

D DRBINE'S NEWSLETTER

27. DEZ.

Wie man sich aus seinen eigenen Worten einen Strick dreht, weiß auch das PEI

PEI wie PEInlich – getroffene Hunde bellen, aber beißen nicht.

DRBINES VERBALES VITRIOL · 25 MIN READ



<https://drbine.substack.com/p/wie-man-sich-aus-einen-eigenen-worten>

D DRBINE'S NEWSLETTER

21. DEZ.

Wie man sich aus seinen eigenen Worten einen Strick dreht weiß der Klausl Teil 2

Cichutek K. - DNA vaccines: development, standardization and regulation. Intervirology. 2000

DRBINES VERBALES VITRIOL · 20 MIN READ

Beißt sich Klaus Cichutek in den Fleischnackel. Hier stellt er Klaus über die eigene Melikostele seiner Pilsenerstadt.



<https://drbine.substack.com/p/wie-man-sich-aus-seinen-eigenen-worten-e15>

Langen, den 22.12.2023

Information für medizinische Fachkreise

PRÜFUNGEN VON COVID-19-mRNA-IMPfstOFFEN

Methodik der Prüfung von COVID-19-mRNA-Impfstoffen bei angeblichen Verunreinigungen

Das Paul-Ehrlich-Institut informiert aufgrund der Vielzahl an Anfragen aus medizinischen Fachkreisen zum aktuellen Wissenstand zu angeblichen Verunreinigungen in Impfstoffen. Diese Informationen sollen auch dazu dienen, versicherte Patientinnen und Patienten sowie Impfwillige aufzuklären.

Viele der in der Öffentlichkeit kursierenden Daten und Untersuchungen zu mutmaßlichen Kontaminationen der COVID-19-mRNA-Impfstoffe liegen methodische Mängel zu Grunde. Auch stellt sich das Problem der möglicherweise unsachgemäßen Lagerung der untersuchten Impfstoffdosen. Experimentelle Bestimmungen z. B. von Rest-DNA durch Dritte in auf dem Markt verfügbaren Impfstoffdosen müssen folgende Kriterien erfüllen, um wissenschaftlich haltbare Ergebnisse zu erbringen:

- (i) Sie dürfen nicht an Proben erfolgen, die aus abgelaufenen (Haltbarkeitsdatum überschritten) Impfstoff-Fläschchen oder aus angebrochenen oder nicht sachgemäß gelagerten Impfstoff-Fläschchen stammen.
- (ii) Die angewandte Methodik zur Bestimmung der Rest-DNA-Menge muss nachweisenermaßen geeignet und nachvollziehbar sein – insbesondere sollten Testinterferenzen durch das Vorhandensein von Lipid-Nanopartikeln in den Impfstoff-Fläschchen ausgeschlossen worden sein (was bei Testung am finalen Impfstoff-Fläschchen nicht garantiert werden kann).
- (iii) Die angewandte Methode muss validiert worden sein, um verlässliche und überprüfbare Ergebnisse zu liefern.

https://www.pei.de/SharedDocs/Downloads/DE/newsroom/miteilungen/231222-pruefung-mrna-impfstoffe-verunreinigungen.pdf?__blob=publicationFile&v=2

Das Paul-Ehrlich-Institut informiert aufgrund der Vielzahl an Anfragen aus medizinischen Fachkreisen **zum aktuellen Wissenstand** zu **angeblichen Verunreinigungen** in Impfstoffen. Diese Informationen sollen auch dazu dienen, verunsicherte Patientinnen und Patienten sowie Impfwillige aufzuklären.

Für die Herstellung der COVID-19-mRNA-Impfstoffe dient ein Teil der Plasmid-DNA als Matrize (Template). Nach dem Umschreiben der relevanten DNasequenz in mRNA wird die **Plasmid-DNA dann mittels eines enzymatischen Verdauens mit DNase zerkleinert** und über den Aufreinigungsprozess unter Erhalt der aktiven Substanz (mRNA) **abgereichert**.

Wessen Wissensstand?

Angeblich?

Die EMA weiß, dass der DNase I - Verdau nicht funktioniert und hier sind die Dokumente, die das belegen

Wenn das Problem nicht behoben werden kann, ist die modRNA-Plattform tot

DRBINES VERBALES VITRIOL · 4 MIN READ

<https://drbine.substack.com/p/die-ema-wei-dass-der-dnase-i-verdau>

1. Introduction

This report covers the following non-auxiliary conditions undertaken by the RMC RECT. The RMC should provide the results of the studies performed to enhance the result of the above step in the active substance manufacturing process.

3.3. Steps taken for the assessment

Submission date:	13 March 2021
Start of procedure:	11 April 2021
Reportor's preliminary assessment report completed on:	17 April 2021
MA assessment:	18 May 2021
Reportor's updated assessment report completed on:	N/A
EMA's adoption of conclusions:	18 May 2021



Originalquellen der Daten sind zwei Twitter-Threads, die ich hiermit nur archiviere

https://twitter.com/a_nineties/status/1724660618265833786

https://twitter.com/a_nineties/status/1734324273022488712

Dokumentenquellen:

Assessment Report REC 027 2021

<https://postvac.org/wp-content/uploads/wpforo/attachments/3025/1251-Assessment-Report-for-the-Post-Authorization-Measure-REC-027.pdf>

Type II group of variations assessment report 2022

https://mega.nz/file/GlolzLDZ#Y-2dISbF4VfA28S1mjJm_CCcn7mtTIOiHUBUO5AYhaU

Type IB variation report 16.08.2021

https://mega.nz/file/eIoSyQyS#Y2g4VtSCUIDXg9JSTY32BQIM8_Up9I8xtrkg0SMxIFw

Type IB variation report 23.09.2022

<https://postvac.org/wp-content/uploads/wpforo/attachments/3025/1252-Type-IB-variation-report.pdf>

1. Introduction

This report covers the following post-authorisation commitment undertaken by the MAH:

REC7: The MAH should provide the results of the studies performed to enhance the robustness of the DNase digestion step in the active substance manufacturing process.

1.1. Steps taken for the assessment

Submission date:	30 March 2021
Start of procedure:	21 April 2021
Rapporteur's preliminary assessment report circulated on:	27 April 2021
MS comments:	10 May 2021
Rapporteur's updated assessment report circulated on:	n/a
CHMP adoption of conclusions:	20 May 2021

„Der MAH = marketing authorisation holder (BioNTech/Pfizer) soll Ergebnisse der Studien vorlegen, welche durchgeführt wurden, um die Stabilität des DNaseI Verdaus in der aktiven Substanz des Herstellungsprozesses zu erhöhen.“ (<https://postvac.org/wp-content/uploads/wpforo/attachments/3025/1251-Assessment-Report-for-the-Post-Authorization-Measure-REC-027.pdf> Seite 4)

The likely root cause [REDACTED] Pfizer is implementing activity testing on incoming enzymes by the end of second quarter 2021, per Recommendation 3, which should help prevent future issues.

3. Scientific discussion

No detailed report for the studies initiated to enhance the robustness of the DNase digestion step is provided. However, the MAH shows data indicating that the likely root cause for the [REDACTED] residual DNA is [REDACTED]. It is also confirmed that activity testing on incoming enzymes will be implemented by the end of second quarter 2021 as requested in Recommendation 3. It is expected that a detailed summary of the results from the studies performed to enhance the robustness of the DNase digestion step will be included in Module 3.2.S.2.5 of the dossier by the end of second quarter 2021.

Recommendation 3 requesting implementation of an in-house functional activity analytical method for release testing of enzymes used in the manufacturing process at all relevant manufacturing sites was initially expected by Q1 2021 but it was agreed with EMA by e-mail to extend the due date to Q2-2021. It is recommended that Recommendations 3 and 7 are grouped.

4. Overall conclusion

The Recommendation number 7 is only considered as partly fulfilled.

- PAM fulfilled (all commitments fulfilled) - No further action required
- PAM not fulfilled (not all commitments fulfilled) and further action, as specified below, required by the end of second quarter 2021

Recommendation number 7 to provide the results of the studies performed to enhance the robustness of the DNase digestion step has only been partly fulfilled. Further actions are required to fulfil Recommendation 7 including submission of a detailed summary of the results from the studies and inclusion of these data in Module 3.2.S.2.5 of the dossier by the end of second quarter 2021. It also recommended that Recommendations 3 and 7 are grouped.

Es wurde kein detaillierter Bericht zu den begonnenen Studien, um die Stabilität des DNase-Verdau zu erhöhen, eingereicht.

[...]

Es wird erwartet, dass eine detaillierte Zusammenfassung der Ergebnisse der durchgeführten Studien zur Erhöhung der Stabilität des DNase-Verdau in Modul 3.2.S.2.5 des Dossiers bis Ende des zweiten Quartal 2021 enthalten sein wird.

[...]

PAM (Post-authorization measure) = Maßnahme nach der Zulassung: NICHT ERFÜLLT.

(<https://postvac.org/wp-content/uploads/wpforo/attachments/3025/1251-Assessment-Report-for-the-Post-Authorization-Measure-REC-027.pdf> Seite 5)

		Yes	No	N/A
GMP	GMP-inspection check is satisfactory		<input checked="" type="checkbox"/>	
ASMF 2	ASMF Holder has submitted the applicant's and/or restricted part.		<input checked="" type="checkbox"/>	
	EMA or EU ASMF number is included in the 'Present/Proposed' table.		<input checked="" type="checkbox"/>	
	ASMF applicant's part version is in-line with the updated version in 3.2.S.		<input checked="" type="checkbox"/>	
New indications of a generic medicinal product	<u>For new indications falling under an orphan designation, similarity report (and derogation claim, if applicable) is included.</u>		<input checked="" type="checkbox"/>	

2.1.3. Post Authorisation Measure

Recommendation #7 to provide the results of the studies performed to enhance the robustness of the DNase digestion step has only been partly fulfilled. Further actions are required to fulfil Recommendation #7 including submission of a detailed summary of the results from the studies and inclusion of these data in Module 3.2.5.2.5 of the dossier by the end of second quarter 2021. It is also recommended that Recommendations 3 and 7 are grouped.

Response to Post Authorisation Measure

Following the increase in residual DNA observed during the ACMP-PPQ campaign, small scale experiments were initiated to enhance the robustness of the DNase I digestion step. Studies were conducted to better understand the impact of reaction components, process parameters, and operation parameters on levels of residual DNA template. The small-scale studies are inconclusive and no adjustments to the DNase step are recommended, therefore the data from these studies are not provided.

Type III variation report
EMA/CHMP/420590/2021

Page 6/9

The root cause analysis is supported by the data previously shown in EMEA/H/C/006735/PAN-ANX
REC027

Pfizer has implemented an activity assay for incoming enzymes to monitor and identify outliers that trend with drug substance product quality until acceptance criteria for the new assay can be established. This includes

Die Empfehlung Nr. 7, die **Ergebnisse der Studien zur Verbesserung der Robustheit des DNase-Verdauungsschritts vorzulegen, wurde nur teilweise erfüllt. Es sind weitere Maßnahmen erforderlich, um die Empfehlung in Modul 2.3.5.2.5 des Dossiers bis zum Ende des zweiten Quartals 2021 zu erfüllen.**

Antwort auf die Maßnahme nach der Zulassung

[...] Im Anschluss an den während der ACMP-PPQ-Kampagne beobachteten Anstieg der Rest-DNA wurden **Versuche in kleinem Maßstab eingeleitet, um die Robustheit des DNase-I-Verdauungsschritts zu verbessern. Es wurden Studien durchgeführt, um die Auswirkungen von Reaktionskomponenten, Prozess- und Betriebsparametern auf die Höhe der Rest-DNA-Template besser zu verstehen. Die Studien im kleinen Maßstab sind nicht schlüssig und es werden keine Anpassungen des DNase-Schrittes empfohlen, daher werden die Daten aus diesen Studien nicht bereitgestellt.**

[...]

Pfizer hat ein Aktivitätsassay für eingehende Enzyme eingeführt, um Ausreißer zu überwachen, die die Produktqualität von Arzneimitteln beeinträchtigen, bis Akzeptanzkriterien für den neuen Assay festgelegt werden können. Dies umfasst (ab hier geschwärzt).

<p>7. The MAH should provide the results of the studies performed to enhance the robustness of the DNase digestion step in the active substance manufacturing process.</p>	<p>Partly fulfilled</p> <p>REC/027 ongoing, CHMP conclusion</p> <p>20/05/2021: Further actions are required to fulfill Recommendation 7 including submission of a detailed summary of the results from the studies and inclusion of these data in Module 3.2.S.2.5 of the dossier by the end of second quarter 2021. It also recommended that Recommendations 3 and 7 are grouped.</p> <p>VAR <u>IB-55</u>: No results are provided, since the Applicant considers the small-scale study to be inconclusive and no adjustment to the DNase digestion step is recommended. This is not found acceptable, and data should be provided to support that no change is needed. In addition, the correlation of DNase I activity and levels of Residual DNA template as measured by the in-house methods should be sufficiently evaluated.</p> <p>VAR <u>IB-106-G</u>: In order to complete REC #7, data from the two additional sites Mainz/Rentschler and Marburg should be provided. Section 3.2.S.2.5 of the dossier should be updated with data on residual DNA levels from all three sites. In addition, section 3.2.S.2.2 should be updated with information on the enhanced process control. If possible, the minor adjustments should be reflected in the related acceptance criteria.</p>
--	---

20/05/2021: Weitere Maßnahmen sind erforderlich, um die Empfehlung 7 zu erfüllen, einschließlich der Vorlage einer detaillierten Zusammenfassung der Ergebnisse [...]

Var IB-55: Es werden keine Ergebnisse vorgelegt, da der Antragsteller die Studie in kleinem Maßstab für nicht schlüssig hält und keine Anpassung des DNase-Digestionsschritts empfohlen wird.

Text kommt bekannt vor?
 Problem: Das Dokument ist vom 29.03.2022
 Seit dem 20.05.2021 keine Verbesserung!

3. Overall conclusion

Based on the review of the data, the change(s) proposed by the MAH

is/are approvable.

is/are not approvable based on the following grounds:

Rapporteur's assessor:	Name:	[REDACTED]
	Tel:	[REDACTED]
	Email:	[REDACTED]
	Date:	2022-03-29

The assessor confirms that proprietary information on, or reference to, other products are not made in this assessment and that [REDACTED] on behalf of the Rapporteur: **Filip Josephson** endorses this report.

<https://www.ema.europa.eu/en/committees/committee-medicinal-products-human-use-chmp/chmp-members>

Filip Josephson

[Alternate](#)

Affiliation: Swedish Medical Products Agency

 Dag Hammarskjolds Vag 42, Uppsala Science Park,
752 37 Uppsala, SWEDEN

 [Curriculum Vitae](#)

 [Declaration of Interests](#)

Vielen der in der Öffentlichkeit kursierenden Daten und Untersuchungen zu mutmaßlichen Kontaminationen der COVID-19-mRNA-Impfstoffe liegen **methodische Mängel** zu Grunde.

(ii) Die angewandte Methodik zur Bestimmung der Rest-DNA-Menge muss nachgewiesenermaßen geeignet und nachvollziehbar sein – **insbesondere sollten Testinterferenzen durch das Vorhandensein von Lipid-Nanopartikeln in den Impfstoff-Fläschchen ausgeschlossen worden sein (was bei Testung am finalen Impfstoff-Fläschchen nicht garantiert werden kann).**

(iii) Die angewandte Methode muss validiert worden sein, um verlässliche und überprüfbare Ergebnisse zu liefern.

Messung der Ausgangssubstanz vor dem Verpacken in Liposomen

Table 1. Drug Substance In-Process Tests (IPT-C)

Test	Test Method	Specification	Date of Test	Result
RNA Content (UFDF Pool Pre Dilution)	UV Spectroscopy		20-May-2021	3.24 mg/mL
RNA Content (UFDF Pool Post Dilution)	UV Spectroscopy		20-May-2021	2.26 mg/mL
Content (RNA Concentration)	UV Spectroscopy		25-May-2021	2.27 mg/mL
Identity of Encoded RNA Sequence	RT-PCR		25-May-2021	Confirmed
RNA Integrity	Capillary Gel Electrophoresis		25-May-2021	69 %
5'- Cap	RP-HPLC		26-May-2021	90 %
Poly(A) Tail	ddPCR		11-Jun-2021	85 %
Residual DNA Template	qPCR		26-May-2021	220 ng DNA/mg RNA

<https://www.tga.gov.au/sites/default/files/foi-3390-11.pdf>

DNA-/RNA-Konzentrationsbestimmung

J. Ammann

Chapter | First Online: 01 January 2019

25k Accesses | 3 Altmetric

Part of the Springer Reference Medizin book series (SRM)

Synonym(e)

[Nukleinsäure-Quantifizierung](#)

Englischer Begriff

nucleic acid quantitation

Definition

Die Bestimmung der DNA- bzw. RNA-Konzentration wird fotometrisch durch Messung der Absorption im UV-Bereich bei 260 und 280 nm ermittelt und folgt dabei dem Lambert-Beer-Gesetz.

Beschreibung

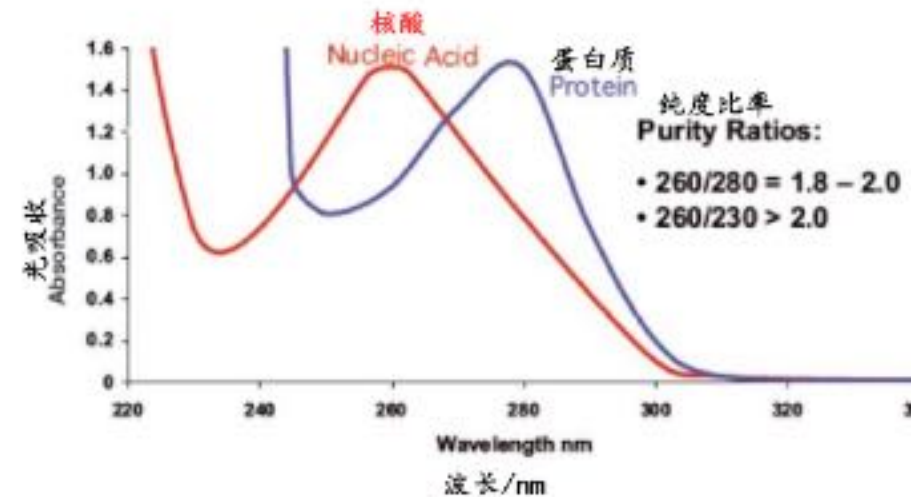
Die extrahierte DNA zeigt bei Darstellung als Absorptionsspektrum zwischen 230 und 320 nm ein Absorptionsmaximum bei A₂₆₀ (260 nm). Der Wert A₂₈₀ (280 nm) wird zur Bestimmung der Reinheit der DNA und RNA gemessen und als Quotient A₂₆₀/A₂₈₀ dargestellt. Ein Quotient von 1,8–2,0 entspricht dabei einer reinen und sauber extrahierten DNA bzw. RNA, während Werte <1,8 oftmals auf Verunreinigungen, z. B. durch Proteine, hinweisen. Die Reinheit und sichere Konzentrationsbestimmung der DNA bzw. RNA ist für eine Mehrzahl der Applikationen unersetzlich.

Die DNA- bzw. RNA-Konzentration (c) wird berechnet nach der Formel

$$C [\mu\text{g/mL}] = A_{260} \times \text{Verdünnungsfaktor} \times \text{Extinktionskoeffizient.}$$

Der spezifische Extinktionskoeffizient beträgt 50 für doppelsträngige DNA, 40 für einzelsträngige RNA/DNA und 20 für Oligonukleotide.

https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-662-48986-4_3464



<https://qinqianshan.com/biology/protein/uv-absorption-of-proteins-nucleic-acids/>

Lot Number: FL7649

<https://www.tga.gov.au/sites/default/files/foi-3390-11.pdf>

Licensed Name of Product: COMIRNATY

Table 1. Filled Vaccine Quality Control Tests

Test	Test Method	Specification	Date of Test	Result
Appearance	Appearance (Visual)		01-Oct-2021	MEETS TEST
Appearance (Visible Particulates)	Appearance (Particles)		01-Oct-2021	MEETS TEST
Subvisible Particles	Subvisible Particulate Matter		06-Oct-2021	67 Particles \geq 10 μ m per container
			06-Oct-2021	0 Particles \geq 25 μ m per container
pH	Potentiometry		04-Oct-2021	7.6
Osmolality	Osmometry		06-Oct-2021	572 mOsm/kg
LNP Size	Dynamic Light Scattering (DLS)		05-Oct-2021	█ ← LIMS
LNP Polydispersity	Dynamic Light Scattering (DLS)		05-Oct-2021	█ ← LIMS
RNA Encapsulation	Fluorescence assay		05-Oct-2021	█
RNA content	Fluorescence assay		05-Oct-2021	0.48 μ g/mL ← LIMS
ALC-0315 content	HPLC-CAD		06-Oct-2021	6.69 μ g/mL ← LIMS
ALC-0159 content	HPLC-CAD		06-Oct-2021	0.83 μ g/mL ← LIMS
DSPC content	HPLC-CAD		06-Oct-2021	1.42 μ g/mL ← LIMS
Cholesterol content	HPLC-CAD		06-Oct-2021	2.89 μ g/mL ← LIMS
Container content for injections	Vial Content (Volume)		01-Oct-2021	✓ Not less than 0.406 mL
Lipid identities	HPLC-CAD		06-Oct-2021	✓ MEETS TEST

RNA content

Fluorescence assay

05-Oct-2021

0.48 mg/n

LIMS

The screenshot shows a presentation slide with the following content:

- Logo:** "Die Yüche" with a cartoon character.
- Title:** "Untersuchungsmethoden von DNA Resten in Impfstoffen"
- Section:** "Qubit + Fluorometrie" (highlighted in red)
- Image:** "Qubit 4 Fluorometer" with a photograph of the device.
- List of methods:**
 - Bioanalyser 2100 - DNA-Längen bestimmung
 - quantitative Polymerase Ketten Reaktion (qPCR)
 - Sequenzierungen
- Equipment section:** Four columns showing different laboratory equipment with their respective names and descriptions.
- Footer:** "© Dr. Elke Auerst" and the number "47".

A video call inset in the top right corner shows a person with short blonde hair wearing a blue and white striped shirt.

Keyword	Filename	Page	Extract
Ribogreen	125742_S1_M4_20256434.pdf	181	is supported by evaluating the RNA concentration for multiple sample pulls from a single vial by Ribogreen . This is applicable to formulations of vaccines (test articles) containing RNA lipid nanoparticles
Ribogreen	125742_S1_M4_20256434.pdf	183	and N=5 times over a 120-minute window to represent the DART study vial handling using the Ribogreen assay (VR-TM-10308). ¹ The materials used in this evaluation are shown in Table 1. Table 1. Samples
Ribogreen	125742_S1_M4_20256434.pdf	185	applicable. 7. REFERENCES 1. VR-TM-10308, "Quantification of Total RNA in COVID-19 mRNA LNP DP by RiboGreen Fluorescence". PFIZER CONFIDENTIAL Page 7 CONFIDENTIAL FDA-CBER-2021-5683-0594016

PicoGreen (DNA-Farbstoff) ist spezifischer für DNA/RNA ist als RiboGreen (RNA-Farbstoff, der aber in Wirklichkeit DNA besser bindet), das Pfizer zur Messung seiner RNA verwendet. Mit jeder DNA-Verunreinigung, die sie haben, erhalten sie ein 2-fach höheres RNA-Signal. Anschließend messen sie ihre DNA mit qPCR, wodurch ihr DNA-Wert unterschätzt wird. Es ist eigentlich ein sehr cleverer Trick, den sie angewendet haben, wenn man versteht, dass RiboGreen ein 2-fach höheres Signal auf DNA als auf RNA hat.

<https://anandamide.substack.com/p/fluorometry-deep-dive>

Auch stellt sich das Problem der möglicherweise unsachgemäßen Lagerung der untersuchten Impfstoffdosen. Experimentelle Bestimmungen z. B. von Rest-DNA durch Dritte in auf dem Markt verfügbaren Impfstoffdosen müssen folgende Kriterien erfüllen, um wissenschaftlich haltbare Ergebnisse zu erbringen: (i) Sie dürfen nicht an Proben erfolgen, die aus **abgelaufenen (Haltbarkeitsdatum überschritten) Impfstoff-Fläschchen** oder aus angebrochenen oder nicht sachgemäß gelagerten Impfstoff-Fläschchen stammen.

Newsroom

Meldungen

COVID-19-Impfstoff Comirnaty – Haltbarkeitsdauer auf 12 Monate verlängert

Für den Impfstoff Comirnaty von BioNTech/Pfizer wurde am 24.03.2022 beziehungsweise 04.04.2022 in der EU die Verlängerung der Haltbarkeitsdauer für ultrakühl getrocknete Durchstechflaschen für beide Dosierungen und alle Formulierungen von neun auf zwölf Monate genehmigt. Die Verlängerung um drei Monate gilt für Durchstechflaschen von Impfstoffchargen, die nach Erteilung der jeweiligen Genehmigung hergestellt wurden. Darüber hinaus kann diese Verlängerung auch rückwirkend auf Durchstechflaschen von Chargen angewandt werden, die vor der Erteilung der Genehmigung hergestellt wurden. Die Lagerbedingungen von -90 °C bis -60 °C sind unverändert weiterhin anzuhalten.



<https://www.pei.de/DE/newsroom/hp-meldungen/2022/220421-covid-19-impfstoff-comirnaty-haltbarkeitsdauer-auf-12-monate-verlaengert.html>

Ja, Transfektionsstudien (also ob das Produkt noch in Zellkultur funktioniert), wäre in dem Fall möglicherweise hinfällig.

ABER

DNA ist extrem stabil, sonst gäbe es nicht den Fachbereich der Paleogenetik (<https://de.wikipedia.org/wiki/Pal%C3%A4ogenetik>) oder Rechtsmedizinische DNA-Gutachten.

Die DNA pro Volumen bliebe konstant, auch wenn die (angeblich doch so stabile modRNA) bereits komplett zerfallen wäre.

Die kationischen Lipide könnte man auch bei zerfallenen LNPs immer noch im Massenspektrometer messen, weil sie bei der Messung ohnehin zerfallen.

Eine Untersuchung auf langlebige Bestandteile ist also auch in abgelaufenen Proben problemlos möglich, das gilt übrigens auch für Endotoxine, die sind auch extrem langlebig und stabil.

Das vom PEI genannte Problem mit den nicht korrekt gelagerten Proben ließe sich durch die Bundesregierung sehr einfach lösen:

Forscher bekommen einfach ein paar Fläschchen aus den Bundesbeständen, die ohnehin aktuell kaum einer mehr will. Warum bietet man das nicht an?

Eine Plasmid-DNA-Restmenge ist aber in kleinen, als **unschädlich geltenden** Mengen unterhalb eines in der Zulassung festgelegten Grenzwerts vorhanden.

[...] Bis dato gibt es **keine Anhaltspunkte dafür, dass Nebenwirkungen in Verbindung mit DNA-Restmengen** in den zugelassenen COVID-19-mRNA-Impfstoffen in Verbindung stehen könnten

[...] Mögliche Risikoaspekte, die bei Rest-DNA aus Zellen tierischen Ursprungs entstehen könnten, sind eine potenzielle **Tumorigenität** durch Übertragung von Vorläufer-Onkogene (Proto-Onkogene) und eine potenzielle Infektiosität der DNA durch Übertragung vollständiger funktioneller viraler Gene. Diese sind für **DNA bakteriellen Ursprungs nicht gegeben.**



[...] Denn kleine DNA-Fragmente werden als **unschädlich betrachtet**, da sie nicht für funktionelle Proteine codieren können (FDA Guidance for Industry (2010): “Characterization and Qualification of Cell Substrates and Other Biological Materials Used in the Production of Viral Vaccines for Infectious Disease Indications”).

19.12.2023

Gesundheit — Antwort — hib 957/2023


Keine unerwünschten Wirkungen durch DNA-Fragmente

(<https://www.bundestag.de/presse/hib/kurzmeldungen-984154>)

Berlin: (hib/PK) Es gibt nach Angaben der Bundesregierung keine wissenschaftlichen Hinweise darauf, dass die in Anti-Corona-Impfstoffen enthaltenen DNA-Fragmente unerwünschte Wirkungen hervorrufen könnten. Jede Wirkstoffcharge des Covid-19 mRNA Impfstoffs werde vom Hersteller verpflichtend auf DNA-Restmengen untersucht. Die Ergebnisse seien Teil des Chargenfreigabeprotokolls, das geprüft werde, heißt es in der Antwort ( [20/9697](#)) der Bundesregierung auf eine Kleine Anfrage ( [20/9412](#)) der AfD-Fraktion.

US10077439B2

United States

 Download PDF  Find Prior Art  Similar

Inventor: William Joseph ISSA, Yuxun Wang, **Stephane Bancel**

Current Assignee: ModernaTx Inc

Worldwide applications

2014 · [EP](#) [WO](#) [US](#) 2018 · [US](#) 2020 · [US](#)

Application US14/777,301 events

2014-03-13 • Application filed by ModernaTx Inc

2014-03-13 • Priority to US14/777,301

2016-01-28 • Publication of US20160024492A1

2018-09-18 • Application granted

2018-09-18 • Publication of US10077439B2

Status • Active

2034-03-13 • Anticipated expiration

Show all events 

<https://patents.google.com/patent/US10077439B2/en>

The DNA template used in the mRNA manufacturing process must be removed to ensure the efficacy of therapeutics and safety, because residual DNA in drug products may induce activation of the innate response and has the potential to be oncogenic in patient populations. Regulatory guidelines may also require the quantification, control, and removal of the DNA template in RNA products. Currently available or reported methods do not address this deficiency.

„Die im mRNA-Herstellungsprozess verwendete DNA-Vorlage muss entfernt werden, um die Wirksamkeit der Therapeutika und die Sicherheit zu gewährleisten, da DNA-Reste in Arzneimittelprodukten die Aktivierung der angeborenen Reaktion auslösen können und das Potenzial haben, in Patientenspopulationen onkogen zu sein. Gesetzliche Richtlinien können auch die Quantifizierung, Kontrolle und Entfernung der DNA-Vorlage in RNA-Produkten vorschreiben. Derzeit verfügbare oder gemeldete Methoden gehen auf diesen Mangel nicht ein.“

Review > Intervirology 2000; 43(4-6):331-8. doi: 10.1159/000054001.

DNA vaccines: development, standardization and regulation

K Cichutek¹

Affiliations

Affiliation

¹ Department of Medical Biotechnology, Paul-Ehrlich-Institut, Langen, Germany. cickl@pei.de

PMID: 11251389 DOI: 10.1159/000054001

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11251389/>

Abstract

Nucleic acid vaccines contain nonvectored nucleic acids intended to be used as prophylactic vaccines in humans or animals. In addition to the Guidelines Assuring the Quality of DNA Vaccines published by the WHO, further standards for the manufacture and preclinical testing are being developed. Theoretical risks have been taken into account and assessed before human use has been considered. Legal requirements for clinical trials and licensing of nucleic vaccines are in place in Germany and other European member states which allow further testing and development of proprietary medicinal products based on nucleic acids and intended for prophylactic vaccination.

Copyright 2001 S. Karger AG, Basel.

[PubMed Disclaimer](#)

Introduction

In 1990 the first eminent paper describing the immunization of mice following deliberate inoculation of non-complexed, so-called 'naked' DNA was published and raised considerable interest [1]. It was followed by a number of other publications describing the seemingly effort-

„1990 wurde die erste bedeutende Arbeit veröffentlicht, in der die Immunisierung von Mäusen nach absichtlicher Inokulation von nicht-komplexer, so genannter "nackter" DNA beschrieben wurde und die großes Interesse weckte.“

[1] Wagener S, Norley S, zur Megede J, Kurth R, **Cichutek K**. Induction of antibodies against SIV antigens after intramuscular nucleic acid inoculation using complex expression constructs. *J Biotechnol.* 1996 Jan 26;44(1-3):59-65. doi: 10.1016/0168-1656(95)00093-3. PMID: 8717387. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8717387/>

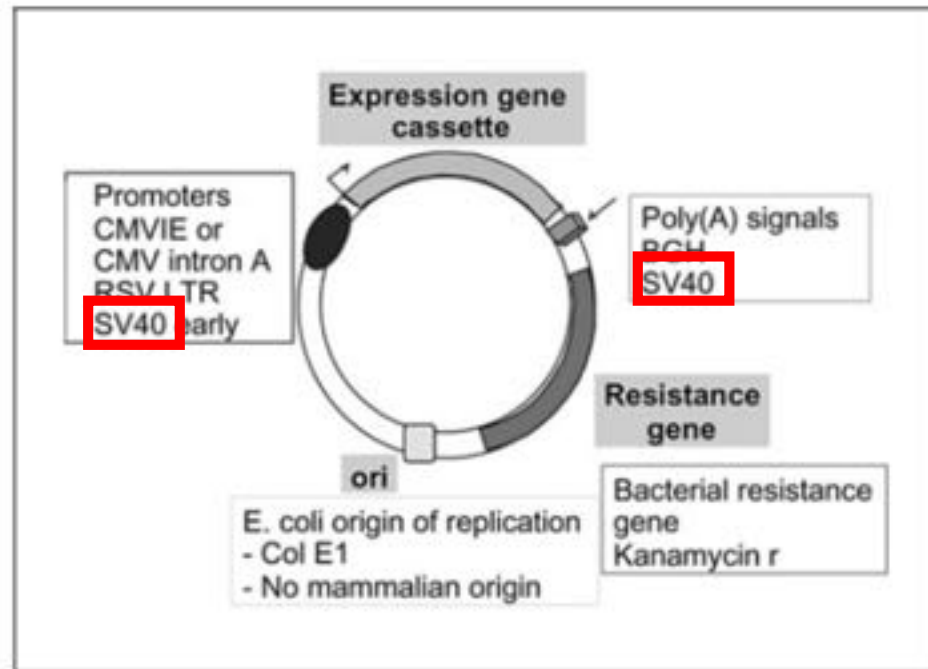
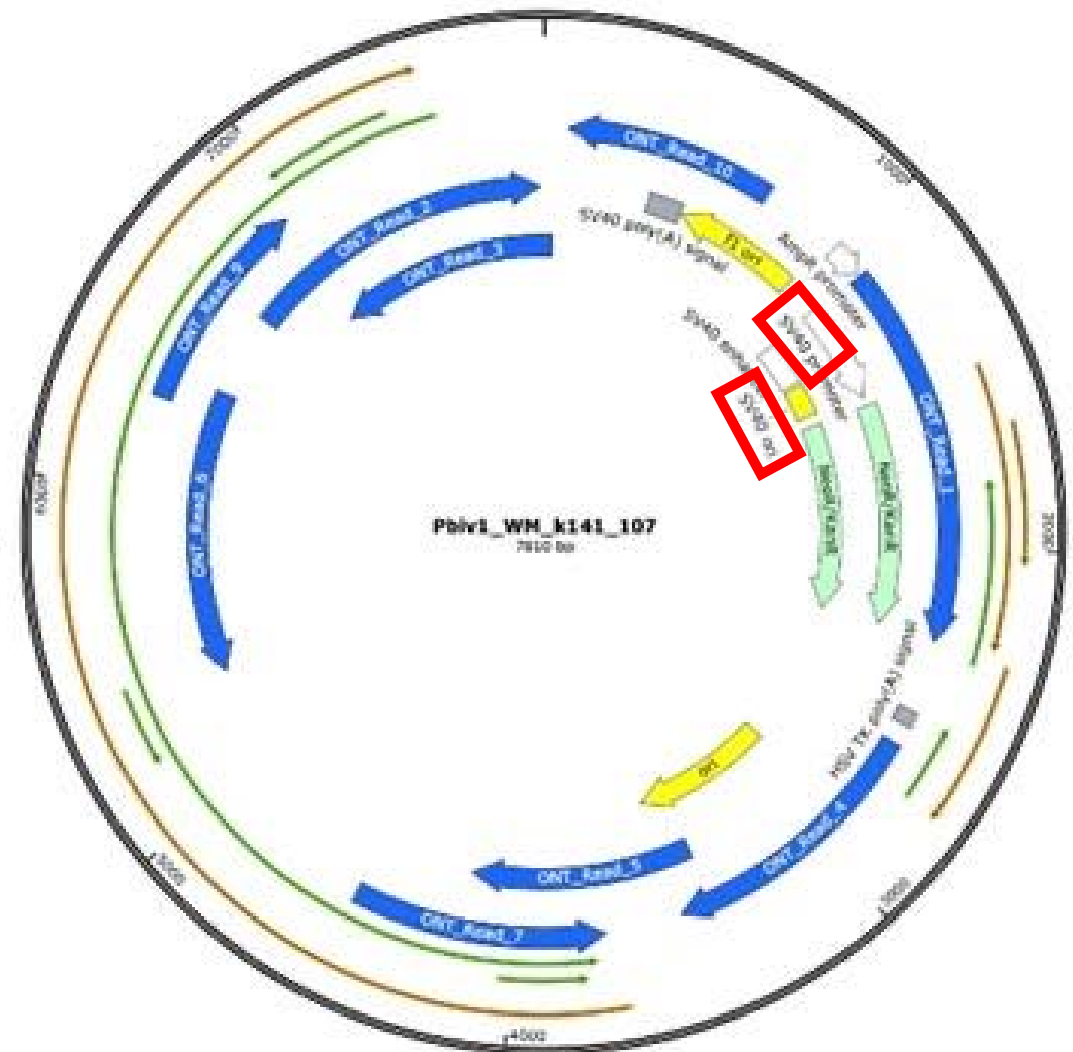


Fig. 1. Plasmid constructs used for DNA vaccination, BGH = Bovine growth hormone; CMVIE = cytomegalovirus immediate-early region; RSV = Rous sarcoma virus.



Escherichia coli bacteria, plasmid DNA comprising one or more synthetic mammalian genes is mostly used today. Consequently, most plasmid DNAs used for DNA vaccination comprise a bacterial origin of replication (Col E1) and do not contain any mammalian replication origin as this would result in the unwanted replication of the DNA in mammalian cells. The structure of a plasmid typically used for DNA vaccination is shown in figure 1. The syn-

„[...] die meisten für die DNA-Impfung verwendeten Plasmid-DNAs enthalten einen bakteriellen Replikationsursprung (Col E1) und keinen Säugetierreplikationsursprung, da dies zu einer unerwünschten Replikation der DNA in Säugetierzellen führen würde.“

SV40 ist zwar kein Säugetierreplikationsursprung, aber von einem Virus, das sich in Säugetieren vermehrt. Das hätte man vielleicht bedenken sollen?

multistep process with the DNA accumulating at the nuclear periphery before its import. Most importantly, nuclear import was sequence specific: a region of SV40 DNA containing the origin of replication and the early and late promoters supported import, whereas bacterial sequences alone and other SV40-derived sequences did not. The majority of the imported DNA colocalized with the SC-35 splicing complex antigen.

> [Exp Cell Res. 1997 Feb 1;230\(2\):293-302. doi: 10.1006/excr.1996.3427.](#)

Import of plasmid DNA into the nucleus is sequence specific

D A Dean ¹

Affiliations + expand

PMID: 9024788 DOI: 10.1006/excr.1996.3427

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9024788/>

cytoplasm, plasmids containing portions of the SMGA promoter localize to the nucleus of smooth muscle cells, but remain cytoplasmic in fibroblasts and CV1 cells. In contrast, a similar plasmid carrying the SV40 enhancer is transported into the nuclei of all cell types tested. Nuclear import of the SMGA promoter-containing plasmids could be achieved when the smooth muscle specific

> *Gene Ther.* 1999 Jun;6(6):1006-14. doi: 10.1038/sj.gt.3300924.

Cell-specific nuclear import of plasmid DNA

J Vacik¹, B S Dean, W E Zimmer, D A Dean

Affiliations + expand

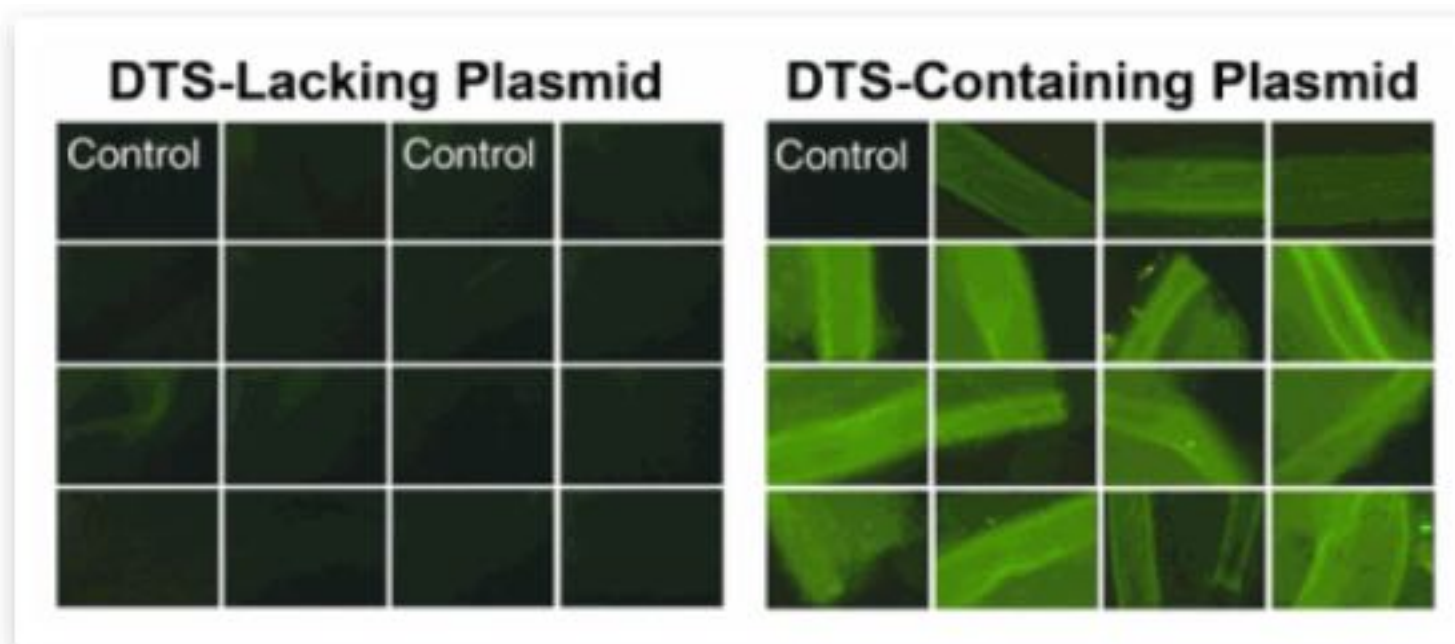
PMID: 10455402 PMCID: PMC4408932 DOI: 10.1038/sj.gt.3300924

Free PMC article

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10455402/>

Kleiner Hinweis: Der SV40 ORI (origin of replication = Replikationsstartpunkt) ist integraler Teil des V40 Promotors. Man kann nicht den einen ohne den anderen haben.

<https://anandamide.substack.com/p/shrodingers-sv40-and-p53>



DNA nuclear targeting sequences function in vivo. Plasmids lacking or carrying the SV40 DTS were delivered to mesenteric blood vessels in a number of rats using electroporation and two days later, gene expression was detected. When transfected into dividing cells in culture, these two plasmids express the same levels of GFP, but when delivered to non-dividing cells in these animals, only plasmids carrying the SV40 DTS give significant levels of gene expression.

<https://www.urmc.rochester.edu/labs/dean/projects/nuclear-targeting-of-plasmids-and-protein-dna-comp.aspx>

trials in human beings.

The i.m. inoculation of DNA leads to a quite efficient, spontaneous uptake of the DNA by myocytes which then express the encoded gene. Initially, myocytes were sus-

„Die intramuskuläre Inokulation von DNA führt zu einer recht effizienten, spontanen Aufnahme der DNA durch Myozyten (Muskelzellen), die dann das kodierte Gen exprimieren.“

by the APC is necessary. This may not be readily achieved by transfected muscle cells. As some of the DNA injected may be taken up into the bloodstream and may lead to transfection of liver cells, antigen processing and presentation are possibly also performed by professional APCs in the liver, in lymph nodes and in other organs. The delivered genes are expressed in the somatic cells transfected and presented by the conventional pathways through the MHC I complex. This is one of the important advantages of DNA vaccines compared to subunit and

„Da ein Teil der injizierten DNA in den Blutkreislauf aufgenommen werden und zur Transfektion von Leberzellen führen kann, werden Antigenverarbeitung und -präsentation möglicherweise auch von professionellen APCs in der Leber, in Lymphknoten und in anderen Organen durchgeführt. Die übertragenen Gene werden in den transfizierten Körperzellen exprimiert und auf dem herkömmlichen Weg über den MHC-I-Komplex präsentiert.“

live attenuated vaccines. Similar to efficient immune stimulation during normal viral infections, for example, DNA vaccination results in antigen expression and presentation by somatic cells in vivo. This form of antigen presentation can only inefficiently be achieved using subunit vaccines. Similar to subunit vaccines, however, DNA

„Die DNA-Impfung führt zu einer Antigenexpression und -präsentation durch somatische Zellen in vivo.“

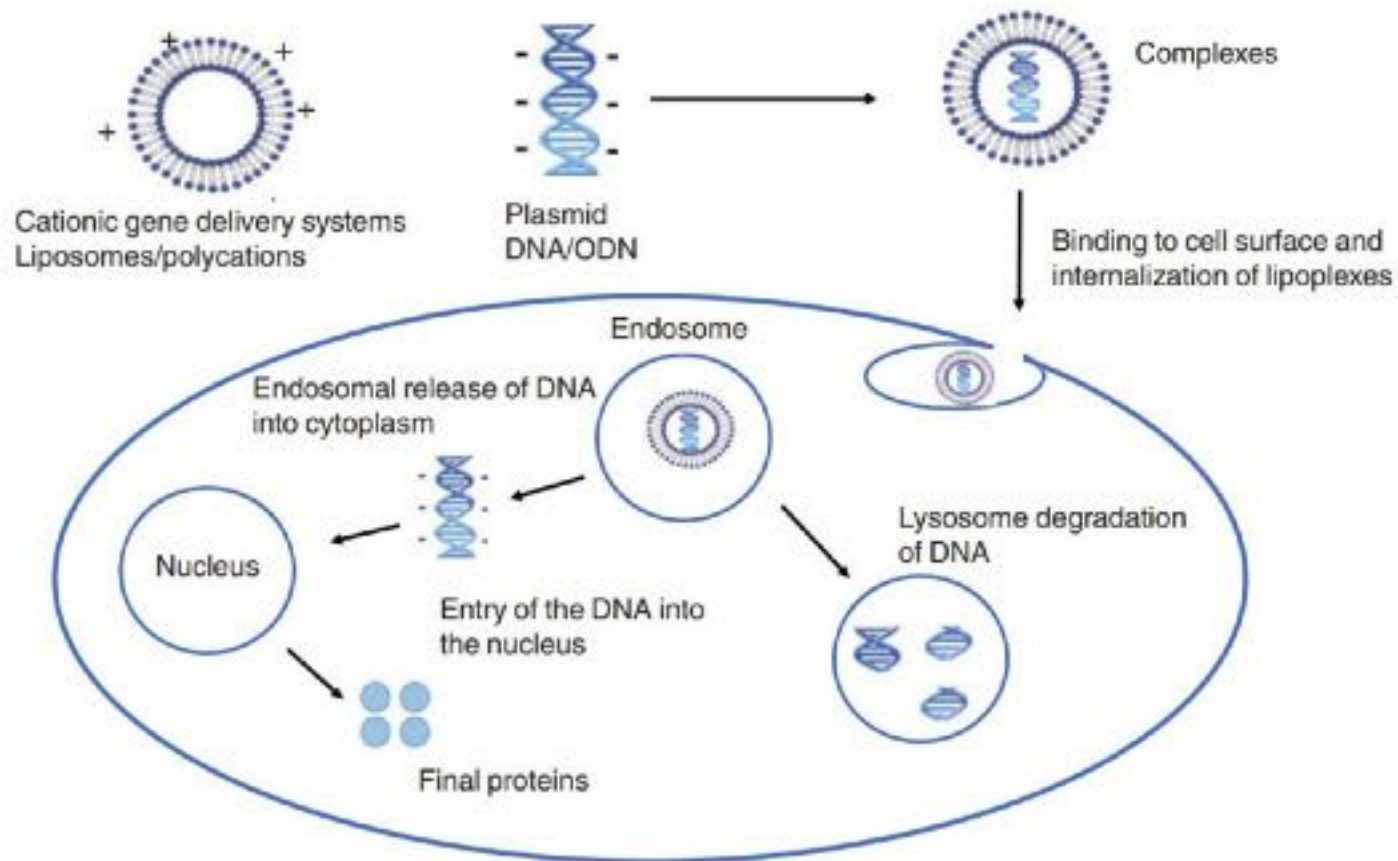


Figure 5. Schematic illustration of processes involved in gene delivery and expression.

(<https://doi.org/10.1002/0471266949.bmc073.pub3>)

ZyCoV-D becomes world's first plasmid DNA vaccine for COVID-19

Zydus' ZyCoV-D received emergency use authorisation (EUA) in India, becoming the world's first plasmid DNA vaccine for COVID-19.



Zydus Cadila has received emergency use authorisation (EUA) from the Drug Controller General of India (DCGI) for ZyCoV-D, the world's first plasmid DNA vaccine for COVID-19. Following this approval, India now has its first COVID-19 vaccine for the adolescents in the 12-18 age group, besides the adult population.

<https://www.europeanpharmaceuticalreview.com/news/160968/zycov-d-becomes-worlds-first-plasmid-dna-vaccine-for-covid-19/>



Access through your institution

Purchase PDF

Patient Access




Journal of Controlled Release

Volume 143, Issue 1, 2 April 2010, Pages 104-111





Monitoring intracellular degradation of exogenous DNA using diffusion properties

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S016836590900858X?via%3Dihub>

Akira Sasaki, Masataka Kinjo  

Show more 

+ Add to Mendeley  Share  Cite

<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2009.12.013> 

[Get rights and content](#) 

vectors [3]. In general, complexes of exogenous DNAs and a cationic polymer or cationic lipid, commonly used as nonviral vectors, are internalized to target cells by endocytosis. Then a sequential process progresses spontaneously with escape from endosomes, dissociation of complexes, and diffusion of naked DNAs in the cytoplasm to reach the nucleus [4], [5], [6]. On the other hand, physical approaches such as microinjection [7], [8] and electroporation [9] are performed to incorporate naked DNAs directly into cytoplasm across the plasma membrane. Some naked DNAs diffuse in the cytoplasm to the nucleus [10]. The diffusion of exogenous DNAs in cytoplasm is relatively slow compared with that in solution [10], [11], and it is hard for large DNA to cross the nuclear membrane [11]. Under such conditions in cytoplasm, the existence of nuclease degradation in cytoplasm is suggested [10], [11], [12], [13], [14], [15]. It is presumed that the translocation and nuclear uptake of transfected DNA compete with degradation by cytoplasmic nucleases [11]. Therefore, it is important to investigate cytoplasmic behavior of naked exogenous DNAs to achieve efficient gene delivery and expression. The cytoplasmic degradation of naked DNAs can function as a barrier against efficient gene delivery. However, little is known about the degradation mechanism [13] because it is difficult to characterize the degradation process of exogenous DNA in living cells.

„Im Allgemeinen werden Komplexe aus exogenen DNAs und einem kationischen Polymer oder kationischen Lipid, die üblicherweise als nichtvirale Vektoren verwendet werden, durch Endozytose in die Zielzellen internalisiert. Dann läuft spontan ein sequenzieller Prozess ab, bei dem die Endosomen verlassen werden, die Komplexe dissoziieren und die nackten DNAs in das Zytoplasma diffundieren, **um den Zellkern zu erreichen**. Andererseits werden physikalische Verfahren wie die Mikroinjektion und die Elektroporation angewandt, um nackte DNAs direkt durch die Plasmamembran in das Zytoplasma einzubringen. **Einige nackte DNAs diffundieren im Zytoplasma in den Zellkern**. Die Diffusion exogener DNAs im Zytoplasma ist im Vergleich zu der in Lösung relativ langsam und große DNAs können die Kernmembran nur schwer passieren. Unter diesen Bedingungen im Zytoplasma wird die Existenz eines Nuklease-Abbaus im Zytoplasma **vermutet**. Es wird **vermutet**, dass die Translokation und die Aufnahme der transfizierten DNA in den Zellkern mit dem Abbau durch zytoplasmatische Nukleasen konkurrieren. Daher ist es wichtig, das zytoplasmatische Verhalten nackter exogener DNAs zu untersuchen, um eine effiziente Genübertragung und -expression zu erreichen. Der zytoplasmatische Abbau nackter DNAs kann als Barriere für eine effiziente Genübertragung fungieren. **Über den Abbaumechanismus ist jedoch wenig bekannt, da es schwierig ist, den Abbauprozess exogener DNA in lebenden Zellen zu charakterisieren.**“

blocked-end linear DNA. All of the forms of linear DNA resulted in a high fraction of the cells being stably transfected—between 10 and 20% of the initially transfected cells. These results indicate that blocking the ends of linear DNA is insufficient to prevent integration.

„Alle Formen der linearen DNA führten dazu, dass ein hoher Anteil der Zellen stabil transfiziert wurde - zwischen 10 und 20 % der ursprünglich transfizierten Zellen. Diese Ergebnisse zeigen, dass die Blockierung der Enden der linearen DNA nicht ausreicht, um die Integration zu verhindern.“

scientific reports

[Explore content](#) ▾ [About the journal](#) ▾ [Publish with us](#) ▾

[nature](#) > [scientific reports](#) > [articles](#) > [article](#)

Article | [Open access](#) | [Published: 26 April 2023](#)

High spontaneous integration rates of end-modified linear DNAs upon mammalian cell transfection

Samuel Lim , R. Rogers Yocum, Pamela A. Silver & Jeffrey C. Way 

Scientific Reports | **13**, Article number: 6635 (2023) | [Cite this article](#)

14k Accesses | **1** Citations | **1171** Altmetric | [Metrics](#)

<https://www.nature.com/articles/s41598-023-33862-0>

Effects of vector structure on plasmid transfection

When transfecting cells with plasmid, it is important to consider the topology of the DNA vector. Highly supercoiled, circular vectors are generally more efficient than linear DNA vectors for performing **transient transfection**. This is most likely because circular DNA is not vulnerable to exonucleases, while linear DNA fragments are quickly degraded by these enzymes [1,2].

In addition, complexation patterns between **cationic lipid reagents** and circular or linear DNA vectors may vary. Specifically, atomic force microscopy analysis shows that circular DNA forms compact spherical or cylindrical condensates with cationic lipids whereas linear plasmids show extended pearl necklace-like structures. Although the cationic lipid-mediated transfection of the more compact circular plasmids is likely to go through endocytosis, the pathway of entry for extended linearized DNA structures might be different and less efficient [2].

Although circular DNA is preferred for transient transfection, linear DNA vectors are more efficient for performing stable transfections. This is due to the enhanced ability of linear DNA to integrate into the host genome. Specifically, even though linear DNA is taken up by cells less efficiently, linear DNA with free ends is more recombinogenic and more likely to be integrated into the host chromosome to yield stable transformants.

„Obwohl zirkuläre DNA für die transiente Transfektion bevorzugt wird, sind lineare DNA-Vektoren für die Durchführung stabiler Transfektionen effizienter. Dies liegt an der besseren Fähigkeit der linearen DNA, sich in das Wirtsgenom zu integrieren. Obwohl lineare DNA von den Zellen weniger effizient aufgenommen wird, ist lineare DNA mit freien Enden rekombinanter und wird mit größerer Wahrscheinlichkeit in das Wirtschromosom integriert, um stabile Transformanten zu erzeugen.“ <https://thermofisher.com/au/en/home/references/gibco-cell-culture-basics/transfection-basics/applications/plasmid-transfection.html>

[https://www.jbc.org/article/S0021-9258\(18\)31087-1/fulltext](https://www.jbc.org/article/S0021-9258(18)31087-1/fulltext)

FIG. 2. Spot photobleaching of fluorescein-labeled DNA fragments in saline solution. *A*, representative fluorescence recovery curves for indicated linear double-stranded DNA fragments in phosphate-buffered saline at 28 °C. Solution layer thickness was 5 μ m, and the $\times 20$ objective lens was used. Bleach times were $\leq 2\%$ of recovery half-times, and bleach depth was maintained at 25–28%. *B*, diffusion coefficients (D_{DNA} , $\text{cm}^2 \times 10^{-6}$) as a function of DNA size. *B*₁ for FITC dextran is shown for comparison.

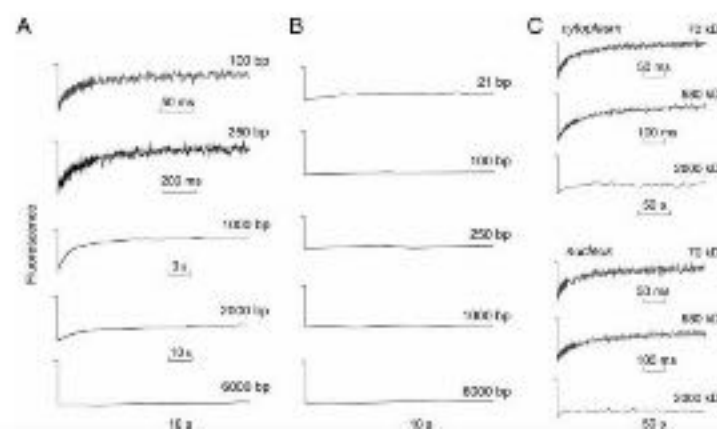
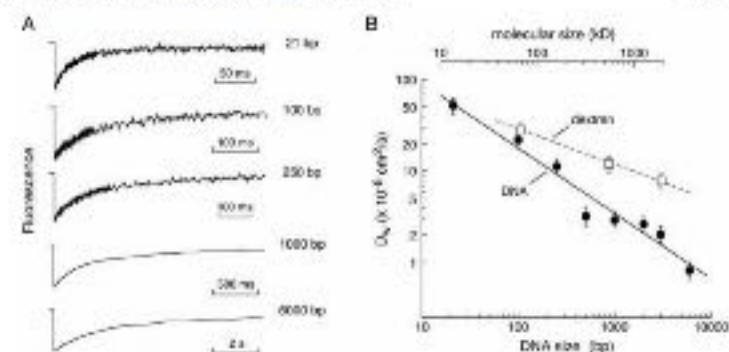


FIG. 3. Spot photobleaching measurements of fluorescein-labeled DNA and dextran diffusion in microinjected HeLa cells. Representative fluorescence recovery data ($\times 60$ oil immersion objective) in cytoplasm (*A*) and nucleus (*B*) of cells microinjected with indicated fluorescein-labeled DNA fragments at 37 °C. Data represent averaged recovery curves for three or more individual experiments. In each case bleach time was well under 5% of recovery $t_{1/2}$ and bleach depth was under 30%. *C*, fluorescence recovery curves for indicated microinjected FITC dextran in cytoplasm and nucleus.

Size-dependent DNA Mobility in Cytoplasm and Nucleus*

Gergely L. Lukacs • Peter Haggie • Oliver Seksek • D. Lecharbon • Neal Freedman • A.S. Verkman • 3, 1625

Show footnotes

Open Access • DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.275.3.1625>

delivery to the vaccinee. In contrast to subunit vaccines, however, efficient MHC I presentation and priming of cellular immune responses is achieved by DNA vaccines. In addition to MHC I presentation, uptake by APCs of the antigen produced from transfected cells in vivo following DNA vaccination probably also results in MHC II presentation.

„DNA-Impfstoffe erreichen eine effiziente MHC I-Präsentation und die Auslösung einer zellulären Immunantwort.“

spondingly, IgG2a antibodies are produced. A possible mechanism underlying this Th1 bias is the initially strong induction of IFN- γ secretion, probably due to unmethylated CpG nucleotide sequence motifs present in bacterial plasmid DNA. In fact, efficient immune stimulation has been associated with the presence of such CpG motifs in

„starke Induktion der IFN- γ -Sekretion, wahrscheinlich aufgrund von unmethylierten CpG-Nukleotidsequenzmotiven in der bakteriellen Plasmid-DNA.“

CpG oligodeoxynucleotide

🌐 4 languages ▾

Article Talk

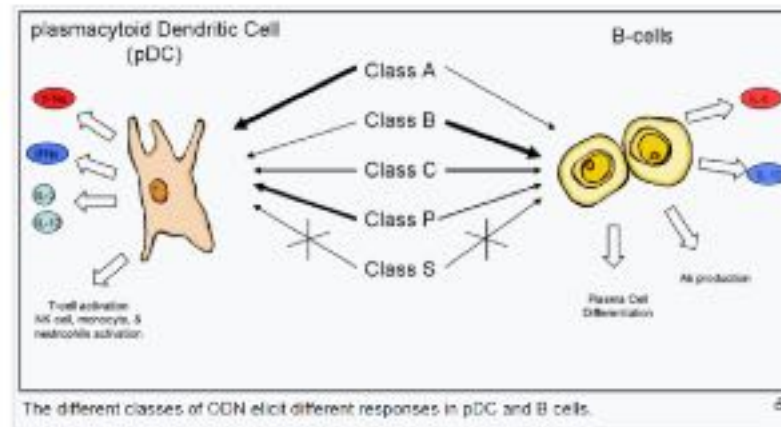
Read Edit View history Tools ▾

From Wikipedia, the free encyclopedia

(Redirected from CpG Oligodeoxynucleotide)

Not to be confused with CpG site.

CpG oligodeoxynucleotides (or CpG ODN) are short single-stranded synthetic DNA molecules that contain a cytosine triphosphate deoxynucleotide ("C") followed by a guanine triphosphate deoxynucleotide ("G"). The "p" refers to the phosphodiester link between consecutive nucleotides, although some ODN have a modified phosphorothioate (PS) backbone instead. When these CpG motifs are unmethylated, they act as immunostimulants.^[1] CpG motifs are considered pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) due to their abundance in microbial genomes but their rarity in vertebrate genomes.^[1] The CpG PAMP is recognized by the pattern recognition receptor (PRR) Toll-Like Receptor 9 (TLR9), which is constitutively expressed only in B cells and plasmacytoid dendritic cells (pDCs) in humans and other higher primates.^[2]



CpG-Oligodeoxynukleotide (oder CpG ODN) sind kurze einzelsträngige synthetische DNA-Moleküle, die ein Cytosintriphosphat-Desoxynukleotid ("C") gefolgt von einem Guanintriphosphat-Desoxynukleotid ("G") enthalten. Das "p" bezieht sich auf die Phosphodiesterbindung zwischen aufeinanderfolgenden Nukleotiden, obwohl einige ODN stattdessen ein modifiziertes Phosphorothioat (PS)-Grundgerüst aufweisen.

4. GC enrichment and potential G4 (pG4) structures in vaccine mRNAs

Go to: ▶

Recently, members of our team investigated possible alterations in secondary structure of mRNAs in SARS-CoV-2 vaccines due to codon optimization of synthetic mRNA transcripts ([McKernan et al., 2021](#)). This study has shown that **there is a significant enrichment of GC content in mRNAs in vaccines** (53% in BNT162b2 and 61% in Moderna mRNA-1273) as compared to the native SARS-CoV-2 mRNA (36%). The enriched GC content of mRNAs is the result of codon optimization performed during the development of the mRNAs used in SARS-CoV-2 vaccines, apparently without determining the effect on secondary structures, particularly the Guanine quadruplex (G quadruplex) formation ([McKernan et al., 2021](#)).

[Food Chem Toxicol](#), 2022 Jun; 164: 113008.

Published online 2022 Apr 15. doi: [10.1016/j.fct.2022.113008](https://doi.org/10.1016/j.fct.2022.113008)

PMCID: PMC9012513

PMID: [35436552](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35436552/)

Innate immune suppression by SARS-CoV-2 mRNA vaccinations: The role of G-quadruplexes, exosomes, and MicroRNAs

[Stephanie Seneff](#),^{a,*} [Greg Nigh](#),^b [Anthony M. Kyriakopoulos](#),^c and [Peter A. McCullough](#)^d

▶ [Author information](#) ▶ [Article notes](#) ▶ [Copyright and License information](#) [PMC Disclaimer](#)

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9012513/>

Bacterial DNA induces myocardial inflammation and reduces cardiomyocyte contractility: role of Toll-like receptor 9 FREE

Pascal Knuefermann , Markus Schwederski, Markus Velten, Peter Krings, Heidi Ehrentraut, Myriam Rüdiger, Olaf Boehm, Klaus Fink, Ulrike Dreiner, Christian Grohé ... [Show more](#)

[Author Notes](#)

Cardiovascular Research, Volume 78, Issue 1, 1 April 2008, Pages 26–35,
<https://doi.org/10.1093/cvr/cvn011>

Published: 14 January 2008 **Article history** ▼

A correction has been published: *Cardiovascular Research*, Volume 78, Issue 1, 1 April 2008, Pages 3–4, <https://doi.org/10.1093/cvr/cvn044>

„Bakterielle DNA löst eine Herzmuskelentzündung aus und verringert die Kontraktilität der Kardiomyozyten (<https://academic.oup.com/circres/article/78/1/26/321576>)“



PDF

 Split View

 Cite

 Permissions

 Share ▼

› Br J Pharmacol. 2023 Oct 12. doi: 10.1111/bph.16262. Online ahead of print.

Cardiac side effects of RNA-based SARS-CoV-2 vaccines: Hidden cardiotoxic effects of mRNA-1273 and BNT162b2 on ventricular myocyte function and structure

Rolf Schreckenberg ¹, Nadine Woitasky ¹, Nadja Itani ¹, Laureen Czech ¹, Péter Ferdinandy ^{2 3}, Rainer Schulz ¹

Affiliations + expand

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37828636/>

PMID: 37828636 DOI: 10.1111/bph.16262

Conclusion and Implications: Here, we demonstrated for the first time, that in isolated cardiomyocytes, both mRNA-1273 and BNT162b2 induce specific dysfunctions that correlate pathophysiologically to cardiomyopathy. Both RyR2 impairment and sustained PKA activation may significantly increase the risk of acute cardiac events.

„Schlussfolgerung und Implikationen: Hier haben wir zum ersten Mal gezeigt, dass sowohl mRNA-1273 als auch BNT162b2 in isolierten Kardiomyozyten spezifische Fehlfunktionen auslösen die pathophysiologisch mit der Kardiomyopathie korrelieren. Sowohl die Beeinträchtigung von RyR2 als auch anhaltende PKA-Aktivierung können das Risiko akuter kardialer Ereignisse deutlich erhöhen.“

Epub 2001 Oct 4.

CpG motifs in bacterial DNA and their immune effects

Arthur M Krieg¹

Affiliations + expand

PMID: 11861616 DOI: 10.1146/annurev.immunol.20.100301.064842

„Unmethylierte CpG-Motive sind in der genomischen DNA von Bakterien, nicht aber von Wirbeltieren, weit verbreitet. Oligodeoxynukleotide (ODN), die CpG-Motive enthalten, aktivieren Abwehrmechanismen des Wirts, die zu angeborenen und erworbenen Immunreaktionen führen.“

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11861616/>

Abstract

Unmethylated CpG motifs are prevalent in bacterial but not vertebrate genomic DNAs. Oligodeoxynucleotides (ODN) containing CpG motifs activate host defense mechanisms leading to innate and acquired immune responses. The recognition of CpG motifs requires Toll-like receptor (TLR) 9, which triggers alterations in cellular redox balance and the induction of cell signaling pathways including the mitogen activated protein kinases (MAPKs) and NF kappa B. Cells that express TLR-9, which include plasmacytoid dendritic cells (PDCs) and B cells, produce Th1-like proinflammatory cytokines, interferons, and chemokines. Certain CpG motifs (CpG-A) are especially potent at activating NK cells and inducing IFN-alpha production by PDCs, while other motifs (CpG-B) are especially potent B cell activators. CpG-induced activation of innate immunity protects against lethal challenge with a wide variety of pathogens, and has therapeutic activity in murine models of cancer and allergy. CpG ODN also enhance the development of acquired immune responses for prophylactic and therapeutic vaccination.

PubMed Disclaimer

Beyond danger: unmethylated CpG dinucleotides and the immunopathogenesis of disease

B Goldberg ¹, H B Urnovitz, R B Stricker

Affiliations + expand

PMID: 10963805 DOI: 10.1016/s0165-2478(00)00191-7

Abstract

Oligonucleotide sequences containing unmethylated cytidine phosphate guanosine (CpG) motifs are known to have significant immunostimulatory properties. Because of these immunostimulatory effects, unmethylated CpG oligonucleotides are thought to act as 'danger signals' that produce a favorable immune response by alerting the host to the presence of invading organisms or abnormal cells. In contrast to this concept, we review the evidence that unmethylated CpG sequences derived either from microbial agents or from endogenous CpG-rich Alu motifs promote disease progression by inducing an aberrant or autoreactive immune response. Recognition of the negative effect of unmethylated CpG dinucleotides should lead to more effective immune strategies to combat infectious, inflammatory, autoimmune and malignant diseases.

PubMed Disclaimer

„überprüfen wir die Belege dafür, dass unmethylierte CpG-Sequenzen, die entweder von mikrobiellen Erregern oder von endogenen CpG-reichen Alu-Motiven stammen, das Fortschreiten von Krankheiten fördern, indem sie eine abweichende oder autoreaktive Immunantwort auslösen.“
(<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10963805/>)

› Nat Med. 2004 Feb;10(2):187-92. doi: 10.1038/nm987. Epub 2004 Jan 25.

Lymphoid follicle destruction and immunosuppression after repeated CpG oligodeoxynucleotide administration

Mathias Heikenwalder¹, Magdalini Polymenidou, Tobias Junt, Christina Sigurdson, Hermann Wagner, Shizuo Akira, Rolf Zinkernagel, Adriano Aguzzi

Affiliations + expand

PMID: 14745443 DOI: 10.1038/nm987

6. Conclusions

In contrast to the idea that unmethylated CpG dinucleotides and Alu sequences are benign ‘danger signals’ or helpful immunostimulatory adjuvants, we have reviewed the evidence that these compounds may be responsible for immune dysregulation in a variety of infectious, inflammatory, autoimmune and malignant diseases. Recognition of these sequences as both pathologic factors and therapeutic targets will reorient our thinking about the evolution of many disease states. Strategies based on modulation of unmethylated CpG

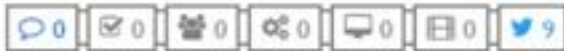
„haben wir die Beweise dafür geprüft, dass diese Verbindungen möglicherweise für die Dysregulation des Immunsystems bei einer Vielzahl von infektiösen, entzündlichen, autoimmunen und bösartigen Krankheiten verantwortlich sind.“ <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14745443/>

Gestational exposure to unmethylated CpG oligonucleotides dysregulates placental molecular clock network and fetoplacental growth dynamics, and disrupts maternal blood pressure circadian rhythms in rats

Jessica L. Bradshaw, Spencer C. Cushen, Contessa A. Ricci, Selina M. Tucker, Jennifer J. Gardner, Joel T. Little, Oluwatobiloba Osikoya, Styliani Gouloupoulou

doi: <https://doi.org/10.1101/2023.03.14.532649>

This article is a preprint and has not been certified by peer review [what does this mean?].



Abstract

Full Text

Info/History

Metrics

Preview PDF

Abstract

Bacterial infections and impaired mitochondrial DNA dynamics are associated with adverse pregnancy outcomes. Unmethylated cytosine-guanine dinucleotide (CpG) motifs are common in bacterial and mitochondrial DNA and act as potent immunostimulators. Here, we tested the hypothesis that exposure to CpG oligonucleotides (ODN) during pregnancy would disrupt blood pressure circadian rhythms and the placental molecular clock machinery, mediating aberrant fetoplacental growth dynamics. Rats were repeatedly treated with CpG ODN in the 3rd trimester (gestational day, GD, 14, 16, 18) and euthanized on GD20 (near term) or with a single dose of CpG ODN and euthanized 4 hours after treatment on GD14. Hemodynamic circadian rhythms were analyzed via Lomb-Scargle periodogram

„Hier haben wir die Hypothese getestet, dass eine Exposition gegenüber CpG-Oligonukleotiden (ODN) während der Schwangerschaft die zirkadianen Rhythmen des Blutdrucks und die molekulare Uhr der Plazenta stören und dadurch eine abweichende fetoplazentare Wachstumsdynamik vermitteln würde.“ <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2023.03.14.532649v1.full>

cGAS–STING cytosolic DNA sensing pathway

🌐 1 language ▾

Article [Talk](#)

[Read](#) [Edit](#) [View history](#) [Tools](#) ▾

From Wikipedia, the free encyclopedia

The **cGAS–STING pathway** is a component of the [innate immune system](#) that functions to detect the presence of [cytosolic DNA](#) and, in response, trigger expression of inflammatory genes that can lead to [senescence](#)^[1] or to the activation of defense mechanisms. DNA is normally found in the [nucleus](#) of the cell. Localization of DNA to the [cytosol](#) is associated with [tumorigenesis](#), [viral](#) infection, and invasion by some intracellular bacteria.^[2] The cGAS – STING pathway acts to detect cytosolic DNA and induce an immune response.

Upon binding DNA, the protein [cyclic GMP-AMP Synthase \(cGAS\)](#) triggers reaction of GTP and ATP to form cyclic GMP-AMP (cGAMP). cGAMP binds to [Stimulator of Interferon Genes \(STING\)](#) which triggers [phosphorylation](#) of [IRF3](#) via [TBK1](#). IRF3 can then go to the nucleus to trigger [transcription](#) of inflammatory genes. This pathway plays a critical role in mediating immune defense against double-stranded DNA [viruses](#).

The innate immune system relies on [germline](#) encoded [pattern recognition receptors \(PRRs\)](#) to recognize distinct [pathogen-associated molecular patterns](#) (PAMPs). Upon recognition of a PAMP, PRRs generate signal cascades leading to transcription of genes associated with the immune response. Because all pathogens utilize [nucleic acid](#) to propagate, DNA and [RNA](#) can be recognized by PRRs to trigger immune activation. In normal cells, DNA is confined to the [nucleus](#) or [mitochondria](#). The presence of DNA in the cytosol is indicative of cellular damage or infection and leads to activation of genes associated with the immune response. One way cytosolic DNA is sensed is via the cGAS/STING pathway, specifically by the cyclic-GMP-AMP synthase (cGAS). Upon DNA recognition, cGAS dimerizes and stimulates the formation of cyclic-GMP-AMP (cGAMP). cGAMP then binds directly to stimulator of interferon genes (STING) which triggers phosphorylation/activation of the transcription factor IRF3 via TBK1. IRF3 is able to enter the nucleus to promote transcription of inflammatory genes, such as [IFN-β](#).

https://en.wikipedia.org/wiki/CGAS%E2%80%93STING_cytosolic_DNA_sensing_pathway

REVIEW article

Front. Immunol., 17 October 2023

Sec. Molecular Innate Immunity

Volume 14 - 2023 |

<https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1275408>

This article is part of the Research Topic

Cell Death in Innate Immunity and Inflammatory Diseases

[View all Articles >](#)

Novel insight into cGAS-STING pathway in ischemic stroke: from pre- to post-disease

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2023.1275408/full>Xiaoqi Ma¹Dan Xin²Ruining She¹Danhong Liu¹Jinwen Ge^{3*}Zhigang Mei^{1*}

¹ Key Laboratory of Hunan Province for Integrated Traditional Chinese and Western Medicine on Prevention and Treatment of Cardio-Cerebral Diseases, College of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan, China

² Institute of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan, China

³ Hunan Academy of Chinese Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, China

Ischemic stroke, a primary cause of disability and the second leading cause of mortality, has emerged as an urgent public health issue. Growing

1. „Der cGAS-STING-Signalweg ist ein Entzündungsmediator als Reaktion auf dsDNA.“
2. „Der cGAS-STING-Weg ist mit dem Beginn der neuroinflammatorischen Reaktion beim ischämischen Schlaganfall verbunden.“
3. „Der cGAS-STING-Signalweg ist an verschiedenen Formen von reguliertem Zelltod beteiligt.“

D DRBINE'S NEWSLETTER

18. OKT.

Der heiße Scheiß Teil 3 – Kann dsDNA alleine bereits Schlaganfälle auslösen?

Novel insight into cGAS-STING pathway in ischemic stroke:
from pre- to post-disease

DRBINES VERBALES VITRIOL · 6 MIN READ

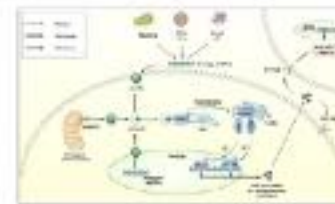


Figure 1. The cGAS-STING pathway. dsDNA enters the cell and is recognized by cGAS, which then activates STING. This leads to the activation of IRG1 and the production of iNOS, which then produces NO. The diagram also shows the involvement of TBK1 and IKKε in the signaling pathway, leading to the activation of NF-κB and IRF3/IRF7, which then produce type I interferons (IFNα/β).

<https://drbine.substack.com/p/der-heie-schei-teil-3-kann-dsdna>



The U.S. government does not review or approve the safety and science of all studies listed on this website.

Read our full [disclaimer](#) for details.



RECRUITING ⓘ

Exploration of the Activity of DNA Located Outside of Cellular Nucleus to Amplify Inflammation in Inflammatory Bowel Disease in Children Through Biological Pathway Cyclic GMP-AMP Synthase (cGAS) - Stimulator of Interferon Genes (STING) (ROXANE)

ClinicalTrials.gov ID ⓘ NCT05916274

Sponsor ⓘ Centre Hospitalier Régional d'Orléans

Information provided by ⓘ Centre Hospitalier Régional d'Orléans (Responsible Party)

Last Update Posted ⓘ 2023-06-23

<https://clinicaltrials.gov/study/NCT05916274?term=Exogenous%20DNA&rank=3>

Detailed Description

Inflammatory Bowel Diseases in children (IBD)-Crohn's disease (CD), ulcerative colitis (UC) are severe pathology that can affect the entire digestive tract. Their annual incidence is however constantly increasing.

IBD are complex multifactorial pathologies whose cause is still unknown today. IBD occurs on a predisposing genetic background in the presence of exogenous factors and alteration of the intestinal microbiota. Intestinal lesions are due to dysregulation of the intestinal immune system with increased secretion of pro-inflammatory cytokines at the expense of anti-inflammatory cytokines....

[+ Show more](#)

Official Title

Pro-inflammatory Role of Extracellular DNA in Inflammatory Bowel Disease in Children: Study of the cGAS-STING Pathway

Conditions

<https://clinicaltrials.gov/study/NCT05916274?term=Exogenous%20DNA&rank=3>

FDA presented a first draft of the later published guidelines on 'polynucleotide vaccines'. European regulatory scientists pointed out that DNA vaccines would fall under the definition of medicinal products for gene therapy for which a European Note for Guidance had already been drafted [19]. During the meeting it became obvious that DNA vaccines could potentially be produced at relatively

„Wissenschaftler der europäischen Regulierungsbehörden wiesen darauf hin, dass DNA-Impfstoffe unter die Definition von Arzneimitteln für die Gentherapie fallen würden, für die bereits eine europäische Leitlinie ausgearbeitet wurde.“

seemed to be and still is especially important when DNA vaccines are considered for human use as vaccines are often used in millions of humans including young children for prophylactic purposes only. This normally affords a very considerable benefit-risk ratio. In view of the greatest, but still theoretical risk of DNA vaccines discussed during the WHO and other following conferences on DNA vaccine development and standardization, namely the induction of malignant tumors as a consequence of chromosomal integration and insertional mutagenesis by the DNA delivered in vivo, it will be a major challenge to convince the public that DNA vaccines can still be used without any greater risk than other conventional vaccines.

Taking the Guidelines Assuring the Quality of DNA Vaccines published by the WHO [20] into account, there are three major topics to be considered during development and safety testing, i.e. chromosomal integration of the foreign DNA, induction of tolerance and induction of autoimmune disease. Klinman et al. [21] addressed the latter two topics by experiments using a *Plasmodium fal-*

*„da Impfstoffe bei Millionen von Menschen, einschließlich Kleinkindern, häufig nur zu prophylaktischen Zwecken eingesetzt werden. Dies führt normalerweise zu einem sehr **beträchtlichen Nutzen-Risiko-Verhältnis**. Angesichts des größten, aber immer noch theoretischen Risikos von DNA-Impfstoffen, das auf der WHO-Konferenz und anderen Folgekonferenzen zur Entwicklung und Standardisierung von DNA-Impfstoffen diskutiert wurde, nämlich der **Induktion bösartiger Tumore infolge chromosomaler Integration und Insertionsmutagenese durch die in vivo verabreichte DNA**, wird es eine große Herausforderung sein, die Öffentlichkeit davon zu überzeugen, dass DNA-Impfstoffe ohne größere Risiken als andere konventionelle Impfstoffe verwendet werden können. [...] sind bei der Entwicklung und Sicherheitsprüfung **drei Hauptthemen zu berücksichtigen**, nämlich die **chromosomale Integration der Fremd-DNA**, die **Induktion von Toleranz** und die **Induktion von Autoimmunerkrankungen**.“*

> Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2023 Dec;27(6 Suppl):13-19. doi: 10.26355/eurrev_202312_34685.

Presence of viral spike protein and vaccinal spike protein in the blood serum of patients with long-COVID syndrome

K Dhuli ¹, M C Medori, C Micheletti, K Donato, F Fioretti, A Calzoni, A Praderio, M G De Angelis, G Arabia, S Cristoni, S Nodari, M Bertelli

Affiliations + expand

PMID: 38112944 DOI: 10.26355/eurrev_202312_34685

Free article

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38112944/>

chromosomale Integration der Fremd-DNA

Supplementary Methods:

Sample Collection:

Blood samples were collected from a cohort of 81 patients experiencing long-COVID symptoms. The samples were obtained following informed consent and ethical guidelines. Genomic DNA was extracted from the blood samples using a commercially available DNA extraction kit according to the manufacturer's instructions (Blood DNA kit E.N.Z.A., Omega Bio-tek, Inc., Doraville, GA, USA or Exgene Clinic SV mini, GeneAll Biotechnology, Seoul, South Korea).

PCR Analysis:

PCR (Polymerase Chain Reaction) was performed using specific primers designed to target the spike protein sequence derived from the BNT162b2 vaccine (BioNTech/Pfizer mRNA Vaccine) (1). The forward primer (CGAGGTGGCCAAGAATCTGA) and reverse primer (TCTGGAAGTAGCAGAGGTGG) were used. PCR amplification was carried out in a thermal cycler under the following conditions: initial denaturation at 95°C for 5 minutes, followed by 35 cycles of denaturation at 95°C for 30 seconds, annealing at 58°C for 30 seconds, extension at 72°C for 1 minute, and final extension at 72°C for 5 minutes. The PCR products were visualized by agarose gel electrophoresis.

Figure S1. Example of PCR products on 1.4% agarose gel.



Figure S2. First Nested PCR products on 1.4% agarose gel.

<https://www.igor-chudov.com/p/covid-vaccines-integrate-into-human>

the future to address this question also in the draining lymph nodes or other organs of the immune system. However, after transfection of mammalian cells in vitro, all cells eventually integrate the foreign DNA even in the absence of selection for transfected marker genes. Therefore, chromosomal integration of plasmid DNA probably occurs in vivo and will be detected with more sensitive techniques. However, not every single process of integration will lead to insertional mutagenesis, meaning activation of an oncogene or functional deletion of a tumor suppressor gene. In addition, the induction of malignant tumors requires a series of genetic events which have to occur in addition to insertional mutagenesis. Taking these facts into account, estimates of the risk of cancer induction in healthy vaccinees have been made. It was hypothesized that there was a risk of 1 possible negative event in 10^6 vaccinees as a result of DNA vaccination [23], provided that the assumptions made were realistic. Thus, the risk of tumor induction by DNA inoculation has to be taken into consideration, but, at this point, seems to have a probability which allows for clinical trials in humans.

With a view to plasmid DNA construction, the expression genes should be carefully designed. Sequences possi-

„Nach der Transfektion von Säugetierzellen in vitro integrieren alle Zellen schließlich die fremde DNA, auch wenn keine Selektion auf transfizierte Markergene stattfindet. Daher findet die chromosomale Integration von Plasmid-DNA wahrscheinlich in vivo statt und kann mit empfindlicheren Techniken nachgewiesen werden. Allerdings führt nicht jeder einzelne Integrationsprozess zu einer Insertionsmutagenese, d. h. zur Aktivierung eines Onkogens oder zur funktionellen Deletion eines Tumorsuppressorgens. Darüber hinaus erfordert die Induktion von malignen Tumoren eine Reihe von genetischen Ereignissen, die zusätzlich zur Insertionsmutagenese stattfinden müssen.

[...] Es wurde angenommen, dass das Risiko eines möglichen negativen Ereignisses bei 10^6 Geimpften als Folge der DNA-Impfung besteht, vorausgesetzt, die getroffenen Annahmen sind realistisch. Das Risiko einer Tumorinduktion durch die DNA-Impfung muss also in Betracht gezogen werden, scheint aber zum jetzigen Zeitpunkt so unwahrscheinlich zu sein, dass klinische Versuche am Menschen möglich sind.“

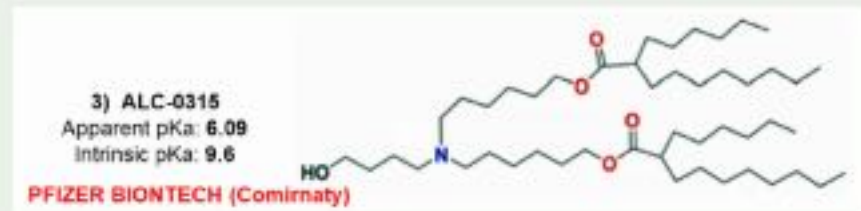
tween IM and IV performance could be that the optimal physical or chemical properties differ between the two routes. One strong determinant of immunogenicity was the lipid pKa, with a range of 6.6–6.9 being optimal for IM immunogenicity (Figure 2C). This differs from the optimal pKa range for IV delivery of siRNAs and mRNAs, which has been reported as 6.2–6.6.^{11,23} mRNA encapsulation efficiencies and LNP sizes ranged from 69% to 100% and from 50 to 142 nm, respectively. While there was no relationship between

[...] *Es wurde angenommen, dass das Risiko eines möglichen negativen Ereignisses bei 10⁶ Geimpften als Folge der DNA-Impfung besteht, vorausgesetzt, die getroffenen Annahmen sind realistisch.*

Er ignoriert an dieser Stelle die Multi-Hit Hypothese:
Bestehende Vorschäden durch

- Umweltgifte (Glyphosat...)
- Mit SV40 verseuchte Polio Impfung
- ALC-0315 ist ein chemisches Mutagen
- ALC-0315 ist eine mittelstarke Säure

Welchen pKa hat ALC-0315 noch mal?



Welche Zahl größer ist als eine andere, lernt man in der Grundschule. Das Maul des Krokodils weist immer zur größeren Zahl:

6,09 < 6,6-6,9

Und sogar:

6,09 < 6,2-6,6

ALC-0315 ist somit WEIDER für IM (intramuskulär) nach IV (Infusion) geeignet.

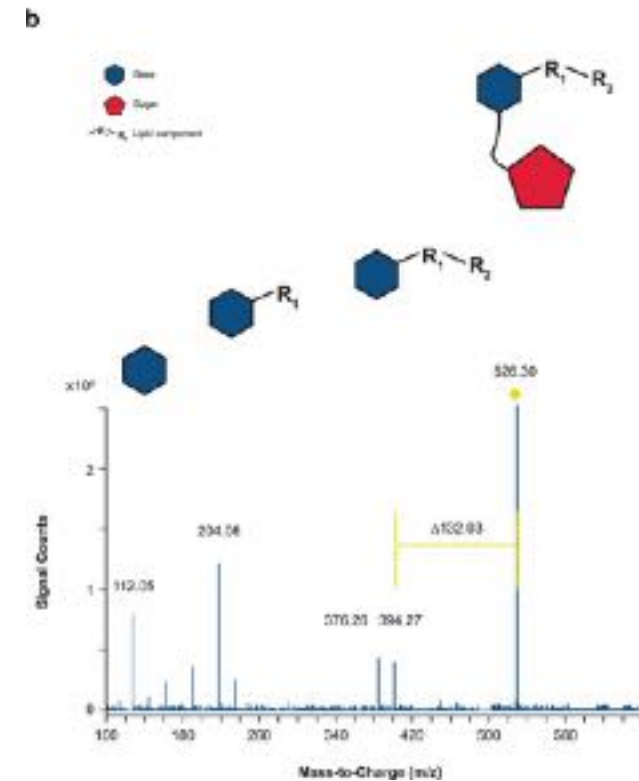
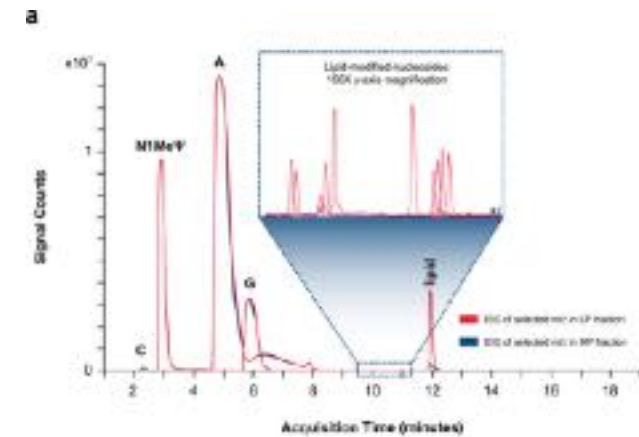
A novel mechanism for the loss of mRNA activity in lipid nanoparticle delivery systems

Meredith Packer, Dipendra Gyswani, Ravikiran Yerabolu, Joseph Schariter, and Phil White[✉]

► Author information ► Article notes ► Copyright and License information ► [PMC Disclaimer](#)

modified cytosine, which further undergoes fragmentation to m/z 376.26 (loss of water) and 204.08 (at the internal ester), confirming the identity of the lipid chain. This cytidine modification is provided as a representative example, but similar characteristic neutral mass losses of 132.03 were observed for lipid modifications across all 4 nucleobases. Representative data from 4 repeat experiments are shown.

[...] ähnliche charakteristische neutrale Massenverluste von 132,03 wurden für Lipidmodifikationen über alle 4 Nucleobasen hinweg beobachtet."



Review > Vaccines (Basel). 2023 May 17;11(5):991. doi: 10.3390/vaccines11050991.

IgG4 Antibodies Induced by Repeated Vaccination May Generate Immune Tolerance to the SARS-CoV-2 Spike Protein

Vladimir N Uversky¹, Hrushdy M Redwan^{2,3}, William Makis⁴, Alberto Rubio Casillas^{5,6}

Affiliations + expand

PMID: 37243095 PMCID: PMC10222767 DOI: 10.3390/vaccines11050991

Free PMC article

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37243095/>

> Sci Immunol. 2023 Jan 27;8(79):eade2798. doi: 10.1126/sciimmunol.ade2798. Epub 2023 Jan 27.

Class switch toward noninflammatory, spike-specific IgG4 antibodies after repeated SARS-CoV-2 mRNA vaccination

Pascal Irngang¹, Juliane Gerling², Katharina Kocher¹, Dennis Lapuente¹, Philipp Steininger¹, Katharina Habericht¹, Monika Wytopil¹, Stephanie Reilcke¹, Simon Schäfer², Jahn Zhong², George Szebyatka⁴, Thomas Krey⁴, Valeria Falcone⁵, Christina Schölein⁵, Antonia Sophia Peter¹, Krystelle Njanou-Makamdop^{1,6}, Herlmut Hengel⁵, Jürgen Held³, Christian Bugdan^{3,6}, Klaus Oberla^{1,6}, Kilian Schuber^{3,6}, Thomas H Winkler^{2,6}, Matthias Tenbusch^{1,6}

Affiliations + expand

PMID: 36548397 PMCID: PMC9847566 DOI: 10.1126/sciimmunol.ade2798

Free PMC article

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36548397/>

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2023.1309997/full>

ORIGINAL RESEARCH article

Front. Immunol., 20 December 2023

Sec. Vaccines and Molecular Therapeutics

Volume 14 - 2023 |

<https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1309997>

This article is part of the Research Topic

Vaccination and Immunosenescence

[View all Articles >](#)

Appearance of tolerance-induction and non-inflammatory SARS-CoV-2 spike-specific IgG4 antibodies after COVID-19 booster vaccinations

Induktion von Toleranz

new vaccine. Anti-DNA antibodies have been found to be increased by 20–30% in single cases in humans and, at that level, are not assumed to induce any pathology. In contrast, 100- to 1,000-fold increases are detected in patients with systemic lupus erythromatosus, an autoimmune disease correlated with increased anti-DNA antibodies. The plasmids currently used in DNA vaccines

„Anti-DNA-Antikörper sind beim Menschen in Einzelfällen um 20-30 % erhöht, und es wird davon ausgegangen, dass sie auf dieser Ebene keine Pathologie auslösen. Bei Patienten mit systemischem Lupus erythromatosus, einer Autoimmunerkrankung, die mit erhöhten Anti-DNA-Antikörpern korreliert, werden dagegen 100- bis 1.000-fache Erhöhungen festgestellt.“

Induktion von Autoimmunerkrankungen

> Eur J Rheumatol. 2022 Oct;9(4):229-230. doi: 10.5152/eurjrheum.2022.21120.

Systemic Lupus Erythematosus Following COVID-19 Vaccination

Anna Farazilah Mohd Salleh ¹, Cheng Lay Teh ¹, Sharifah Aishah Wan Mohamad Akbar ¹,
Yaw Kiet Cheong ¹, Benjamin Sachdev Manjit Singh ¹, Kar Hoo Lee ¹, Wendy Wan Hui Lee ¹,
Sivaraj Xavier ¹, Mohammad Amirul Shahril Ahmad ¹

Affiliations + expand

PMID: 36476668 PMCID: PMC10089130 DOI: 10.5152/eurjrheum.2022.21120

Free PMC article

No abstract available

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36476668/>

PubMed Disclaimer

Case Reports > Mod Rheumatol Case Rep. 2023 Jun;19(7):378-382. doi: 10.1093/mrcr/rxad008.

Two cases of systemic lupus erythematosus after administration of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 vaccine

Mayu Sakai ¹, Ken Takao ¹, Masami Mizuno ¹, Hironori Ando ¹, Yui Kawashima ¹, Takehiro Kato ¹,
Saki Kubota ^{1 2}, Tokuyuki Hirose ¹, Takuo Hirota ¹, Yukio Horikawa ¹, Daisuke Yabe ^{1 2 3 4}

Affiliations + expand

PMID: 36715089 DOI: 10.1093/mrcr/rxad008

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36715089/>

Review > Clin Exp Dermatol. 2022 Jan;47(1):161-163. doi: 10.1111/ced.14858. Epub 2021 Sep 13.

Induction and exacerbation of subacute cutaneous lupus erythematosus following mRNA-based or adenoviral vector-based SARS-CoV-2 vaccination

A Kreuter¹, M J Licciardi-Fernandez¹, S-N Burmann¹, B Burkert¹, F Oellig², A-L Michalowitz¹

Affiliations + expand

PMID: 34291477 PMCID: PMC8444843 DOI: 10.1111/ced.14858

Free PMC article

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34291477/>

Review > Immunology. 2022 Apr;165(4):386-401. doi: 10.1111/imm.13443. Epub 2022 Jan 7.

New-onset autoimmune phenomena post-COVID-19 vaccination

Yue Chen^{1,2}, Zhiwei Xu³, Peng Wang⁴, Xiao-Mei Li⁵, Zong-Wen Shuai⁶, Dong-Qing Ye^{1,2},
Hai Feng Pan^{1,2}

Affiliations + expand

PMID: 34957554 DOI: 10.1111/imm.13443

Free article

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34957554/>

Antisense-Oligonukleotid

Antisense-Oligonukleotide sind kurzkettige, synthetische, einzelsträngige **Nukleinsäuren**. Der Name von **Antisense-RNA** nimmt darauf Bezug, dass ihre Basensequenz entgegengesetzt (und damit „entgegen dem ursprünglichen Sinn“ = *anti-sense*) zu einer funktionalen **mRNA** ist. Während dem Wirkmechanismus zahlreicher **Arzneistoffe** die Hemmung der Funktion von **Proteinen** zugrunde liegt, verhindern Antisense-Oligonukleotide bereits die Biosynthese von Proteinen. Sie binden über Watson-Crick-Basenpaarung an eine komplementäre mRNA (die *Sense-mRNA*). Durch die spezifische Bindung des Antisense-Oligonukleotids an die mRNA für das Ziel-Protein wird durch Blockieren der **Translation** und **RNA-Interferenz** letztlich die Bildung des betreffenden Proteins verhindert.

Literatur [Bearbeiten | Quelltext bearbeiten]

- Jeremy M. Berg, John L. Tymoczko, **Lubert Stryer**: *Biochemie*. 6. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 2007. ISBN 978-3-8274-1800-5.
- Donald Voet, Judith G. Voet: *Biochemistry*. 3. Auflage, John Wiley & Sons, New York 2004. ISBN 0-471-19350-X.
- **Bruce Alberts**, Alexander Johnson, Peter Walter, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts: *Molecular Biology of the Cell*, 5. Auflage, Taylor & Francis 2007, ISBN 978-0815341062.

<https://de.wikipedia.org/wiki/Antisense-Oligonukleotid>

Wie Antisense-Oligonukleotide wirken – Beispiel Nusinersen

Antisense-Oligonukleotide (ASO) sind kurze, einzelsträngige DNA- oder RNA-Schnur, also Ketten aus wenigen wenigen Nucleotiden. Die künstlich hergestellten Moleküle heften sich passgenau an bestimmte Basen (Nucleotid) in der Zelle und beeinflussen, wie der Zellapparat diese in Proteine umschreibt. Nach jahrzehntelanger Forschung ist es gelungen, mit einem ASO-Wirkstoff namens Nusinersen die spinale Muskelatrophie erfolgreich zu behandeln, eine oft tödlich verlaufende neurodegenerative Krankheit. Nusinersen verhindert den Zellapparat dazu, ein nahezu inaktives Gen auf alternative Weise auszulesen, so dass am Ende ein lebenswichtiges Protein entsteht.

Endogene Nusinersen

Muskelatrophie tritt in der Regel zum Zeitpunkt eines Gens, das den Zellapparat das Protein SMN2 anleitet. Die erste Lektionsreihe besteht (SMN2) liegt fast ausschließlich SMN2-Prozessoren, die jeweils mehrere SMN2-fertigen stabile Oligonukleotide.



Das SMN2, das sich dem 1. Intron des Gens (SMN2) anheftet, verhindert alle Alternativen der Exon 7-Entfernung. Infolgedessen wird die vollständige SMN2-Transkription in SMN2-Prozessoren.



Endogene Nusinersen ist ein SMN2-ASO, das die Exon 7-Schnur entfernt. Infolgedessen wird die vollständige SMN2-Transkription in SMN2-Prozessoren.



Endogene Nusinersen ist ein SMN2-ASO, das die Exon 7-Schnur entfernt. Infolgedessen wird die vollständige SMN2-Transkription in SMN2-Prozessoren.

Exogene Nusinersen

Exogene Nusinersen ist ein SMN2-ASO, das die Exon 7-Schnur entfernt. Infolgedessen wird die vollständige SMN2-Transkription in SMN2-Prozessoren.



Exogene Nusinersen ist ein SMN2-ASO, das die Exon 7-Schnur entfernt. Infolgedessen wird die vollständige SMN2-Transkription in SMN2-Prozessoren.



Exogene Nusinersen ist ein SMN2-ASO, das die Exon 7-Schnur entfernt. Infolgedessen wird die vollständige SMN2-Transkription in SMN2-Prozessoren.



Exogene Nusinersen ist ein SMN2-ASO, das die Exon 7-Schnur entfernt. Infolgedessen wird die vollständige SMN2-Transkription in SMN2-Prozessoren.

© 2013 Hoffmann-La Roche, Basel, Schweiz. Alle Rechte vorbehalten.

Spektrum der Wissenschaft | Spektrum Spezial BMH -
Gentherapie. 1. Auflage | 2023 | beck-shop.de.
<https://www.beck-shop.de/spektrum-der-wissenschaft-spektrum-spezial-bmh-gentherapie/product/36096561>.

Das Paul-Ehrlich-Institut weist explizit darauf hin, dass bei der Herstellung von COVID-19-mRNA-Impfstoffen keine DNA aus Zellen tierischen Ursprungs eingesetzt werden. Es handelt sich ausschließlich um Plasmid-DNA bakteriellen Ursprungs.

Das ist korrekt.

Vor diesem Hintergrund finden die WHO-Guideline „Recommendations for the evaluation of animal cell cultures as substrates for the manufacture of biological medicinal products and for the characterization of cell banks“ und die Guideline der US-amerikanischen FDA “Characterization and Qualification of Cell Substrates and Other Biological Materials Used in the Production of Viral Vaccines for Infectious Disease Indications“ keine Anwendung bei der Herstellung der mRNA-Impfstoffe. Denn beide Guidelines beziehen sich explizit auf Zellen tierischen Ursprungs, nicht auf bakterielle Zellsubstrate. Bakterielle Zellen sind von den Guidelines ausdrücklich ausgenommen. Quellen fehlen.

https://www.pei.de/SharedDocs/Downloads/DE/service/qualitaetskriterien.pdf?__blob=publicationFile&v=2

Welche Ansprüche haben wir an unsere Inhalte?

Das Paul-Ehrlich-Institut veröffentlicht Informationen im Bereich des Gesundheitswesens und der Forschung, die dem aktuellen Kenntnisstand entsprechen. Expertinnen und Experten des Instituts erstellen und prüfen alle Inhalte nach dem Vieraugenprinzip, bevor diese publiziert werden. Jeder Text wird von mindestens einem Mitglied des Führungsteams überprüft. Die Quellen der Informationen werden benannt (Wissenschaftliche Publikationen, Rechtsgrundlagen).

Unabhängig davon gilt das regulatorische Prinzip, dass **so wenige Verunreinigungen wie möglich** in einem Impfstoff vorliegen und selbst theoretische Risiken soweit wie möglich reduziert werden sollten. Daher wurden für die zugelassenen COVID-19-mRNA-Impfstoffe sehr konservative Grenzwerte für Rest-DNA angesetzt, die nicht überschritten werden dürfen.

Reine Behauptung.

Keine Quelle.

Keine Nennung der Grenzwerte.

Keine (experimentelle) Begründung, dieser nicht benannten und nicht referenzierten Grenzwerte.

„so wenige Verunreinigungen wie möglich“

Da das Problem laut EMA Dokumenten wohl nicht zu beheben war, war es wohl nicht möglich und somit OK?

[https://www.pei.de/SharedDocs/Downloads/DE/service/qualitaetskriterien.pdf? blob=publicationFile&v=2](https://www.pei.de/SharedDocs/Downloads/DE/service/qualitaetskriterien.pdf?blob=publicationFile&v=2)

Welche Ansprüche haben wir an unsere Inhalte?

Das Paul-Ehrlich-Institut veröffentlicht Informationen im Bereich des Gesundheitswesens und der Forschung, die dem aktuellen Kenntnisstand entsprechen. Expertinnen und Experten des Instituts erstellen und prüfen alle Inhalte nach dem Vieraugenprinzip, bevor diese publiziert werden. Jeder Text wird von mindestens einem Mitglied des Führungsteams überprüft. **Die Quellen der Informationen werden benannt (Wissenschaftliche Publikationen, Rechtsgrundlagen).**

Die Testung auf Rest-DNA ist nicht Teil der offiziellen experimentellen OMCL-Testung (Official Medicines Control Laboratory) zur Chargenfreigabe.

[...] Sie obliegt dem OCABR-Netzwerk (Official Control Authority Batch Release) und basiert auf einem wissenschaftlichen Konsens der amtlichen Expertinnen und Experten, die im Rahmen eines offiziellen Verfahrens die im Labor zu überprüfenden produktspezifischen kritischen Testverfahren, Testparameter und die diesbezüglichen Freigabekriterien identifizieren und festlegen, die relevant für die Wirksamkeit und Sicherheit eines zugelassenen Impfstoffprodukts sind.

[...] Die Entscheidung ist evidenzbasiert und wissenschaftlich begründet, da sie auf Daten und Erkenntnissen basiert, die im Rahmen des Entwicklungsprozesses erhoben und im Zulassungsprozess geprüft wurden.

[...] Neben der experimentellen Prüfung der festgelegten Wirksamkeits- und Sicherheitsparameter durch die amtlichen Prüflabore (OMCL) gehört die Prüfung der Herstellungsdokumentation (Lot Release Protocol, LRP) zum Prüfungsumfang der amtlichen Chargenfreigabe.

[...] Das OMCL prüft die Ergebnisse der vom Hersteller durchgeführten experimentellen Chargenuntersuchungen im Hinblick darauf, ob alle in der Zulassung festgelegten kritischen Parameter und deren Grenzwerte (Spezifikationen) eingehalten wurden.

	gebracht werden		
B	Aufgaben im Zusammenhang mit der staatlichen Chargenprüfung von Humanarzneimitteln		
B.1	<p>Prüfung und Entscheidung über die Freigabe von</p> <ul style="list-style-type: none"> - Sera, - Impfstoffen, - Allergenen und - Blutzubereitungen, die aus Mischungen von humanem Blutplasma hergestellt werden und Blutbestandteile als arzneilich wirksame Bestandteile enthalten <p>unabhängig davon, ob sie national oder zentralisiert zugelassen sind</p>	<p>§ 32 AMG</p> <p>Verordnung über die Einführung der staatlichen Chargenprüfung bei Blutzubereitungen v. 15. Juli 1994 (BGBl. I S. 1614), geändert durch Verordnung vom 26.6.95 (BGBl. I S. 854) i.V.m. § 32 AMG</p>	<p>Im Falle einer bereits erfolgten Freigabe der betreffenden Charge durch einen anderen EU-/EWR-Mitgliedstaat erfolgt die Freigabe durch das PEI unter Anerkennung der entsprechenden Prüfungen.</p>
B.2	Entscheidung über die Freistellung der in Zeile B.1 genannten Arzneimittel von der staatlichen Chargenprüfung	§ 32 Abs. 4 AMG	

https://www.pei.de/SharedDocs/Downloads/DE/institut/aufstellung-pei-amtsaufgaben.pdf?__blob=publicationFile&v=2

Gesetz über den Verkehr mit Arzneimitteln (Arzneimittelgesetz - AMG)

§ 32 Staatliche Chargenprüfung

(1) Die Charge eines Serums, eines Impfstoffes oder eines Allergens darf unbeschadet der Zulassung nur in den Verkehr gebracht werden, wenn sie von der zuständigen Bundesoberbehörde freigegeben ist. Die Charge ist freizugeben, wenn eine Prüfung (staatliche Chargenprüfung) ergeben hat, dass die Charge nach Herstellungs- und Kontrollmethoden, die dem jeweiligen Stand der wissenschaftlichen Erkenntnisse entsprechen, hergestellt und geprüft worden ist und dass sie die erforderliche Qualität, Wirksamkeit und Unbedenklichkeit aufweist. Die Charge ist auch dann freizugeben, soweit die zuständige Behörde eines anderen Mitgliedstaates der Europäischen Union nach einer experimentellen Untersuchung festgestellt hat, dass die in Satz 2 genannten Voraussetzungen vorliegen.

(1a) Die zuständige Bundesoberbehörde hat eine Entscheidung nach Absatz 1 innerhalb einer Frist von zwei Monaten nach Eingang der zu prüfenden Chargenprobe zu treffen. § 27 Abs. 2 findet entsprechende Anwendung.

(2) Das Bundesministerium erlässt nach Anhörung von Sachverständigen aus der medizinischen und pharmazeutischen Wissenschaft und Praxis allgemeine Verwaltungsvorschriften über die von der Bundesoberbehörde an die Herstellungs- und Kontrollmethoden nach Absatz 1 zu stellenden Anforderungen und macht diese als Arzneimittelprüfrichtlinien im Bundesanzeiger bekannt. Die Vorschriften müssen dem jeweiligen Stand der wissenschaftlichen Erkenntnisse entsprechen und sind laufend an diesen anzupassen.

(3) Auf die Durchführung der staatlichen Chargenprüfung finden § 25 Abs. 8 und § 22 Abs. 7 Satz 3 entsprechende Anwendung.

(4) Der Freigabe nach Absatz 1 Satz 1 bedarf es nicht, soweit die dort bezeichneten Arzneimittel durch Rechtsverordnung nach § 35 Abs. 1 Nr. 4 oder von der zuständigen Bundesoberbehörde freigestellt sind; die zuständige Bundesoberbehörde soll freistellen, wenn die Herstellungs- und Kontrollmethoden des Herstellers einen Entwicklungsstand erreicht haben, bei dem die erforderliche Qualität, Wirksamkeit und Unbedenklichkeit gewährleistet sind.

(5) Die Freigabe nach Absatz 1 oder die Freistellung durch die zuständige Bundesoberbehörde nach Absatz 4 ist zurückzunehmen, wenn eine ihrer Voraussetzungen nicht vorgelegen hat; sie ist zu widerrufen, wenn eine der Voraussetzungen nachträglich weggefallen ist. Satz 1 gilt entsprechend, wenn bei einer freigegebenen Charge eines in Absatz 1 Satz 1 bezeichneten Arzneimittels oder bei einem freigestellten Arzneimittel der begründete Verdacht besteht, dass es sich um ein gefälschtes Arzneimittel handelt.

Verordnung zur Sicherstellung der Versorgung der Bevölkerung mit Produkten des medizinischen Bedarfs bei der durch das Coronavirus SARS-CoV-2 verursachten Epidemie* (Medizinischer Bedarf Versorgungssicherstellungsverordnung - MedBVSV)

§ 3 Ausnahmen vom Arzneimittelgesetz und der Arzneimittelhandelsverordnung zur Beschaffung und Abgabe gemäß § 2


(1) § 8 Absatz 3, die §§ 10, 11, 11a und 21 Absatz 1, § 21a Absatz 1 und 9, § 32 Absatz 1, die §§ 43, 47 und 72 Absatz 1 und 4, § 72a Absatz 1, § 72b Absatz 1 und 2, § 72c Absatz 1, die §§ 73a, 78 und 94 des Arzneimittelgesetzes (AMG) sowie § 4a Absatz 1 und § 6 Absatz 1 der Arzneimittelhandelsverordnung (AM-HandelsV) gelten nicht für das Bundesministerium, die von ihm beauftragten Stellen und für Personen, von denen das Bundesministerium oder eine von ihm beauftragte Stelle die Arzneimittel beschafft, wenn das Bundesministerium oder eine von ihm beauftragte Stelle nach § 2 Absatz 1 Arzneimittel oder Wirk-, Ausgangs- und Hilfsstoffe beschafft und in den Verkehr bringt.

(2) Sofern ein nach § 2 Absatz 1 zur Beschaffung vorgesehenes oder beschafftes Arzneimittel nicht im Geltungsbereich des Arzneimittelgesetzes zugelassen ist, übergibt der Hersteller der nach § 77 AMG zuständigen Bundesoberbehörde alle Unterlagen, die die nach § 22 AMG für eine Zulassung erforderlichen Angaben zu Qualität, Wirksamkeit und Unbedenklichkeit des Arzneimittels enthalten. Die zuständige Bundesoberbehörde prüft und bewertet die Unterlagen vorrangig und teilt der beschaffenden Stelle unverzüglich das Ergebnis der Bewertung mit. Das Bundesministerium hat die Bewertung in die Entscheidung über die Beschaffung und das Inverkehrbringen des Arzneimittels einzubeziehen.

(3) Die Abgabe eines nach § 2 Absatz 1 beschafften, nicht zum Inverkehrbringen im Geltungsbereich des Arzneimittelgesetzes zugelassenen oder genehmigten Arzneimittels ist nur zulässig, wenn die nach § 77 AMG zuständige Bundesoberbehörde festgestellt hat, dass die Qualität des Arzneimittels gewährleistet ist und seine Anwendung nach den Erkenntnissen der medizinischen Wissenschaft ein positives Nutzen-Risiko-Verhältnis zur Vorbeugung oder Behandlung der jeweiligen Erkrankung erwarten lässt. Die Abgabe dieser Arzneimittel an den Endverbraucher erfolgt unter der Verantwortung einer Person, die Ärztin oder Arzt oder Apothekerin oder Apotheker ist.

(4) Abweichend von § 84 AMG unterliegen pharmazeutische Unternehmer, Hersteller und Angehörige von Gesundheitsberufen hinsichtlich der Auswirkungen der Anwendung der in § 1 Absatz 2 genannten Produkte nicht der Haftung, wenn diese Produkte durch das Bundesministerium als Reaktion auf die vermutete oder bestätigte Verbreitung des SARS-CoV-2-Erregers in den Verkehr gebracht werden und nach den Gegebenheiten des Einzelfalls die auf Absatz 1 gestützten Abweichungen vom Arzneimittelgesetz geeignet sind, den Schaden zu verursachen. Pharmazeutische Unternehmer, Hersteller und Angehörige von Gesundheitsberufen haben die Folgen der auf Absatz 1 gestützten Abweichungen vom Arzneimittelgesetz nur bei grober Fahrlässigkeit oder Vorsatz zu vertreten. Im Übrigen bleiben die Haftung für schuldhaftes Handeln sowie die Haftung für fehlerhafte Produkte nach den Vorschriften des Produkthaftungsgesetzes unberührt.

desin mdr Impfstoffe und biomedizinische Arzneimittel
eral Institute for Vaccines and Biomedicines

Paul-Ehrlich-Institut 

Bei den Parametern wie dem Rest-DNA-Gehalt im Impfstoff, die nur vom Hersteller experimentell geprüft werden, überprüft das OMCL die Testergebnisse des Herstellers daraufhin, ob die in der Zulassung festgelegten Grenzwerte in jeder Charge eingehalten wurden.

Das Paul-Ehrlich-Institut ist ein amtliches Kontrolllabor im europäischen OMCL-Netzwerk und hat die meisten Chargen des von der EU-Kommission zugelassenen COVID-19-Impfstoffprodukts Comirnaty (in allen Indikationen und Konzentrationen) entsprechend OMCL-Leitfaden und Zulassungsvorgaben geprüft und ggf. die staatliche Chargenfreigabe für Deutschland erteilt.

Das Paul-Ehrlich-Institut (PEI) ist als Bundesinstitut für Impfstoffe und biomedizinische Arzneimittel für die produktspezifische Prüfung dieser Arzneimittelproduktklassen zuständig und testet sie in seiner Rolle als OMCL nach festgelegten Methoden, um Qualität, Wirksamkeit und Unbedenklichkeit sicherzustellen. In Deutschland unterliegen nach § 32 AMG alle Impfstoffe der staatlichen Chargenprüfung durch die zuständige Bundesoberbehörde –

Jede Wirkstoffcharge des Impfstoffprodukts Comirnaty wird auf DNA-Restmengen untersucht und die Ergebnisse sind Teil des Chargenfreigabeprotokolls des Herstellers, das im Rahmen der amtlichen Chargenprüfung (OCABR) unabhängig behördlich geprüft wird.

[...]

Für die staatliche Chargenfreigabe in Deutschland werden diese vom Hersteller mit festgelegter und validierter Methode erhobenen Untersuchungsdaten vom Paul-Ehrlich-Institut **gegengeprüft**, bevor eine staatliche Chargenfreigabe für Deutschland durch das Paul-Ehrlich-Institut erfolgt.

Das Paul-Ehrlich-Institut (PEI) ist als Bundesinstitut für Impfstoffe und biomedizinische Arzneimittel für die produktspezifische Prüfung dieser Arzneimittelproduktklassen zuständig und testet sie in seiner Rolle als OMCL nach festgelegten Methoden, um Qualität, Wirksamkeit und Unbedenklichkeit sicherzustellen. In Deutschland unterliegen nach § 32 AMG alle Impfstoffe der staatlichen Chargenprüfung durch die zuständige Bundesoberbehörde – dem PEI. Die jeweilige Impfstoffcharge darf in Deutschland nur dann in den Verkehr gebracht werden, wenn das PEI als offizielle Arzneimitteluntersuchungsstelle diese freigegeben hat. Die Chargenprüfung beinhaltet neben der experimentellen Prüfung der Impfstoffe auch die Überprüfung der chargenspezifischen Daten zur Herstellung und Qualitätskontrolle, die der Hersteller mit dem Antrag auf Chargenfreigabe einzureichen hat. Als OMCL führt das PEI die in den europäischen impfstoffspezifischen Leitlinien zur Chargenprüfung (Batch Release Guidelines) festgelegten experimentellen Prüfungen unabhängig vom Hersteller durch, um die zulassungskonforme Qualität jeder Impfstoffcharge unabhängig zu bestätigen [4, 11].

steller gemäß den produktspezifischen Leitlinien eingereicht wurden. Darüber hinaus ist es wichtig zu beachten, dass die Chargenfreigabe der offiziellen Kontrollbehörden auf Grundlage eines etablierten Qualitätsmanagementsystems durchgeführt wird, das einer regelmäßigen externen Bewertung auf der Grundlage des internationalen Standards ISO 17025 unterzogen wird [6, 8].

Impfstoffe kam.

Das PEI gab als erstes OMCL am 23.12.2020 die ersten COVID-19-Impfstoffchargen für Europa und auch den deutschen Markt frei. Somit konnten alle von den OMCL freigegebenen COVID-19-Impfstoffchargen unmittelbar EU-weit zur Verfügung gestellt werden. Zusätzlich zur Versorgung des europä-

allen OMCL empfohlen wird. Im Falle sorgungsprozesses kommt. Im PEI wurde

ein Schichtbetrieb eingeführt, um die experimentelle Prüfung aller Chargen für die Belieferung des europäischen und des deutschen Marktes konstant fortzusetzen und um zu vermeiden, dass

men sollte, so ist die weltweite Versorgung mit COVID-19-Impfstoffen, die zur Beendigung der Pandemie äußerst wichtig ist, noch nicht abgeschlossen.

Original/Omicron BA.4-5 enthält 15 µg mRNA, die für das Spikeprotein des Ursprungsisolats codiert und 15 µg mRNA für das Spikeprotein der Omikron-Varianten BA.4 und 5. Dies wiederum

[Home](#) > [Bundesgesundheitsblatt – Gesundheitsforschung – Gesundheitsschutz](#) > Article

Chargenprüfung als wesentliche Säule der Versorgung mit sicheren und wirksamen Impfstoffen

Batch testing as an essential pillar of the supply of safe and effective vaccines

Editorial | [Open access](#) | Published: 20 October 2022

Volume 65, pages 1244–1250, (2022) | [Cite this article](#)

[Download PDF](#) 

 You have full access to this open access article



[Bundesgesundheitsblatt –
Gesundheitsforschung –
Gesundheitsschutz](#)

[Aims and scope](#) →

[Hanna Sediri-Schön, Jeannette Lange, Elena Grabski, Ralf Wagner & Eberhard Hildt](#) 

 1895 Accesses  58 Altmetric [Explore all metrics](#) →

[Use our pre-submission checklist](#) →

Avoid common mistakes on your manuscript.



Zusammenfassung

[Sections](#)[Figures](#)[References](#)

Sediri-Schön H, Lange J, Grabski E, Wagner R, Hildt E. Chargenprüfung als wesentliche Säule der Versorgung mit sicheren und wirksamen Impfstoffen [Batch testing as an essential pillar of the supply of safe and effective vaccines]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*. 2022 Dec;65(12):1244-1250. German. doi: 10.1007/s00103-022-03611-1. Epub 2022 Oct 20. PMID: 36264321; PMCID: PMC9582401. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00103-022-03611-1>

Paul-Ehrlich-Institut, Paulstr. 60/61, 53225 Langer

Our reference: ND 03 01 0070 0009 0002

Annellen Evensen
Pfizer Global Supply Pains
Rijksweg 12

2870 Pains, Belgium

EC/EEA OFFICIAL CONTROL AUTHORITY BATCH RELEASE TESTING CERTIFICATE FOR IMMUNOLOGICAL PRODUCTS

EU/EEA OFFICIAL CONTROL AUTHORITY BATCH RELEASE CERTIFICATE - Finished Product

Examined under Article 114 of Directive 2001/83/EC (Immunological Medicinal Products) and in accordance with the Administrative Procedure for Official Control Authority Batch Release.

Trade name:	COMBIVAX
INN / Ph. Eur. name / common name:	COVID-19 mRNA Vaccine
Batch number and other identification numbers associated with this batch:	EJ8756
Type of container:	vial
Total number of containers in this batch:	████████
Nominal dose per container:	5 x 0,25 ml
Date of start of period of validity:	13.11.2020
Date of expiry:	30.04.2021
Marketing authorisation number:	EU/1/20/1528
Name and address of manufacturer:	Pfizer Global Supply Pains / 2870 Pains, Belgium
Name and address of MAH:	BahTech Manufacturing GmbH An der Goldgrube 12 55131 Mainz

This batch has been examined using documented procedures which form part of a quality system which is in accordance with the ISO 9001 standard. This examination is based on either:

- the relevant EU GMP guidelines for this product, or, in the absence of the latter,
 - the review of the manufacturer's protocol and the appropriate control laboratory tests as indicated in the marketing authorisation application.
- All the constituent plasma pools have been tested by an OMSL for viral markers.

This batch is in compliance with the approved specifications laid down in the relevant European Pharmacopoeia monographs and the above marketing authorisation and is released.

Signed on behalf: Dr. Hanna Sediti-Schön
Section 2/1 Viral Vaccines

Date of issue: 22.12.2020

Certificate number: 2208/20

This document was issued electronically and is therefore valid without signature.



This batch is in compliance with the approved specifications laid down in the relevant European Pharmacopoeia monographs and the above marketing authorisation and is released.


Signed on behalf: **Dr. Hanna Sediti-Schön**
Section 2/1 Viral Vaccines

Date of issue: 22.12.2020

Certificate number: 2208/20

This document was issued electronically and is therefore valid without signature.





Hanna Sediri-Schön · 3
 Batch release Lab Manager chez Paul-Ehrlich-Institut
 Frankfurt, Hessen, Deutschland · [Kontaktinfo](#)
 134 Kontakte

[Nachricht](#) [+ Folgen](#) [Mehr](#)


Aktivitäten
 135 Followerinnen


Hanna Sediri-Schön hat noch nichts veröffentlicht.
 Aktuelle Beiträge, die Hanna Sediri-Schön geteilt hat, erscheinen hier.


[Alle Aktivitäten anzeigen →](#)


[\(https://www.linkedin.com/in/hanna-sediri-sch%C3%B6n-29223396/\)](https://www.linkedin.com/in/hanna-sediri-sch%C3%B6n-29223396/)

Berufserfahrung



-  **Paul-Ehrlich-Institut**
8 Jahre 4 Monate
 - Batch release Lab Manager**
Mai 2018–Heute · 5 Jahre 8 Monate
Germany
 - Research Associate**
Sept. 2015–Heute · 8 Jahre 4 Monate
Langen, Germany

-  **Research assistant, PhD student**
Philipps University of Marburg - GERMANY
Apr. 2011–Apr. 2015 · 4 Jahre 1 Monat
Marburg, Germany

-  **Phd Student**
European Virology meeting Lyon
2014 · Weniger als ein Jahr

-  **Master student**
Université Paris Descartes Institut Cochin
Sept. 2009–Juni 2010 · 10 Monate

Ausbildung

-  **Philipps-Universität Marburg**
PhD in life science, Virologie
2011–2014
-  **Université Paris Cité**
Master's degree, Molecular and Medical Virology
2008–2010

[Alle 6 Ausbildungen anzeigen →](#)

Tab. 2 Auflistung der vom amtlichen Arzneimittelkontrolllabor (Official Medicines Control Laboratory, OMCL) durchzuführenden Chargenfreigabete-
 tests für das Chargenprüfungsverfahren (Official Control Authority Batch Release, OCABR) für COVID-19-Impfstoffe

	COVID-19-Impfstoff (nicht-replizie- render Adenovirus-Vektorimpfstoff)	COVID-19- mRNA-Impf- stoff	COVID-19-Impfstoff (rekombi- nanter Proteinimpfstoff)	COVID-19-Impf- stoff (inaktiviert)
Testdurchführung an der finalen Charge (Final Lot)	Visuelle Kontrolle	Visuelle Kon- trolle	Visuelle Kontrolle	Visuelle Kontrolle
	Wirkstoffgehalt	Wirksamkeit	Wirksamkeit	Wirksamkeit
	Identität	Identität	Identität	Identität
	–	Integrität	Reinheit	–
Testdurchführung an Vorstufe der finalen Charge (Final Bulk)	–	–	Reinheit (wenn nicht an finaler Charge durchgeführt)	–

Document title	Last web update	In force from
Pandemic COVID-19 Vaccine (Non-Replicating Adenovirus-Vectored Vaccine) (full version)	20/04/21	01/05/21
Pandemic COVID-19 Vaccine (mRNA Vaccine) (full version) revised	12/12/23	01/01/24
Pandemic COVID 19 Vaccine (Recombinant protein) (full version)	11/08/23	25/08/23
Pandemic COVID-19 Vaccine, Inactivated (full version)	29/11/22	15/12/22

<https://www.edqm.eu/en/omcl/ocabr-activities-related-to-covid-19-vaccines>

3.2.2.1 mRNA

Erscheinungsbild, Identität der kodierten RNA, Gehalt (RNA-Konzentration), RNA-Integrität / Reinheit, RNA-Verunreinigungen (falls zutreffend), 5' Cap, Poly(A)-Schwanz, Reste der DNA-Vorlage, Reste von dsRNA (falls zutreffend), Reste von Lösungsmitteln (falls zutreffend), pH-Wert, Endotoxin-Gehalt, Biologische Belastung (Bioburden)

3.2.2.2 LNP (falls zutreffend)

Erscheinungsbild, Identität der einzelnen LNP-Bestandteile, Gehalt der einzelnen LNP-Bestandteile, LNP-Verunreinigungen, LNP-Größe, LNP-Polydispersität, pH-Wert, Osmolalität, Reste von Lösungsmitteln, Endotoxin-Gehalt, Bioburden

3.2.2.4 Endgültiger Bulk-Impfstoff (falls zutreffend)

Erscheinungsbild, Erscheinungsbild (sichtbare Partikel), Erscheinungsbild (nicht sichtbare Partikel), pH-Wert, Osmolalität, LNP-Größe, LNP-Polydispersität, RNA-Verkapselung, RNA-Gehalt, Gehalt an LNP-Komponenten für jede LNP-Verunreinigungen (falls zutreffend), Identität der LNP-Komponenten für jedes Extrahierbares Volumen, Identität der RNA-kodierten Sequenz, In-vitro-Expression, RNA-Integrität / -Reinheit, RNA-Verunreinigungen (falls zutreffend), Rückstände von Lösungsmitteln (falls zutreffend), Endotoxin-Gehalt, Sterilitätstest

Experimentelle OMCL-Testungen von Proben jeder Charge von zugelassenen Impfstoffen umfassen die auf Grundlage der Bewertung der Impfstoffe im Zulassungsprozess **als relevant identifizierten produktspezifischen LaborWirksamkeits (Potency)- und -Sicherheitsparameter.**

[...] Die Entscheidung hinsichtlich der zu überprüfenden Parameter erfolgt parallel zur und inhaltlich gestützt auf die Nutzen-Risiko-Bewertung des jeweiligen Impfstoffkandidaten im Rahmen des Zulassungsverfahrens.

Surface charge

BNT162b2 drug product was subjected to electrophoretic light scattering analysis to determine the **zeta** potential, which is defined as the electrostatic potential between the particle surface and the bulk solvent. The **zeta** potential distribution for BNT162b drug product is narrow and monomodal. The average apparent **zeta** potential is around -3.13 mV, indicating the surface of the LNP is slightly negatively charged. The nearly neutral LNP surface supports the mechanism that BNT162b2 drug product avoids non-specific binding events in the blood compartment.

<https://factreview.gr/wp-content/uploads/2023/07/Rolling-Review-Report-Quality-COVID-19-mRNA-Vaccine-BioNTech.pdf>

> Nature. 2016 Jun 16;534(7607):396-401. doi: 10.1038/nature18300. Epub 2016 Jun 1.

Systemic RNA delivery to dendritic cells exploits antiviral defence for cancer immunotherapy

Lena M Kranz^{1,2}, Mustafa Diken^{1,3}, Heinrich Haas³, Sebastian Kreiter^{1,3}, Carmen Loquai⁴, Kerstin C Reuter³, Martin Merg³, Daniel Fritz³, Fulvia Vascotto¹, Hossam Hefesha³, Christian Grunwitz^{2,3}, Mathias Vormehr^{2,3}, Yves Hüseemann³, Abderraouf Selmi^{1,2}, Andreas N Kuhn³, Janina Buck³, Evelyn Derhovanessian³, Richard Rae¹, Sebastian Attig^{1,2}, Jan Diekmann³, Robert A Jabulowsky³, Sandra Heesch³, Jessica Hassel⁵, Peter Langguth⁶, Stephan Grabbe⁴, Christoph Huber^{1,3}, [Özlem Türeci](#)⁴, [Ugur Sahin](#)^{4,7,8}

Affiliations

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27281205/>

Affiliations

- 1 TRON Translational Oncology at the University Medical Center of the Johannes Gutenberg University gGmbH, Freiligrathstr. 12, Mainz 55131, Germany.
- 2 Research Center for Immunotherapy (FZI), University Medical Center at the Johannes Gutenberg University, Langenbeckstr. 1, Mainz 55131, Germany.
- 3 Biopharmaceutical New Technologies (BioNTech) Corporation, An der Goldgrube 12, Mainz 55131, Germany.
- 4 Department of Dermatology, University Medical Center of the Johannes Gutenberg University, Langenbeckstr. 1, Mainz 55131, Germany.
- 5 Department of Dermatology, Heidelberg University Hospital, Im Neuenheimer Feld 440, 69120 Heidelberg, Germany.
- 6 Institute of Pharmacy and Biochemistry, Johannes Gutenberg University, Germany, Langenbeckstr. 1, Mainz 55131, Germany.
- 7 Cluster for Individualized Immune Intervention, Kupferbergterasse 19, Mainz 55116, Germany.

PMID: 27281205 DOI: 10.1038/nature18300

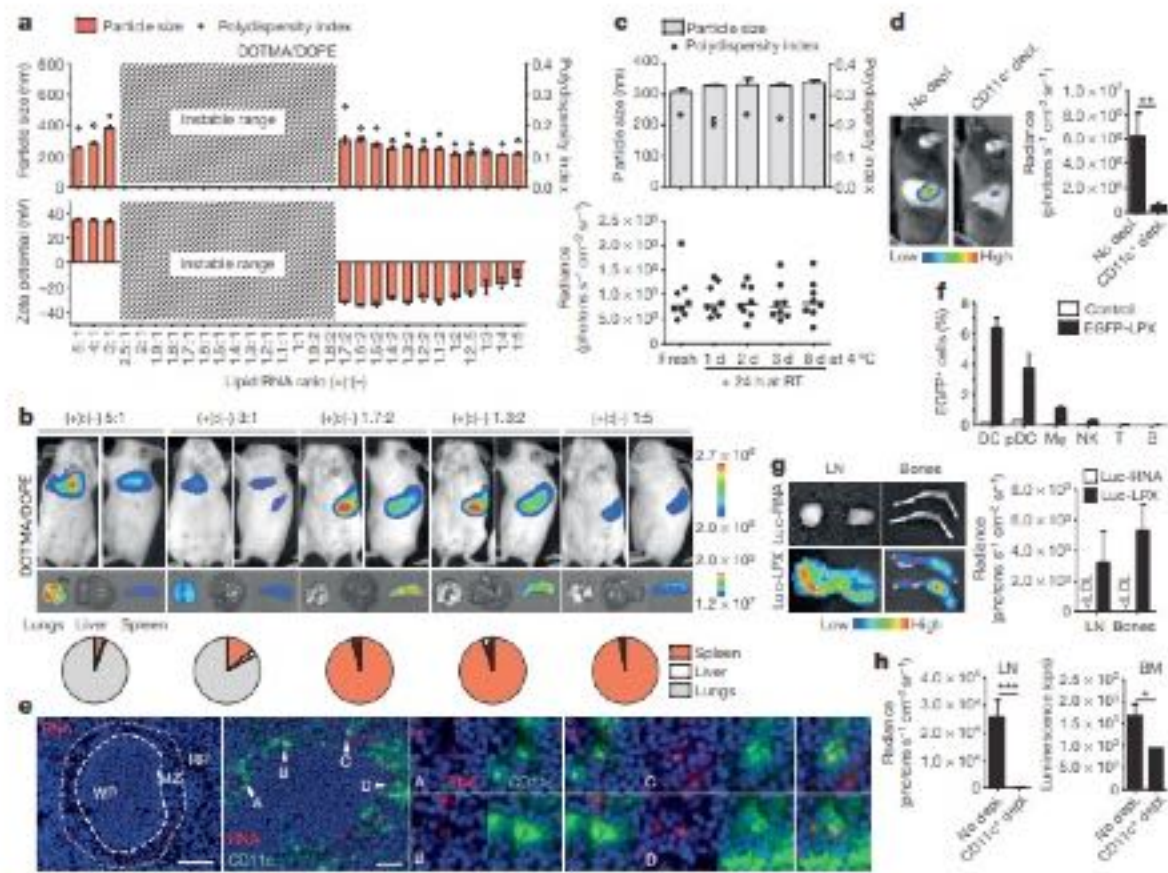


Figure 1 | RNA-LPX of negative net charge deliver RNA-encoded antigens body-wide to lymphoid-resident DCs. a, Particle size, polydispersity index (top) and zeta potential (bottom) ($n = 3$) of RNA-LPX composed of DOTMA/DOPE liposomes with different lipid ratios.

depleted (depl.) of CD11c⁺ cells. e, Splenic localization of CD11c and Cy3 double-positive cells in BALB/c mice ($n = 2$) 1 h after i.v. injection of Cy3-labelled RNA-LPX. Scale bar, 100 μ m. MZ, marginal zone; RP, red pulp.

Sample batch number	Formulation				pH	Osmolality (mOsmol/kg)	Size		Zeta (mV)	Encapsulation efficiency (%)	RNA conc. (mg/mL)	LNP are uniform?	
	Lipid Mix	Batch	RNA	Batch			Z-Az (nm)	PDI					
210106-NP1-Prime and Boost	ODDMA-Chol (DOPC-PEG-C16-40-48-532)	2019085-Misc-12	13.5mM	mod HA	FK3W222-05c	7.3	291	76	0.294	7.51	93	0.090	Yes
(b) (4)													
LNPS-Azules HA	unknown	FM-1074A		mod HA	FK3W222-05c	7.25	279	91	0.172	3.71	84	0.072	Yes
LNPS-Azules HA	unknown	FM-1074B		mod HA	FK3W222-05c	7.35	294	123	0.253	7.37	78	0.069	Yes
LNPS-Azules HA	unknown	FM-1074C		mod HA	FK3W222-05c	7.26	292	83	0.249	5.11	90	0.060	Yes
LNPS-Azules Luc	unknown	FM-1055D		mod Luc	RNA-D-190K13-05c	7.23	298	113	0.236	3.75	91	0.054	Yes
LNPS-Azules Luc	unknown	FM-1074D		mod Luc	RNA-D-190K13-05c	7.32	297	91	0.278	4.49	87	0.050	Yes

Table 4-1. Study design

<https://modernlife.substack.com/p/the-pre-2020-bnt162-development-program>

Die von den Herstellern verwendeten analytischen Methoden zur Bestimmung von DNA-Restmengen in COVID-19-mRNA-Wirkstoffen ist in den Zulassungsdossiers der zugelassenen mRNA-Impfstoffprodukte beschrieben.

[...] Deren Validität wurde entsprechend ICHVorgaben (International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use) überprüft und anhand von vorgelegten Daten nachgewiesen.

1. Quelle und Daten nicht angegeben und nicht verlinkt = reine Behauptung ohne Belege (ich stehe aber total auf Endnoten).
2. Siehe EMA-Dokumente und „Ergebnisoptimierung“ der Messmethoden

Welche Ansprüche haben wir an unsere Inhalte?

Das Paul-Ehrlich-Institut veröffentlicht Informationen im Bereich des Gesundheitswesens und der Forschung, die dem aktuellen Kenntnisstand entsprechen. Expertinnen und Experten des Instituts erstellen und prüfen alle Inhalte nach dem Vieraugenprinzip, bevor diese publiziert werden. Jeder Text wird von mindestens einem Mitglied des Führungsteams überprüft. **Die Quellen der Informationen werden benannt (Wissenschaftliche Publikationen, Rechtsgrundlagen).**

https://www.pei.de/SharedDocs/Downloads/DE/service/qualitaetskriterien.pdf?__blob=publicationFile&v=2

Die Testung der Plasmid-DNA-Restmengen erfolgt bewusst am **Wirkstoff** der COVID-19-mRNA-Impfstoffe (Drug Substance) und nicht am finalen Produkt (Drug Product). **Nur so sind mögliche Testinterferenzen durch Lipid-Nanopartikel (LNPs), die erst im finalen Produkt vorliegen, auszuschließen.**

Lot Number: FL7649

Licensed Name of Product: COMIRNATY

Table 1 (Continued) Filled Vaccine Quality Control Tests

Test	Test Method	Specification	Date of Test	Result
Identity of encoded RNA sequence	RT-PCR		06-Oct-2021	Identity confir ← LIMS
In Vitro Expression	Cell-based Flow Cytometry		08-Oct-2021	64 % ← LIMS
RNA Integrity	Capillary Gel Electrophoresis		30-Sep-2021	62 % ← LIMS
Bacterial Endotoxin	Endotoxin (LAL)		05-Oct-2021	<5.00 EU/ml ← LIMS

Abbreviations: LNP = Lipid nanoparticles; CAD = charged aerosol detector; RT-PCR = reverse transcription polymerase chain reaction; FACS = fluorescence activated cell sorter; ddPCR = droplet digital PCR; qPCR = quantitative PCR; dsRNA = double stranded RNA; LAL = Limulus amoebocyte lysate; EU = endotoxin unit

1. LAL funktioniert in liposomalen Formulierungen aber nicht (<https://doi.org/10.1002/wnan.1738>).
2. Wirkstoff oder Prodrug? Der Wirkstoff (Spike-Protein) wird in den Zellen hergestellt?

In den Produktionsschritten zwischen der Wirkstoffherstellung und der Herstellung des finalen Produkts kann keine DNA mehr in den Prozess bzw. das Produkt gelangen, sodass bei der Herstellung der finalen Impfstoffdosen aus dem Wirkstoff **keine Erhöhung des DNA-Gehalts pro Impfstoffdosis** möglich ist.

[...] Die Rest-DNA am Wirkstoff zu testen ist also sensitiver und repräsentativ hinsichtlich des DNA-Gehalts des finalen Impfstoffprodukts.

Wenn ein Vial abgelaufen ist aber schon?

Die wundersame Vermehrung?

Das PEI

1. stellt bezüglich DNase-Verdau Behauptungen auf, die von der EMA bereits seit über einem Jahr widerlegt sind.
2. zweifelt Untersuchungsmethoden der modRNA-Produkte an, die von den OMCL Laboren so auch verwendet werden, aber wahrscheinlich mit dem falschen Farbstoff.
3. zieht OCABR Regel als Beleg heran, dass etwas nicht getan werden muss, was in den OCABR Regeln aber als zu untersuchen festgelegt ist.
4. ignoriert seinen gesetzlichen Auftrag nach AMG, den es in einer eigenen Publikation als Qualitätsmerkmal hervorhebt.
5. veröffentlicht eine Publikation über Untersuchungen, die es angeblich im Schichtdienst als OMCL gemacht hat, während es dem MDR schreibt, keine Untersuchungen durchzuführen und auch vor Gericht ausgesagt hat, dass nur Sichtkontrollen durchgeführt werden.

Si tacuisses, philosophus mansisses!

Oder wie Dieter Nuhr so schön sagt:

***„Wenn man keine Ahnung hat,
einfach mal die Klappe halten.“***



DRBINE'S NEWSLETTER

Achtung! Eine Impfung mit Polysorbat 80 in Spike-Produzenten kann zu virus like particles führen

Grippeimpfung und Schlumpfung vertragen sich so gar nicht

DRBINES VERBALES VITRIOL · 3 MIN READ

15. DEZ.



Live T

Covid shots may slightly increase risk of stroke in older adults, particularly when administered with certain flu vaccines

by Brenda Goodman, CNN

3.5 minute read

<https://drbine.substack.com/p/achtung-eine-impfung-mit-polysorbat>



Live TV

Covid shots may slightly increase risk of stroke in older adults, particularly when administered with certain flu vaccines

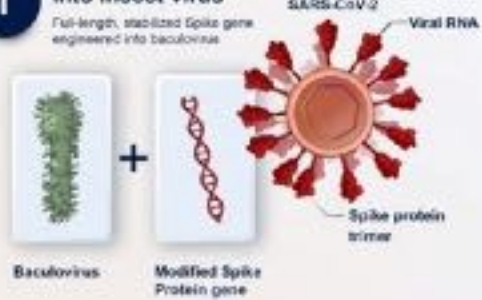
By Brenda Goodman, CNN

🕒 5 minute read

Updated 8:24 AM EDT, Thu October 26, 2023

NVX-CoV2373 Vaccine Design

1 COVID DNA inserted into insect virus
Full-length, stabilized Spike gene engineered into baculovirus



2 Sf9 Cells Infected
Recombinant baculovirus infects moth cells in *S. frugiperda* (Sf9) expression system



3 COVID DNA Enters Sf9 Cell Nucleus
COVID DNA transcribed



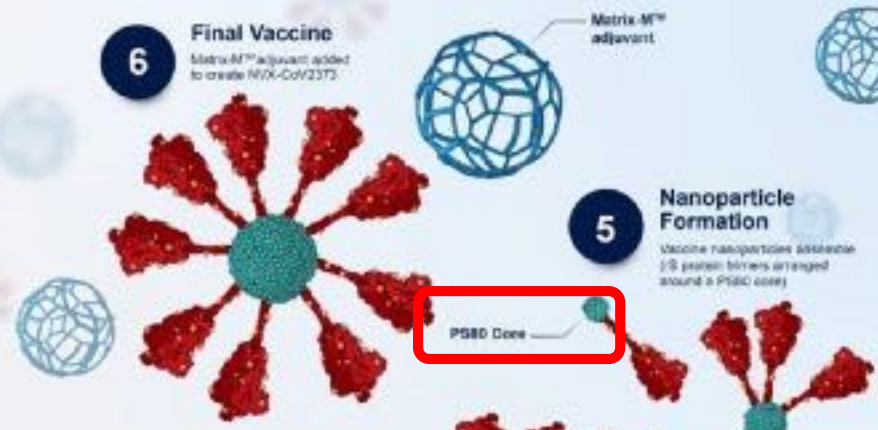
4 Sf9 Cells Produce Spike
Recombinant Spike (S) proteins expressed in their native trimer conformation

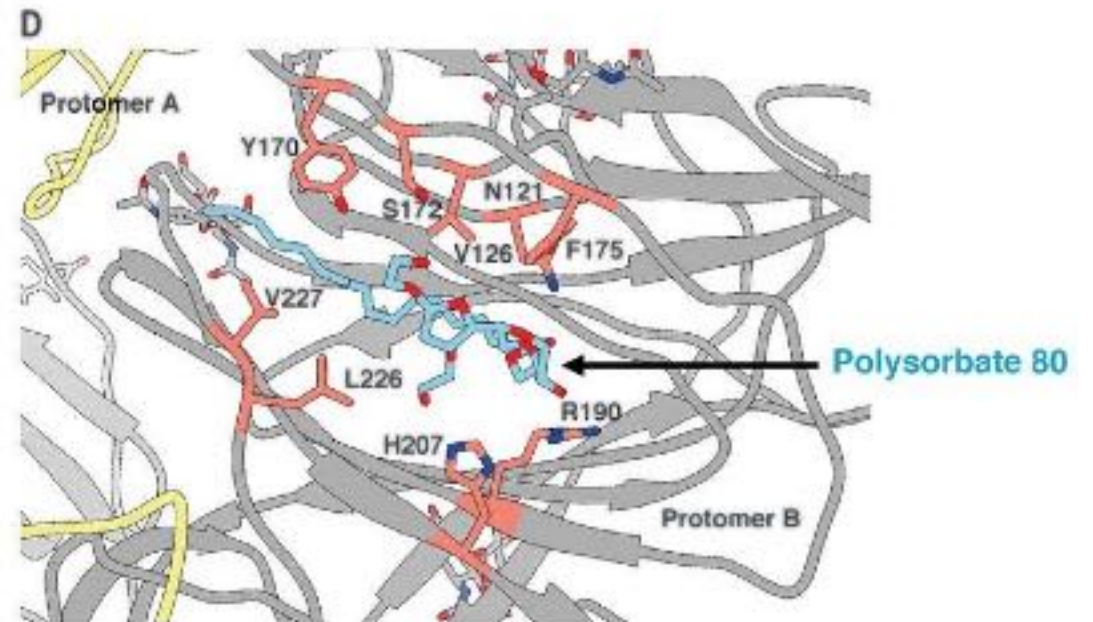
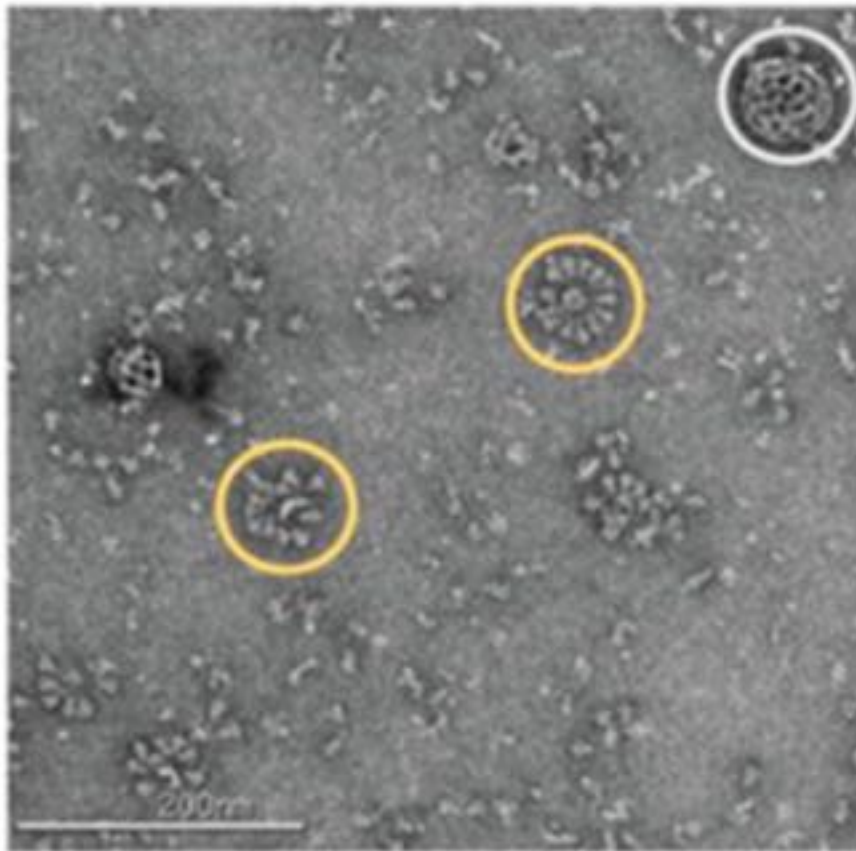


5 Nanoparticle Formation
Vaccine nanoparticles assemble (S protein trimers arranged around a P80D core)



6 Final Vaccine
Matrix-MTM adjuvant added to create NVX-CoV2373





(<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2023.07.040>).

FACHINFORMATION

GSK

Influsplit Tetra 2023/2024

1. BEZEICHNUNG DES ARZNEIMITTELS

Influsplit Tetra 2023/2024

4.2 Dosierung und Art der Anwendung

Dosierung

Wie bei anderen intramuskulär verabreichten Impfstoffen sollte Influsplit Tetra bei Personen mit Thrombozytopenie oder einer

6. PHARMAZEUTISCHE ANGABEN

6.1 Liste der sonstigen Bestandteile

Natriumchlorid

Natriummonohydrogenphosphat $\times 12\text{H}_2\text{O}$

Kaliumdihydrogenphosphat

Kaliumchlorid

Magnesiumchlorid $\times 6\text{H}_2\text{O}$

RRR- α -Tocopherolhydrogensuccinat

Polysorbat 80 E 433

Octoxinol 10

Wasser für Injektionszwecke

<https://www.haushaltsabteilung.hu-berlin.de/de/haushaltundpersonal/themen-a-z/03a-fachinformation-gsk-influsplit-tetra-2023-2024-1.pdf/view>

Wenn man dann noch eine weitere Dosis der Plörre nimmt und die Spike Titer hochtreibt hat man somit theoretisch 3 Produkte bekommen:

1. modRNA Plörre
2. Eine Impfung gegen Influenza
3. Eine Nuvaxovid ähnliches Produkt, das sich aus dem Produkt von Plörre + Impfung gegen Influenza zu einem Nuvaxovid ähnlichen VLP spontan im Blut zusammensetzen könnte.