May 18, 2013, now abandoned, which is a continuation of application No. 13/437,034, filed on Apr. 2, 2012, now Pat. No. 8,710,200.	

## BACKGROUND OF THE INVENTION

There are multiple problems with prior methodologies of delivering pharmaceutical compositions in order to achieve effective protein expression both for therapeutics and bio- 40 processing applications. For example, introduced DNA can integrate into host cell genomic DNA at some frequency, resulting in alterations and/or damage to the host cell genomic DNA. Alternatively, the heterologous deoxyribo- nucleic acid (DNA) introduced into a cell can be inherited by 45 daughter cells (whether or not the heterologous DNA has integrated into the chromosome) or by offspring.

In addition, there are multiple steps which must occur after delivery but before the encoded protein is made which can effect protein expression. Once inside the cell, DNA 50

Zdroj: Prezentace McKernan ICD 2024

**Stejná patentová přihláška uvádí, že kontaminace DNA může způsobit rakovinu:**

*„DNA templát používaný v procesu výroby mRNA musí být odstraněn, aby byla zajištěna terapeutická účinnost a bezpečnost, protože zbytky DNA v léčivých přípravcích mohou vyvolat aktivaci vrozené reakce a mají potenciál být onkogenní v populaci pacientů.“*

McKernan ve své prezentaci na Mezinárodním krizovém summitu tvrdil, že „vždy přerušíme“. Navrhl následující „hypotézu tří zásahů“ o negativních účincích mRNA vakcín na zdraví:

1. Zvýšená mutagenese při kontaminaci plazmidu dsDNA [dvouřetězcová DNA].
2. Účinky N1-methyl-pseudouridinu, používaného ke stabilizaci RNA, způsobující lymfocytopenii, neutropenii, onemocnění související s IgG4 atd.
3. Inhibice „strážců genomu“, tumor potlačujících genů P53 a BRCA1.

**Předpisy o kontaminaci DNA „zcela nevhodné pro daný účel“**

McKernan zdůraznil, že současné předpisy o přípustném limitu kontaminace DNA ve vakcínách jsou „zcela nedostatečné“.

„Veřejnost potřebuje vědět, že směrnice o kontaminaci DNA předpokládají poločas rozpadu nahé DNA v krvi 5-10 minut,“ řekl. „Jakmile je tato DNA chráněna lipidovými nanočásticemi, již není nahá a nedegraduje, ale spíše transfekuje buňky.“

Podle McKernana jsou fragmenty DNA založené na savcích součástí „vysoce replikativního vektoru pro genovou terapii navrženého tak, aby produkoval více sebe sama“, a proto se mohou po transfekci neomezeně množit.

„K čemu je limit 10 ng, když farmaceutický průmysl může propašovat amplifikovatelnou molekulu DNA prostřednictvím tohoto nařízení,“ zeptal se.

Regulátoři stanovili limit 10 ng/dávku kontaminace DNA v roce 1998.

„10 ng je extracelulární úvaha,“ řekl Karl Jablonowski, Ph.D., hlavní vědec z Children's Health Defense. „Pokud byste se zeptali, kolik cizí DNA by mělo být povoleno uvnitř buněčného jádra, odpověď by byla nula,“ řekl ochránci.

Speicher dodal, že regulátory ignorují fragmenty menší než 200 párů bází, protože by pravděpodobně nebyly problematické, kdyby DNA zůstala mimo naše buňky.

Pro srovnání, DNA celého lidského genomu má průměrnou velikost 6,41 pc (pikogramů), což znamená, že „10 ng DNA tvoří 1560krát celý náš genom“.

**„Jak lehkomyšlní mohou být s lidským genomem?“**

Navzdory možným omezením schválili evropští regulátoři metodu qPCR, aby ověřili, že Comirnaty splňuje požadované limity kontaminace DNA 10 ng/dávku.

Podle Königa a Kirchnera se kromě testů qPCR výrobce pro účinnou látku „nebudou pro vakcínu provádět žádné další experimentální kvantifikace DNA“.

Regulátoři se domnívají, že testování na konečném produktu není proveditelné, protože lipidové nanočástice, ve kterých je mRNA zapouzdřena, by mohly potenciálně způsobit interferenci.

Vědci však poukázali na to, že výrobci mohou přesně kvantifikovat mRNA v těchto stejných nanočásticích. Kritizovali regulační orgány za to, že se spoléhají na omezená data qPCR výrobců a nepožadují přímou kvantifikaci celkové DNA v konečném produktu Comirnaty.

Poté, co další vědci replikovali McKernanovu práci, byly regulační agentury jako FDA, EMA a Health Canada nuceny uznat přítomnost SV40 ve vakcínách Pfizer.

McKernan však uvedl, že tyto úřady tvrdí, že fragmenty DNA jsou příliš malé na délku a množství na to, aby byly funkční, a nepodnikly žádné kroky k další regulaci vakcín nebo jejich odstranění z trhu.

McKernan také poukázal na to, že před zákonem National Childhood Vaccine Injury Act z roku 1986 (NCVIA) byl limit pro kontaminaci DNA 1000krát nižší než dnešní limit 10 ng.

Toto uvolnění předpisů spolu s ochranou odpovědnosti NCVIA a technologickým pokrokem učinilo technologii sekvenování DNA „100 000krát levnější,“ řekl, a umožnilo výrobcům vakcín „přidávat transfekční činidla [jako LNP], aby zajistili, že se DNA může dostat buňky, samy se reprodukují a manipulují s buněčnými obvody.“

### **McKernan řekl:**

*„Proč FDA tyto vakcíny nesekvenuje? Jakou mají výmluvu, že neznají přesnou sekvenci a frekvenci každé molekuly DNA a RNA ve vakcíně, kterou plánují aplikovat miliardám lidí? Jak neopatrní mohou být s lidským genomem?“*



Navzdory zjevné nečinnosti agentury odhalila nedávná žádost o zákon o svobodě informací od kanadského občana „alarmující zákulisní aktivitu,“ řekl McKernan.

„Regulátoři říkají veřejnosti, aby se nebála kontaminace, ale vyvíjejí vnitřní úsilí k odstranění této DNA,“ řekl.

*Autor: John Michael Dumais*