

Začetni razvoj protikovidnih cepiv

Zbornik povzetkov



Molekularna biotehnologija

Magistrski študijski program Biokemija
UL FKKT

Ljubljana, 2021

Začetni razvoj protikovidnih cepiv – zbornik povzetkov

Izdajatelj Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Katedra za biokemijo

Ljubljana, december 2021

Urednik izr. prof. dr. Marko Dolinar

Oblikovanje in slike Jerneja Nimac

Slike so bile pripravljene s programoma BioRander.com in Adobe Illustrator.

Avtorica opisov tipov cepiv in primerjalnih preglednic Jerneja Nimac

Avtorji besedila: Katja Doberšek, Karin Dobravc Škof, Marko Dolinar, Željka Erić, Urška Fajdiga, Luka Gnidovec, Paula Horvat, Urban Hribar, Jernej Imperl, Anže Karlek, Eva Keber, Ernestina Lavrih, Martina Lokar, Urša Lovše, Nina Lukančič, Ana Maklin, Mirsad Mešič, Jerneja Nimac, Neža Pavko, Urška Pečarič Strnad, Klementina Polanec, Andrej Race, Matija Ruparčič, Saša Slabe, Peter Škrinjar, Almina Tahirović, Liza Ulčakar, Nika Zaveršek, Mateja Žvipelj.

1. spletna izdaja, 2021

Dostopno na <http://web.fkkt.uni-lj.si/biokemija/Protikovidna2021.pdf>

© (2021) avtorji

Kataložni zapis o publikaciji (CIP) pripravili v Narodni in univerzitetni knjižnici v Ljubljani

COBISS.SI-ID 94906627

ISBN 978-961-7078-22-0 (PDF)

Predgovor

Obdobje pandemije koronavirusa SARS-CoV-2 je vsem težavam navkljub za učitelje molekularnih ved o življenju tudi priložnost, da mehanizme okužbe, replikacije virusa in odgovora človeka na okužbo izrabimo pri izvedbi študija. S tem so pojmi, ki se sicer zdijo morda abstraktni, dobili bolj oprijemljivo podobo. Hkrati je na primeru SARS-CoV-2 mogoče vsakodnevno spremljati, kako pomemben je prispevek raziskovalcev za razumevanje virusa in s tem za premagovanje bolezni.

Pri izbirnem strokovnem predmetu Molekularna biotehnologija na magistrskem študijskem programu Biokemija smo na Univerzi v Ljubljani, Fakulteti za kemijo in kemijsko tehnologijo, spomladi 2021 izvedli serijo kratkih seminarjev, na katerih so študentje predstavili zasnovo protikovidnih cepiv, njihov način proizvodnje in rezultate kliničnih testiranj. Nekatera od predstavljenih cepiv smo v času obravnave na seminarjih že uporabljali v Sloveniji, o drugih se je govorilo, tretja so bila še v fazi poskusne proizvodnje, a sem jih vključil v seminarje zaradi drugačnega principa delovanja.

Vesel sem bil, da so študentje sami predlagali, da bi povzetke seminarjev izdali tudi kot brošuro. Ker smo se nadejali, da bodo med bralci tudi številni nebiokemiki, smo se odločili, da povzetke seminarjev napišemo nekoliko bolj poljudno kot bi jih sicer, hkrati pa nismo želeli bistveno širiti obsega, zato nekateri celični in imunski procesi niso natančneje razloženi. Upam, da prispevki v zborniku ne bodo prezahtevno branje in da boste po pregledu brošure bolje razumeli, kako so posamezna cepiva sestavljena, kako delujejo in kako učinkovita so.

Brošura, ki je pred vami, povzema poznavanje cepiv sredi meseca maja 2021, a se je urejanje žal zavleklo do konca leta. V prihodnjih mesecih in letih bo na tem področju zagotovo veliko novega, saj se bodo pojavljale nove variante virusa in izboljšane verzije cepiv. Za zdaj pa je to verjetno najbolj celovit pregled cepiv proti virusu SARS-CoV-2 v slovenščini.

Marko Dolinar

Vsebina

Splošno o virusih in variantah SARS-CoV-2	5
Molekularnobiološke značilnosti SARS-CoV-2 in prvi aktualni mutanti	6
Interakcija SARS-CoV-2 s tarčno celico	8
RNA-cepiva	9
Značilnosti cepiva proizvajalca Moderna	10
Rezultati kliničnih testiranj cepiva proizvajalca Moderna	11
Značilnosti cepiva proizvajalca Pfizer / BioNTech	12
Rezultati kliničnih testiranj cepiva proizvajalca Pfizer / BioNTech.....	13
Primerjava mRNA-cepiv.....	14
Vektorska cepiva	15
Značilnosti cepiva proizvajalca AstraZeneca.....	16
Rezultati kliničnih testiranj cepiva proizvajalca AstraZeneca	17
Značilnosti cepiva proizvajalca Johnson & Johnson / Janssen.....	18
Značilnosti cepiva proizvajalca Gamaleya.....	19
Značilnosti cepiva proizvajalca CanSino	21
Primerjava vektorskih cepiv	22
Inaktivirana cepiva.....	23
Značilnosti cepiv proizvajalcev Sinopharm in Sinovac.....	24
Značilnosti cepiva proizvajalca Bharat Biotech.....	25
Primerjava inaktiviranih cepiv.....	26
Cepiva iz delov patogena	27
Značilnosti cepiva proizvajalca Novavax	28
Značilnosti cepiva proizvajalca Vector	30
Značilnosti cepiva proizvajalca VBI Vaccines.....	31
Primerjava cepiv iz delov patogena.....	32
Uporabnost obstoječih cepiv proti novim variantam virusa SARS-CoV-2.....	33
Opuščena cepiva.....	35
Viri.....	37

Seznam kratic in okrajšav

ACE2	angiotenzin konvertaza 2
APC	antigen predstavivene celice
CAR	receptor za coxsackieviruse in adenoviruse
CoV	koronavirus
COVID-19	koronavirusna bolezen 2019
DNA	deoksiribonukleinska kislina
DSPC	1,2-distearoil- <i>sn</i> -glicero-3-fosfoholin
EMA	Evropska agencija za zdravila
ER	endoplazemski retikulum
eVLP	virusom podobni delec z ovojnico
HBCD	2-hidroksipropil- β -ciklodekstrin
HEK293	človeške embrionalne ledvične celice 293
ITR	obrnjene končne ponovitve
MBP	vezavni protein za maltozo
MHC	poglavitni histokompatibilnostni kompleks
mRNA	informacijska RNA
ORF	odprt bralni okvir
PEG	polietilenglikol
PER.C6	človeške embrionalne celice mrežnice
RBD	receptor vezavna domena
RNA	ribonukleinska kislina
SARS	hudi akutni respiratorni sindrom
TMPRSS2	transmembranska serinska proteaza 2
VLP	virusom podobni delec
WHO	Svetovna zdravstvena organizacija

Splošno o virusih in variantah SARS-CoV-2

Marko Dolinar

Virusi so sestavljeni iz virusne ovojnice in v njej shranjene nukleinske kisline (DNA ali RNA). Ta zapisuje proteine, potrebne za vstop virusa v tarčno celico in njegovo razmnoževanje. Virusu rečemo tudi virusni delec ali virion.

Ovojnica je pri številnih virusih sestavljena samo iz proteinov, pri drugih pa je lahko zunanji ovoj iz dvojne plasti lipidov, med katere so vstavljeni proteini. Virus SARS-CoV-2 ima lipidno ovojnico, ki izhaja iz celičnih membran celic, v katerih se je virus predhodno namnožil. Med virusnimi proteini ovojnice je pri SARS-CoV-2 še posebej pomemben protein bodice (označujemo ga s črko S), s katerim se virus pripne na tarčni protein (receptor) na površini človeških celic, kar predstavlja prvo stopnjo okužbenega cikla.

Proteini so sestavljeni iz več deset, največkrat pa nekaj sto aminokislin, ki so nanizane v zaporedje in se zvijejo v tridimenzionalno strukturo. Zaporedje aminokislin določa, v kakšno obliko se bo protein zvil in prav oblika proteina je tista, ki omogoča njegovo pravilno delovanje. Pri virusih proteine običajno označujemo s kratkimi oznakami, ki jih uporabljamo tudi za poimenovanje genov, ki te proteine zapisujejo. Pri na novo opisanih organizmih in virusih včasih gene poimenujemo tudi z oznako ORF in številko. Pri tem ORF pomeni 'odprt bralni okvir', to je del genoma, ki ga celica lahko prebere kot zaključeno celoto in na njegovi osnovi sintetizira protein.

Pri virusih, ki ob hitrem razmnoževanju tudi mutirajo, se postopno spreminjajo posamezne aminokislinske zaporedje. Ko prvič določimo aminokislinsko zaporedje nekega proteina, bi to lahko označili kot prvotno zaporedje. Ko se na nekem mestu v zaporedju zaradi mutacije pojavi spremenjena aminokislina, ta mutirana mesta označimo tako, da navedemo najprej prvotno aminokislino, sledi zaporedna številka

aminokislina in na koncu nova aminokislina, npr. D614G pomeni, da je aminokislina D (asparaginska kislina) na mestu 614 zamenjana z aminokislino G (glicin). Uporabljamo namreč enočrkovne oznake aminokislin, sicer pa obstajajo tudi tričrkovne (npr. Asp za asparaginsko kislino, Gly za glicin).

Svetovna zdravstvena organizacija (WHO) stalno spremlja viruse, ki predstavljajo grožnjo za zdravje večjega števila ljudi. Pri virusu SARS-CoV-2, ki je sprožil koronavirusno pandemijo, vemo, da imajo mutirane variante virusa lahko precej drugačne lastnosti kot sprva opisane različice. WHO za vsako od variant, za katero sumijo, da bi lahko bila nevarna, določijo status 'pozornost vzbujajoče različice' (angl. *variant of concern*, VOC). Na te so potem epidemiologi še posebej pozorni in spremljajo njihovo širitev, kot je to trenutno aktualno z različico omikron. Poleg pozornost vzbujajočih različic WHO vodi tudi seznam 'zanimanje vzbujajočih različic' (angl. *variant of interest*, VOI).

Več kot eno leto od pojava epidemije virusa SARS-CoV-2 smo variante (lahko jih imenujemo tudi 'sevi') tega virusa poimenovali po državah, kjer so jih prvič opazili, oziroma od koder so se razširile v druge države po svetu. Poleg teh oznak so variante imele še številne kode, ki so bile za isto različico virusa v različnih podatkovnih bazah lahko različne. Konec maja 2021 pa je WHO sprejel odločitev o poimenovanju različic. Po novem so jih, tudi za nazaj, poimenovali po grških črkah. Prva opisana (kitajska oz. vuhanska) različica ni dobila posebnega imena. Tako imenovana britanska (oz. angleška) različica je dobila oznako alfa, južnoafriška beta, brazilska gama, indijska pa delta. V tem biltenu, ki vključuje podatke, relevantne maja 2021, uporabljamo še oznake, ki so bile v veljavi takrat.

Molekularnobiološke značilnosti SARS-CoV-2 in prvi aktualni mutanti

Anže Karlek in Saša Slabe

Splošne značilnosti SARS-CoV-2

Koronavirusi (CoV) spadajo v družino *Coronaviridae*, ki se deli na dve poddružini, *Letovirinae* in *Orthocoronavirinae*. Slednja ima štiri rodove, in sicer alfakoronaviruse, betakoronaviruse, gamakoronaviruse in deltakoronaviruse. SARS-CoV-2, ki povzroča koronavirusno bolezen COVID-19, spada med betakoronaviruse.

Koronavirusi pri ljudeh povzročajo predvsem dihalna obolenja, pri živalih pa prebavna. Pri ljudeh so simptomi v glavnem blagi, izjema so imunokompromitirane osebe, pri katerih se lahko razvije pljučnica ali bronhitis. Vse do prve epidemije leta 2003, ki jo je povzročil SARS-CoV, so okužbe s koronavirusi veljale za nesmrtonosne. SARS-CoV-1 je prešel na človeka z živali (najverjetneje netopirjev) – torej gre za zoonotski prenos.

Struktura genoma SARS-CoV-2

Genom SARS-CoV-2 je enoverižna, pozitivno usmerjena RNA, dolga 29 903 nt. Sestavlja jo 14 odprtih bralnih okvirjev (ORF), ki zapisujejo 29 proteinov (slika 1). Molekula RNA vsebuje 3'- in 5'-neprevajajoči se regiji (3'- in 5'-UTR), 5'-kapo in poli(A)-rep na 3'-koncu. Na 5'-koncu kodirajoče regije je ORF1a/b, ki obsega velik del genoma in zapisuje poliprotein 1a (pp1a) ter poliprotein 1ab (pp1ab). Ostali odprti bralni okvirji zapisujejo strukturne proteine: protein bodice (S), membranski protein (M), protein ovojnice (E) in protein nukleokapside (N).

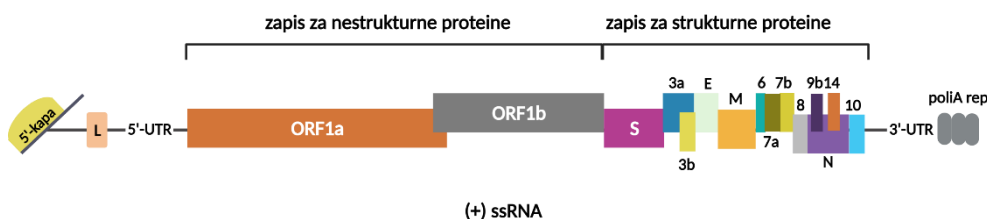
Po vstopu viriona v tarčno celico se genomna RNA prevede v poliproteina 1a in 1ab, ki se razcepita v 16 nestrukturiranih proteinov. Ti skupaj tvorijo replikacijsko-transkripcijski kompleks, ki se nahaja v veziklih z dvojno membrano. V teh veziklih poteka replikacija in transkripcija virusne RNA. Nastala mRNA služi kot matrica za sintezo virusnih strukturnih proteinov. Nukleotidno zaporedje genoma SARS-CoV-2 je 80-odstotno identično zaporedju virusa SARS-CoV(-1), ki je povzročil epidemijo leta 2002, in 54-odstotno identično z virusom MERS-CoV, ki je povzročil epidemijo leta 2012.

Protein bodice

Protein bodice (S) je glikoprotein virusne ovojnice, ki sodeluje v patogenezi COVID-19. Celoten protein bodice sestavlja 1273 aminokislinskih ostankov, ki so organizirani v dve področji, S1 in S2, med njima pa je cepitveno mesto.

Virus se veže na protein ACE2 na površini tarčnih celic z receptor vezavno domeno (RBD), ki je del področja S1. Domena RBD velja za najbolj variabilen del proteina S.

Sledi cepitev med S1 in S2, vendar obe podenoti ostaneta prostorsko blizu. Podenota S2 sodeluje pri spojitvi viriona in membrane tarčne celice. Postopek vezave virusa na tarčno celico je podrobneje opisan v naslednjem poglavju.



Slika 1: Shematski prikaz genoma virusa SARS-CoV-2. Molekula RNA vsebuje 5'-kapo, vodilno zaporedje (L), poliA rep in 3'- ter 5'-neprevajajoči se regiji (UTR). Kodirajoče zaporedje sestavljajo ORF1a, ORF1b, zapis za protein bodice (S), ORF3a, zapis za protein ovojnice (E), zapis za membranski protein (M), ORF6, ORF7a, ORF7b, ORF8, zapis za protein nukleokapside (N) in ORF10.

Prvi aktualni mutanti in njihov pomen

Pri podvojevanju virusne RNA v okuženi celici stalno prihaja do napak, ki se zaradi odsotnosti učinkovitih popravljalnih mehanizmov ne popravijo. Tako nastanejo mutacije, s tem pa novi sevi, ki imajo lahko pomembne posledice za globalno zdravstvo. Novi mutanti SARS-CoV-2 se lahko hitreje širijo med ljudmi, lahko povzročajo spremenjeno obliko bolezni, se izognejo nekaterim diagnostičnim testom in zmanjšajo učinkovitost tarčnih zdravil in/ali cepiv.

Virus SARS-CoV-2 sodi med viruse z dednim zapisom v obliki RNA, za katere sicer v splošnem velja, da pri vsaki podvojitvi pridobijo približno eno napako. Vendar pa koronavirusi zaradi prisotnosti popravljalnega encima ekso-ribonukleaze mutirajo s polovično hitrostjo virusa gripe in četrtno hitrosti virusa HIV.

Že v januarju 2020 se je pojavila mutacija **D614G**, ki se je hitro razširila po svetu in do junija 2020 nadomestila sev, ki so ga prvič identificirali na Kitajskem in katerega izvor še ni natančno preučen. Ta mutacija omogoča hitrejše in učinkovitejše pritrjevanje virusa na receptor na človeških celicah.

Britanski sev se je pojavil septembra 2020 v Angliji in je povezan s hitrejšim širjenjem bolezni, ki pa ne poteka v težji obliki. Sev definira 23 mutacij, od katerih je najpomembnejša **N501Y** na mestu, kjer se protein bodice veže na receptor ACE2 in

povzroči močnejše povezovanje ter tako večjo verjetnost okužbe. Druge pomembne mutacije so še **delecija Δ69/70**, ki prav tako spremeni interakcijo z ACE2, in **P681H**, ki pripomore k hitrejšemu nastajanju proteina bodice v celicah.

Južnoafriški sev se je prvič pojavil v oktobru 2020. Trenutno ni dokazov, ki bi kazali, da je povezan s težjim potekom bolezni, vendar pa se, zaradi mutacij v regiji za vezavo na receptor, lahko izogne protitelesom proti nemutirani obliki. Poleg mutacije **N501Y**, ki je enaka kot pri britanskem sevu, ima še dve pomembni mutaciji v regiji proteina bodice, ki se povezuje z receptorjem – **K417N** in **E484K**. Kombinacija teh mutacij spremeni obliko vezavnega dela in poveča možnost za pobeg imunskemu sistemu.

Brazilski sev so prvič opisali v januarju 2021 in ima 17 mutacij, najbolj značilne pa so mutacije, ki so prisotne tudi pri drugih sevih – **K417T**, **E484K** in **N501Y**. Različica je zelo podobna južnoafriškemu sevu in ima spremenjeno vezavo na receptor ACE2, hkrati pa analize kažejo na večjo možnost ponovne okužbe po že preboleli koronavirusni bolezni.

Nigerijski sev so odkrili avgusta 2020. Zanj je značilna mutacija **P681H**, ki je prisotna tudi pri britanskem sevu, a nima nobene druge mutacije, značilne za britansko varianto, pač pa nekatere druge. Trenutno ni nobenih dokazov, da bi se ta sev širil hitreje, povzročal težjo bolezen, ali vplival na delovanje cepiv.

Interakcija SARS-CoV-2 s tarčno celico

Urban Hribar

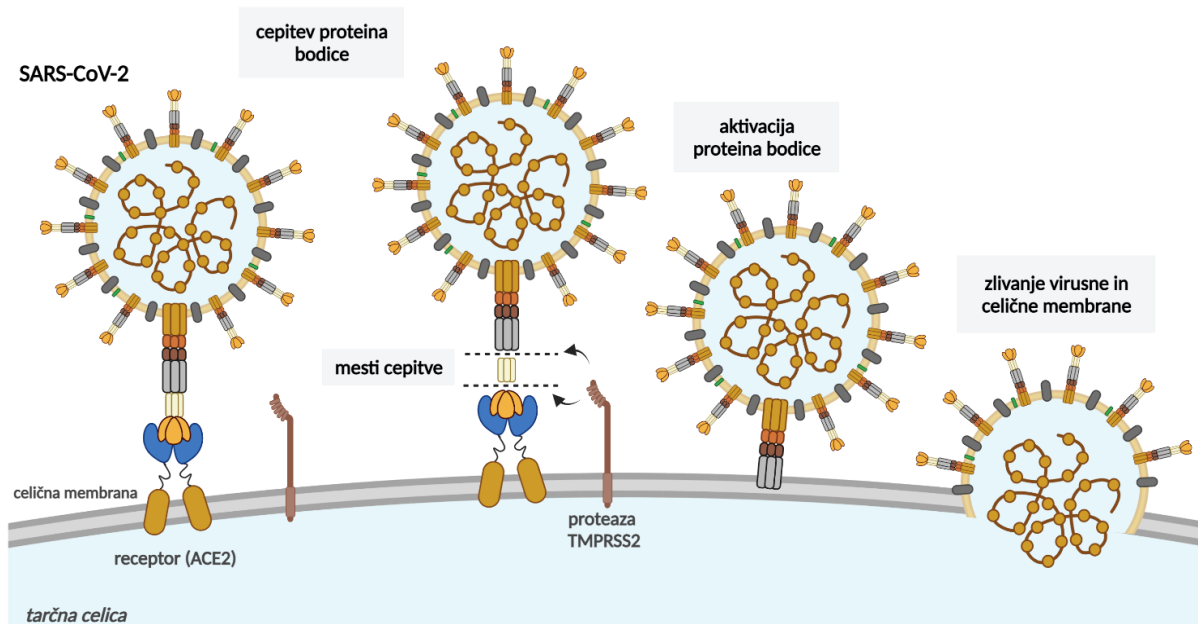
Virus SARS-CoV-2 je sestavljen iz več komponent. Genetski zapis nosi nukleinska kislina RNA, ki znotraj gostiteljske celice omogoča nastanek novih virusov. Virus sestavljajo tudi lipidna membrana, enaka tistim na gostiteljskih celicah, in štiri vrste strukturnih proteinov. Eden izmed teh je protein bodice, ki kot trimer (tri enake molekule skupaj), zasidran v virusno membrano, štrli iz virusa in mu omogoča interakcijo s tarčnimi celicami.

Pri okužbi s SARS-CoV-2 se virusni protein bodice veže na receptorski protein ACE2 na površini tarčnih celic. Encimi tarčne celice cepijo protein bodice na točno določenem mestu, kar omogoči njegovo aktivacijo. Aktivacija povzroči spremembo zgradbe proteina bodice, hkrati pa se virusna membrana zlije s celično membrano in virusna RNA se sprosti v notranjost celice (slika 2). Tam se virusna RNA začne podvojevati, sočasno pa se sintetizirajo tudi virusni proteini.

Aktivacija proteina bodice poteka najpogosteje na celični membrani, kjer protein cepi

predvsem proteaza TMPRSS2. Alternativni način aktivacije pa poteka v primerih, ko celica z endocitozo "pogoltne" virusni delec in sicer tako, da virus obda z lipidnim ovojem, ki ga ločuje od notranjosti celice. Tako obdan virus lahko napade encim katepsin L, za katerega je znano, da se pogosto izloča iz celičnih organelov lizosomov. Proteaza katepsin L cepi protein bodice in ga s tem aktivira, tako da pride do zlivanja lipidnega ovoja z virusom in lizosoma. Sledi delna razgradnja virusa, pri čemer RNA pobegne iz ovojnice in se sprosti v notranjost celice.

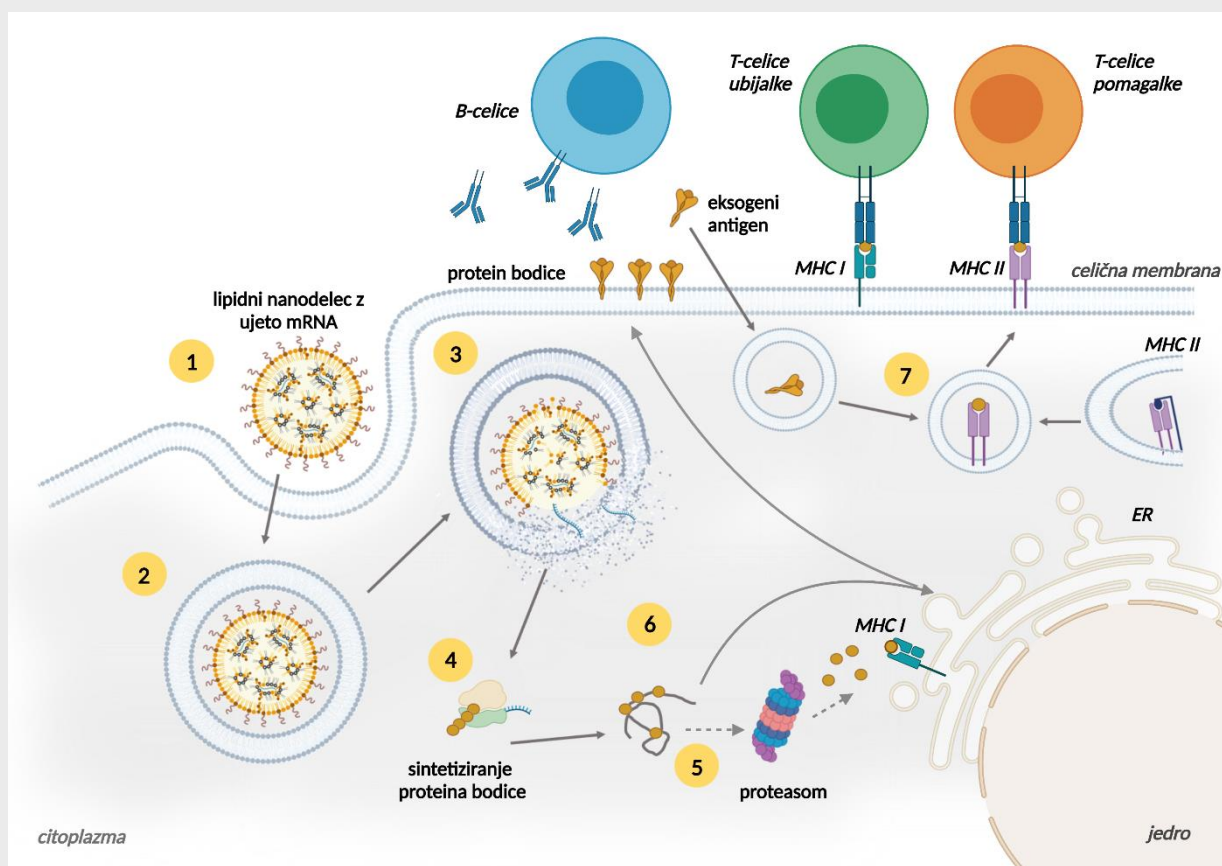
Razumevanje mehanizma vstopa virusa v celico nam razkriva možne tarče za razvoj protivirusnih zdravil. Širjenje okužbe v telesu bi lahko zaustavili z inhibicijo proteaz, ki omogočajo aktivacijo proteina bodice ter vstop virusne RNA v notranjost celice. Pri tem moramo upoštevati oba mehanizma aktivacije proteina bodice ter dejstvo, da nekatere celice najpogosteje uporabljajo prvi mehanizem aktivacije, nekatere pa drugega.



Slika 2: Interakcija virusa SARS-CoV-2 s tarčno celico. Virus SARS-CoV-2 se s proteinom bodice na svoji površini veže na celični receptor ACE2. V naslednjem koraku proteaza TMPRSS2 cepi protein bodice na točno določenem mestu, kar omogoči njegovo aktivacijo. Aktivacija povzroči spremembo zgradbe proteina in zlivanje virusne membrane s celično membrano. Poleg tega načina vstopa obstaja še alternativni način, pri katerem sodeluje proteaza katepsin L.

RNA-cepiva

RNA-cepiva so cepiva, ki temeljijo na molekuli mRNA in predstavljajo nov tip cepiv z velikim potencialom. Molekula mRNA vsebuje zapis za protein, ki je značilen za patogen, proti kateremu je cepivo namenjeno. Proteinu, proti kateremu nastanejo protitelesa, na splošno rečemo antigen. V primeru cepiv proti COVID-19, ki jih proizvajata Moderna in Pfizer / BioNTech, molekula mRNA nosi zapis za protein bodice virusa SARS-Cov-2, ta pa je zapakirana v lipidne nanodelce. Po vstopu v celico lipidni delec razpade, pri tem pa se molekula mRNA sprosti v citoplazmo, kjer poteče sinteza proteina bodice. To vodi v aktivacijo imunskega sistema, pri čemer nastanejo protitelesa in imunske celice (slika 3), ki tuji protein prepoznajo in uničijo. V človeškem telesu se tako shranijo navodila, kako se boriti s SARS-CoV-2, kar omogoča, da imunski sistem ob kasnejši okužbi z virusom zazna proteinske bodice na njegovi površini in prepreči njegovo razmnoževanje, s tem pa razvoj bolezni.



Slika 3: Mehanizem delovanja mRNA-cepiv. Lipidni nanodelci v procesu endocitoze vstopajo v celice (1, 2). V celici razpadejo (3), molekula mRNA pa se sprosti v citoplazmo. V citoplazmi se nato sintetizira protein bodice (4), ki se kasneje razgradi v proteasomu (5), del pa se prenese na površino celic (6). Peptidi, ki nastanejo po razgradnji proteina bodice, se na celični površini pojavijo vezani na molekule poglobitnega histokompatibilnostnega kompleksa I (MHC I). V primeru, da antigen z endocitozo vstopi v celice brez lipidov, se predstavi na površini s posredovanjem molekul MHC II (7). Sprožita se T-celični in B-celični imunski odziv.

Značilnosti cepiva proizvajalca Moderna

Martina Lokar in Mateja Žvipelj

Cepivo proizvajalca Moderna je namenjeno preprečevanju bolezni COVID-19, ki jo povzroča virus SARS-CoV-2. V prvi vrsti je namenjeno ljudem, starejšim od 18 let. Osnovano je na molekuli mRNA, ki nosi informacijo za sintezo proteina bodice, ki je v naravi prisoten na površini virusnega delca. Za učinkovito dostavo molekule mRNA do tarčnih celic jo v procesu proizvodnje zapakirajo v ovoj, zgrajen iz štirih različnih lipidov. Lipidni ovoj nima samo transportne vloge, ampak hkrati tudi zagotovi zaščito molekule mRNA pred razgradnjo in ji tako omogoči, da v celicah opravi svojo funkcijo.

Po vnosu molekule mRNA v celico pride do sinteze proteina bodice, ki sam po sebi ni nevaren, je pa za telo tuj in zato sproži imunski odziv. Pri tem nastajajo protitelesa, ki so sposobna prepoznati protein bodice, posledično pa tudi virus SARS-Cov-2. Protitelesa, ki jih človek po cepljenju razvije, omogočijo hitrejše in bolj učinkovito uničenje virusnih delcev, ki bi lahko zašli v telo. Tako osebo zaščitijo pred okužbo oziroma razvojem bolezni COVID-19.

Priprava cepiva poteka v dveh glavnih korakih. Najprej je potrebno sintetizirati molekule mRNA, kar poteka brez uporabe celic, in sicer s procesom *in vitro* transkripcije. Pri tem procesu v reakcijsko mešanico vnesemo potrebne gradnike, encime in matrico (DNA), ki predstavlja navodilo za sintezo molekul mRNA.

V drugem delu postopka tako nastale mRNA, ki so v vodnem okolju, pomešamo z lipidno fazo. Zaradi neugodnih interakcij med vodo in lipidi se slednji uredijo v kroglaste strukture (lipidne nanodelce), ki v svojo notranjost sprejmejo molekule mRNA. Take lipidne nanodelce lahko pripravimo relativno enostavno in hitro. Z dodatkom pomožnih snovi za uravnavanje pH, povečanje stabilnosti in lažje injiciranje pripravijo končno obliko cepiva, primerno za uporabo.

Cepivo je potrebno injicirati v mišico (intramuskularno); en odmerek volumna 0,5 ml vsebuje 100 µg mRNA. Za doseg polne zaščitenosti, ki jo to cepivo nudi (splošno velja, da zaščita ni 100 %), je potrebno prejeti 2 odmerka v priporočenem razmiku 28 dni. Cepljena oseba je v polni meri zaščiten po 14 dneh od prejema drugega odmerka.

Cepivo torej ne vsebuje virusa, ampak samo informacijo za sintezo ene izmed njegovih komponent, kar pomeni, da se po cepljenju bolezen COVID-19 ne more razviti. Poleg tega je molekula mRNA dokaj nestabilna in se v telesu kmalu razgradi. Dodatno varnost pri uporabi tega cepiva zagotavljajo lastnosti mRNA, saj ne more spremeniti dednega materiala človeka (ki je DNA), ali kako drugače toksično vplivati na telo. Pomembne prednosti mRNA-cepiv so med drugim tudi hiter razvoj in izdelava, cena proizvodnje je nizka, hkrati pa lahko proizvedemo velike količine cepiva.

Rezultati kliničnih testiranj cepiva proizvajalca Moderna

Katja Doberšek

Zasnova kliničnih študij – kako je cepivo mRNA-1273 pridobilo dovoljenje za uporabo

Trenutno potekajo tri klinične študije cepiva mRNA-1273 podjetja Moderna, ena izmed njih je v tretji fazi. Poteka od julija 2020 in glede na vmesne rezultate je v ZDA decembra 2020 pridobila dovoljenje EUA (angl. »*Emergency Use Authorization*«). To dovoljenje omogoča uporabo učinkovine v primeru kemične, biološke, radiološke ali jedrske grožnje, kar vključuje tudi kužne bolezni.

Rezultati študije P301

Učinkovitost

Cepivo po dveh odmerkih zagotavlja 95-odstotno zaščito proti pojavu COVID-19 pri mlajših od 65 let in 86-odstotno zaščito starejših od 65 let. Po enem odmerku zagotavlja 80-odstotno zaščito, zaščita pred hudim potekom bolezni pa je 100-odstotna. Odstopanj glede na spol in prisotnost kroničnih bolezni niso opazili.

Varnost

Najpogostejši neželeni učinki, ki so se pojavili pri večini testiranih prostovoljcev, so bili bolečina na mestu injiciranja (91,6 %), utrujenost (68,5 %), bolečine v mišicah (59,6 %) in sklepah (44,8 %) ter mrazenje (43,4 %). Od tega je 0,2–9,7 % ljudi potrebovalo zdravlila ali zdravniško pomoč. Resni neželeni učinki, ki so zahtevali zdravniško pomoč, so bili redki (1 %). Neželeni učinki so bili pogostejši po prejemu drugega odmerka cepiva in manj pogosti pri starejših od 65 let.

Česa še ne vemo?

Glede na dostopne podatke še nimamo informacij o trajanju zaščite tako po enem kot po dveh prejetih odmerkih cepiva. V preiskovano skupino so bili vključeni posamezniki, starejši od 18 let, zato še ne poznamo učinkovitosti in varnosti cepiva za otroke. Študije na nosečnicah še niso bile izvedene. Zaradi premajhnega števila testiranih ni znano, kakšna je učinkovitost cepiva proti prenašanju okužbe in ali preprečuje tudi pojav asimptomatske oblike COVID-19.

Značilnosti cepiva proizvajalca Pfizer / BioNTech

Jerneja Nimac in Peter Škrinjar

Cepivo pod lastniškim imenom Comirnaty (BNT162b2, nelastniško: Tozinameran) sta v sklopu projekta 'Svetlobna hitrost' razvili farmacevtski podjetji BioNTech in Pfizer. Cepivo spada med mRNA-cepiva za preprečevanje COVID-19, ki jo povzroča virus SARS-CoV-2.

Ključna komponenta cepiva Comirnaty je spremenjena molekula mRNA, ki je ujeta v majhne kroglaste strukture – lipidne nanodelce. Molekula mRNA nosi navodila za sintezo mutiranega proteina bodice virusa SARS-CoV-2. Zapis za ta protein tako ni popolnoma enak tistemu, ki ga najdemo na površini virusnega delca – nekoliko je spremenjen, kar izboljša lastnosti cepiva. Po prejemu odmerka cepiva molekula mRNA, ki je ujeta v lipidni nanodelec, vstopi v človeške celice, lipidni nanodelec zaradi pogojev v celici razpade, molekula mRNA pa se v citoplazmi prevede v virusni protein bodice (slika 3). Ta protein telo prepozna kot tujega, aktivira se imunski odziv, to pa sproži nastanek protiteles proti virusu oz. omenjenemu virusnemu proteinu. Ob naslednji okužbi s SARS-CoV-2 bodo ta protitelesa ščitila telo, saj bodo prepoznala virusni protein na površini in nevtralizirala virus, še preden bi se ta lahko namnožil.

Postopek priprave cepiva Comirnaty razdelimo na tri dele. V prvem koraku je potrebno v celicah *E. coli* namnožiti ustrezno sestavljeno

plazmidno DNA. Ta poleg zapisa za protein bodice vsebuje še promotor T7, 5'- in 3'-neprevajajoči se regiji ter poli(A) rep. Plazmidno DNA je po uspešni izolaciji potrebno linearizirati z ustreznim encimom.

Temu sledi drugi korak, in sicer *in vitro* transkripcija z RNA-polimerazo T7, ki izolirano matrično DNA prepíše v aktivno učinkovino tega cepiva – mRNA. Zaradi večje stabilnosti molekule mRNA se v procesu transkripcije hkrati doda analog 5'-kape. Na koncu sledi pakiranje molekul mRNA v lipidne nanodelce, ki nudijo zaščito in olajšan transport v celice. Da dobimo končni produkt, je potrebno lipidnim nanodelcem dodati še ostale komponente, ki uravnavajo pH in povečajo stabilnost cepiva.

Cepivo Comirnaty je dobavljivo v obliki sterilnega koncentrata, ki se tik pred intramuskularnim vnosom razredči z 0,9-odstotnim natrijevim kloridom. En odmerek vsebuje 30 µg mRNA. Za pridobitev zaščite sta potrebna dva odmerka v razmaku 21 dni, zaščita pa se razvije 7 dni po prejemu drugega odmerka. Cepivo je do uporabe potrebno shranjevati na ultra nizki temperaturi (to je med –80 °C in –60 °C), dva tedna pa ga je mogoče shranjevati tudi med –25 °C in –15 °C. Prednost tega cepiva je, da se molekula mRNA v gostiteljski celici ne podvojuje, prav tako se ne more vključiti v dedni material in ga spremeniti. V celicah je prisotna kratek čas, nato pa se razgradi.

Rezultati kliničnih testiranj cepiva proizvajalca Pfizer / BioNTech

Ana Maklin in Nika Zaveršek

Klinična testiranja

Proizvajalca Pfizer / BioNTech sta začetno klinično testiranje v Nemčiji (BNT162-01) začela s 4 kandidati: BNT162a1, BNT162b1, BNT162b2 in BNT162c2 ter 486 sodelujočimi. V 1. fazo kliničnega testiranja večje študije (C4591001) sta se uvrstila 2 kandidata za cepivo – BNT162b1 (zapis za domeno RBD proteina bodice) in BNT162b2 (zapis za celoten protein bodice). V 1. fazi je sodelovalo 195 prostovoljcev starih 1885 let, ki so prejeli 10, 20 ali 30 µg enega izmed 2 kandidatov. Rezultati so pokazali podobno učinkovitost in imunogenost obeh kandidatov. Zaradi manjše reaktogenosti in sistemskih odzivov so izbrali cepivo BNT162b2, ki je prešlo v fazo 2/3 kliničnih testiranj na večji populaciji.

Fazo 2/3 kliničnih testiranj so za BNT162b2 izvedli kot večnacionalno s placebom kontrolirano in dvojno slepo študijo. V študijo so bili vključeni kandidati, starejši od 16 let, z mediano starosti pri 52 letih. Veliko jih je imelo tudi kronične bolezni, kot so HIV, hepatitis C in hepatitis B. V testih niso smeli sodelovati posamezniki z oslabiljenim imunskim odzivom, vključno s tistimi, ki so prejeli imunosupresive. 43 548 kandidatov so razdelili približno na polovico: 21 720 so jih cepili z mRNA, 21 728 pa je prejelo placebo.

Prostovoljci, vključeni v študijo, so poročali o blagih in srednjih lokalnih ter sistemskih stranskih učinkih. Poročani lokalni stranski učinki so bili manjši pri placebo skupini in se niso povečali po drugem odmerku. Beležili so predvsem bolečino na mestu vboda. Sistemski stranski učinki so se povečali po drugem odmerku cepiva. Beležili so izčrpanost, glavobol, mrznenje, bolečino v mišicah in sklepih ter vročino. Mladi so v vseh primerih poročali več stranskih učinkov kot starejši (> 55 let).

Anafilaktična reakcija

Pri masovnem cepljenju so se pojavile redke anafilaktične reakcije na BNT162b2, za kar je verjetno kriv PEG (polietilen glikol) 2000, ki sestavlja lipidni delec, v katerega je ujeta mRNA.

Učinkovitost cepiva

Učinkovitost cepiva so 12 dni po prvem odmerku določili na 52-odstotno v primerjavi s placebom, 7 dni po drugem odmerku pa na 95-odstotno v primerjavi s placebom. Cepivo se je izkazalo za učinkovito tudi pri študiji na veliki populaciji v Izraelu, kjer so dokazali, da cepivo v zadostni meri prepreči hujšo obliko bolezni in da zadovoljivo zaščiti proti britanskemu sevu (B.1.1.7).

Nosečnice in otroci

Trenutno poteka faza 2/3 kliničnih testiranj tudi pri nosečnicah in mladih v starosti 12–15 let, načrtujejo pa tudi testiranje otrok starih 5–11 let in mlajših od 5 let.

Osvežitveni odmerek in nove variante

Pri prejemnikih 2. odmerka iz 1. faze bodo testirali še učinkovitost, varnost in imunogenost 3. odmerka cepiva po 6 ali 12 mesecih. Zaradi širjenja novih sevov virusa so testirali nevtralizacijsko sposobnost vzorcev serumov cepljenih prostovoljcev na rekombinantnih virusih z mutacijami novih sevov. Vsi serumski vzorci so bili deloma sposobni nevtralizacije novih variant. Nevtralizacija južnoafriške variante B.1.351 je bila kar za 2/3 slabša od nevtralizacije originalnega seva. Potekajo tudi klinična testiranja modificiranega cepiva, ki bi bolje delovalo proti varianti B.1.351.

Primerjava mRNA-cepiv

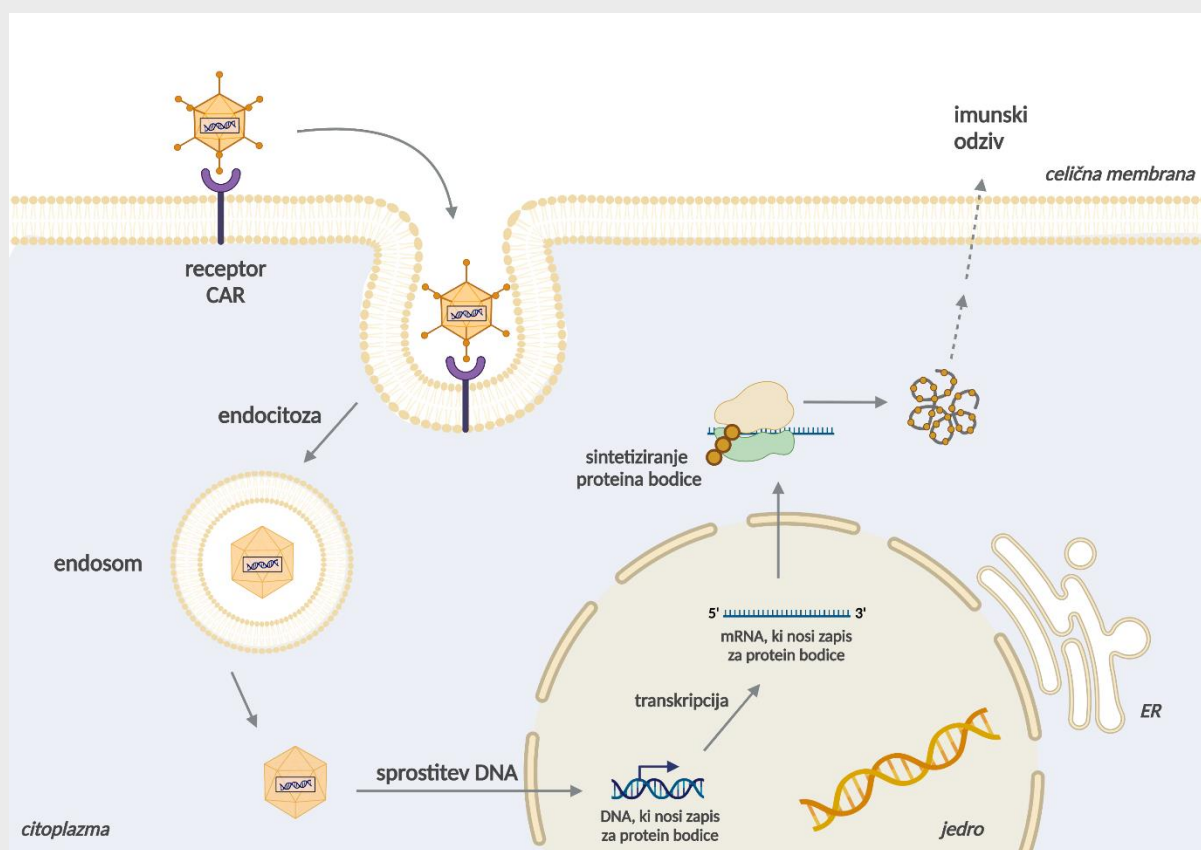
V Evropski uniji sta na voljo sta dve RNA-cepivi, ki sta si v marsičem podobni, vseeno pa so med njima tudi pomembne razlike, kakor je razvidno iz tabele 1.

Tabela 1: Primerjava mRNA-cepiv (stanje maja 2021).

	Moderna	Pfizer / BioNTech
Ime	mRNA-1273	BNT162b2, Comirnaty, tozinameran
Tip cepiva	mRNA	mRNA
Način injiciranja	v mišico (intramuskularno)	v mišico (intramuskularno)
Redčenje	/	tik pred uporabo: redčenje z 0,9 % raztopino NaCl
Doza	dve dozi po 100 µg (druga doza po 28 dneh)	dve dozi po 30 µg (druga doza po 21 dneh)
Zaščita	14 dni po prejemu drugega odmerka	7 dni po prejemu drugega odmerka
Shranjevanje	-20 °C (do 6 mesecev) v temi	-70 °C (do 6 mesecev) v temi
Učinkovitost	94,1 %	95 %
Starost	18 let in več	16 let in več
Odobreno v EU	da	da
Sestava	Stabilizator: saharoza. Pomožne snovi: trometamol (Tris), Tris/HCl, očetna kislina (CH ₃ COOH), natrijev acetat (CH ₃ COONa). Lipidi: holesterol, DSPC, SM-102, PEG2000-DMG.	Stabilizator: saharoza. Pomožne snovi: NaCl, KCl, KH ₂ PO ₄ , Na ₂ HPO ₄ . Lipidi: holesterol, DSPC, ALC-0315, ALC-0159.
Opomba	Molekula mRNA ne more spremeniti dednega materiala. Nudita 100-odstotno zaščito pred hudim potekom bolezni COVID-19.	

Vektorska cepiva

Vektorska cepiva so cepiva, ki za vnos zapisa za določen antigen v celico izkoriščajo za človeka **nenevarne viruse**. Primer takšnih virusov so adenovirusi. Te spremenijo tako, da jim izbrišejo gene, ki so pomembni za podvajanje in prepisovanje adenovirusne DNA, vstavijo pa zapis za antigen. V primeru cepiv proti COVID-19 (AstraZeneca / Oxford University, Johnson & Johnson / Janssen, Sputnik V in CanSino) vstavijo zapis za protein bodice. Tako spremenjeni adenovirusi po cepljenju vstopijo v celice in rekombinantno DNA sprostijo v jedro. DNA se prepíše v mRNA, ta se prenese v citoplazmo, kjer se sintetizira protein bodice (slika 4). Prisotnost tega proteina povzroči močan imunski odgovor. Ta je tako celični kot humoralni. Izraz **celični imunski odziv** pomeni, da nastanejo imunske celice (limfociti T), ki so sposobne prepoznati okužene celice in jih uničiti. **Humoralni odziv** pa se nanaša predvsem na razvoj protiteles v limfocitih B. Protitelesa nato krožijo po krvi in vežejo tuje proteine (kot je npr. protein bodice), proti katerim so se razvila.



Slika 4: Mehanizem delovanja vektorskih cepiv. Gensko spremenjeni adenovirusi se vežejo na receptor CAR in vstopijo v človeške celice, kjer v jedro sprostijo rekombinantno DNA. Tam v procesu transkripcije nastane mRNA, ki nosi zapis za virusni protein bodice. Molekula mRNA se nato transportira v citoplazmo, kjer se prične sinteza proteina bodice.

Značilnosti cepiva proizvajalca AstraZeneca

Karin Dobravc Škof in Matija Ruparčič

Cepivo britansko-švedskega farmacevtskega podjetja AstraZeneca so zasnovali raziskovalci Univerze v Oxfordu (Velika Britanija). Namenjeno je zaščititi pred okužbo z virusom SARS-CoV-2, ki povzroča bolezen COVID-19. Deluje po principu vektorskega sistema z adenovirusom. Cepivo vsebuje gensko spremenjen šimpanzji adenovirus ChAdOx1, ki zapisuje glikoprotein bodice virusa SARS-CoV-2. Adenovirusu so predhodno izbrisali gene, ki so ključni za podvajanje in prepisovanje adenovirusne DNA.

Gensko spremenjeni adenovirusi po cepljenju vstopijo v človeške celice, kjer v jedro sprostijo rekombinantno DNA. Tam nato v procesu prepisovanja nastane mRNA z zapisom za protein bodice, nato pa se mRNA transportira v citoplazmo, kjer se prične sinteza proteina.

Nastali glikoprotein bodice sam po sebi ni nevaren, vendar pa ga celica prepozna kot tujega in zato sproži imunski odgovor, pri čemer nastanejo protitelesa, ki specifično prepoznajo ter nevtralizirajo protein. Cepljenje omogoča telesu vzpostaviti dovolj veliko zalogo protiteles in imunskih celic, ki bodo ob morebitni okužbi prepoznali proteine bodice na virusu SARS-CoV-2 in ga pravočasno uničile, preden bi prišlo do razvoja bolezni.

Priprava cepiva se začne s sintezo rekombinantne adenovirusne DNA. S homologno rekombinacijo so iz DNA naravnega

adenovirusa ChAdOx1 izbrisali gen E1, ki je ključen za aktivacijo vseh ostalih adenovirusnih genov, na njegovo mesto pa so umestili gen, ki vsebuje informacijo za sintezo glikoproteina bodice. Poleg tega so izbrisali tudi gen E3, ki za pripravo gensko spremenjenih adenovirusov ni potreben, del gena E4 pa so zamenjali z ekvivalentom iz človeškega adenovirusa HuAd5.

Tako pripravljeno DNA so nato vnesli v gensko spremenjene človeške embrionalne ledvične celice (HEK293), ki v genomu vsebujejo gen E1 iz adenovirusa HuAd5. S tem pristopom (transkomplementacije) dosežejo nastajanje rekombinantnih adenovirusov, ki jih izolirajo z ultracentrifugiranjem v gradientu CsCl. Izoliranim virusom za konec dodajo še pomožne snovi, ki služijo kot emulgatorji, uravnalci pH in prezervativi.

Cepivo se injicira v mišico (intramuskularno), in sicer v odmerku 0,5 mL. Če želimo doseči največjo možno zaščito, ki jo cepivo nudi, se je potrebno po 12 tednih cepiti še z drugim odmerkom; s tem dosežemo 82-odstotno zaščito. Cepivo je namenjeno osebam, starejšim od 18 let. Zaradi adenovirusnega proteinskega ovoja (nukleokapside), ki ščiti rekombinantno DNA, vektorskih cepiv ni potrebno hraniti pri zelo nizkih temperaturah, zato jih hranimo v hladilniku (2–8 °C), kjer so obstojna nekaj mesecev.

Rezultati kliničnih testiranj cepiva proizvajalca AstraZeneca

Andrej Race

Zasnova kliničnih študij in učinkovitost

AstraZeneca je 7. decembra 2020 objavila rezultate 4 kliničnih študij svojega cepiva AZD1222. Te so vključevale 17 177 udeležencev v Veliki Britaniji, Braziliji in Južni Afriki. Rezultati so pokazali 76-odstotno učinkovitost cepiva in 67-odstotno zmanjšanje prenosa virusa. Dne 22. marca 2021 so objavili rezultate tretje faze klinične študije v ZDA, kjer trdijo, da je učinkovitost cepiva 79-odstotna, čeprav neodvisna komisija zdravstvenih strokovnjakov trdi, da je do deset odstotkov manjša.

Povečana učinkovitost z daljšim intervalom med odmerki

Opazili so, da je učinkovitost večja (90-odstotna) pri osebah, ki so prejele polovično prvo dozo. Do tega verjetno pride, ker manjša prva doza omogoča hitrejši razvoj spominskih imunskih celic, pri čemer to lahko dosežemo

tudi z večjim intervalom med odmerki. Ugotovitev, da je 12-tedenski interval med odmerki najuspešnejši, podpira to hipotezo.

Varnost in stranski učinki

Poleg običajnih stranskih učinkov, ki se pojavljajo tudi po cepljenju z drugimi cepivi, se je pri tem pojavilo še možno povečano tveganje za nastanek krvnih strdkov. Evropska agencija za zdravila (EMA) je objavila, da te povezave ni, vendar se je izkazalo, da je cepivo lahko povezano z zelo redkimi primeri nastanka krvnih strdkov v povezavi s trombocitopenijo. Pri 20 milijonih cepljenih v Veliki Britaniji in v Evropski uniji so zabeležili skupaj 25 primerov te bolezni. Odbor je menil, da dokazana učinkovitost cepiva pri preprečevanju hospitalizacije in smrti zaradi COVID-19 odtehta zelo majhno verjetnost za razvoj te redke bolezni.

Značilnosti cepiva proizvajalca Johnson & Johnson / Janssen

Mirsad Mešić

Cepivo Johnson & Johnson / Janssen (JNJ-78436735 ali Ad26.COVID.S) je enodozno virusno vektorsko cepivo, osnovano na človeškem adenovirusu 26. Ta je spremenjen tako, da vsebuje gen za protein bodice virusa SARS-CoV-2 v stabilizirani konformaciji. Stabilizirana različica proteina bodice vključuje dve mutaciji. Običajno prisotni aminokislini na mestih 986 in 987 sta zamenjani s prolinom (K986P, V987P), uvedena pa je še mutacija mesta cepitve s furinom (R682S, R685G).

Po injiciranju cepiva v telo se adenovirusi vežejo na proteine na površini celic. Celica virus zajame v mehurček in ga potegne vase. Ko vstopi v celico, adenovirus pobegne iz endosoma in potuje do jedra ter vanj potisne svojo DNA. V jedru pride do sinteze mRNA za protein bodice, čemur sledi prenos mRNA v citoplazmo in prevajanje RNA v protein. Nastali proteini bodice se prenesejo na celično površino. Štrleče bodice in fragmentirane proteine lahko potem prepozna imunski sistem.

Genom adenovirusa je linearna, nesegmentirana, dvoverižna molekula DNA z obrnjenimi zaporedji končnih ponovitev (ITR) na obeh koncih. Vektorski sistem za razmnoževanje Ad26 je sestavljen iz adapterskega plazmida in kozmida. Adapterski plazmid vsebuje levi konec genoma (levi ITR in signal za pakiranje), namesto regije E1 pa vsebuje zapis za protein bodice. Navzdol od regije E1 je zaporedje dolžine 2,5 kb in omogoča homologno rekombinacijo s kozmidom. Kozmid vsebuje večino preostalega

genoma adenovirusa, ki pa ima izbrisano regijo E3 in spremenjen odprti bralni okvir 6 regije E4 (E4orf6). Cepiva na osnovi vektorjev Ad26 izdelujejo z uporabo gojenih embrionalnih celic mrežnice (PER.C6), človeške celične linije, ki omogoča nastanek adenovirusov, ki sami niso sposobni replikacije. Celice namreč vsebujejo gen E1, ki pri rekombinantnih adenovirusih ni prisoten, da se virus po prejemu cepiva ne more več razmnoževati.

Cepivo Janssen COVID-19 vključuje naslednje sestavine: rekombinantni adenovirus tipa 26, ki ni sposoben podvojevanja in nosi zapis za protein bodice virusa SARS-CoV-2, monohidrat citronske kisline, trinatrijev citrat dihidrat, etanol, 2-hidroksipropil- β -ciklodekstrin (HBCD), polisorbit 80 in natrijev klorid.

Klinične študije so pokazale, da je imel en odmerek cepiva v ZDA 72-odstotno učinkovitost in nižjo učinkovitost (66 % v Latinski Ameriki, 57 % v Južni Afriki) v državah, kjer so razširjene bolj nalezljive različice. Cepivo nudi 85-odstotno učinkovitost pri zaščiti pred hospitalizacijo v vseh delih sveta.

Cepivo se injicira v nadlaktno mišico, imunost se razvije dva tedna po cepljenju. Cepivo se shranjuje v hladilniku pri temperaturi med 2 °C in 8 °C. Najpogostejši neželeni učinki, ki se običajno pojavijo v enem ali dveh dneh po prejemu cepiva, so: rdečina na mestu injiciranja, oteklina, utrujenost, glavobol, bolečine v mišicah. ZDA so cepivo odobrile za nujno uporabo 27. februarja 2021, EU pa 11. marca 2021.

Značilnosti cepiva proizvajalca Gamaleya

Paula Horvat in Almina Tahirović

Sputnik V je vektorsko cepivo proti SARS-CoV-2, ki so ga razvili na Raziskovalnem inštitutu za epidemiologijo in mikrobiologijo Gamaleya v Rusiji. Je prvo registrirano cepivo proti SARS-CoV-2 na svetu, ime pa je dobilo po prvem sovjetskem vesoljskem satelitu. Cepivo je na voljo v dveh oblikah, in sicer v tekoči in liofilizirani. Liofilizirano različico cepiva je lažje prevažati, saj je ni potrebno shranjevati pri nizki temperaturi. Po podatkih Ministrstva za zdravje Ruske federacije naj bi cepivo zagotavljalo imunost proti virusu SARS-CoV-2, ki povzroča COVID-19, do dve leti.

Z vektorskimi cepivi lahko v celico vnesemo in izrazimo gene z zapisi za antigene, ki jih želimo predstaviti imunskemu sistemu. Ruski raziskovalci so kot vektor uporabili adenovirus. Adenovirusom so izbrisali gen E1, ki je odgovoren za aktivacijo vseh ostalih adenovirusnih genov, na njegovo mesto pa vstavili zapis za protein bodice. Takšen adenovirus ne more povzročiti bolezni, lahko pa z njim vnesemo v celice zapis za koronavirusni protein S. Celice, v katere vstopi tako prirejen adenovirus, na osnovi zapisa sintetizirajo protein bodice, imunski sistem pa ga nato prepozna kot tujek in sproži nastanek protiteles, ki nas varujejo pred okužbo.

Sputnik V je cepivo z dvema odmerkoma. Prvi odmerek vsebuje adenovirusni vektor 26 (Ad26; 1×10^{11} virusnih delcev) z vstavljenim zapisom za protein bodice. Ponovno cepljenje se izvede 21 dni po prejemu prvega odmerka. Drugi odmerek vsebuje adenovirusni vektor 5 (Ad 5; 1×10^{11} virusnih delcev), ki ga pripravijo na enak način kot Ad26. Takšen režim cepljenja naj bi najučinkoviteje aktiviral imunski sistem in zagotavljal dolgotrajno imunost. Približna cena cepiva je 7,5 USD na odmerek in se priporoča za osebe, ki so starejše od 18 let. Cepivo Sputnik V poleg aktivne učinkovine vključuje naslednje sestavine: tris-(hidroksimetil)-aminometan, natrijev klorid, saharozo, magnezijev klorid heksahidrat, dinatrijev EDTA dihidrat, polisorbit 80, etanol in vodo.

Predklinična in klinična testiranja cepiva Sputnik V

Pred začetkom kliničnih testiranj so cepivo Sputnik V testirali na poskusnih živalih. Te so najprej cepili, nato pa okužili z virusom SARS-CoV-2 in ugotovili, da jih je cepivo zaščitilo pred okužbo s tem virusom.

Faza I in II

Prva faza kliničnih testiranj je potekala med 18. junijem in 3. avgustom 2020 ter vključevala 76 prostovoljcev. Najpogostejši neželeni učinki, o katerih so poročali prostovoljci, so bili bolečina na mestu vboda (58 %), povišana telesna temperatura (50 %), glavobol (42 %), utrujenost (28 %) in bolečina v mišicah ter sklepov (24 %). Resnih neželenih učinkov niso zabeležili. Neželeni učinki so bili pogostejši po prejemu drugega odmerka. Na podlagi rezultatov so zaključili, da je cepivo varno in sproži močan humoralni in celični imunski odziv.

Faza III

Tretja faza kliničnih testiranj se je začela 7. septembra 2020. Poteka v 25 bolnišnicah in poliklinikah v Moskvi. V študijo je vključenih 21 977 posameznikov, starejših od 18 let, ki so jih naključno razdelili v dve skupini, pri čemer je ena skupina prejela cepivo, druga pa placebo. Vsi vključeni so podpisali informirano soglasje in opravil zdravniški pregled. Iz študije so izključili bolnike s HIV, hepatitisom B in C ter sifilisom, prav tako v študiji niso sodelovali posamezniki, ki so že preboleli COVID-19, prejeli imunosupresivno terapijo v zadnjih treh mesecih, darovali kri v zadnjih dveh mesecih, zboleli za anoreksijo, v preteklosti odvisnih od alkohola in tistih, ki so na mestu injiciranja imeli veliko tetovažo.

Učinkovitost

Cepivo naj bi po dveh odmerkih zagotavljalo 91,6-odstotno zaščito proti COVID-19. Zaščita naj bi veljala za vse starostne skupine, vključno s starejšimi od 60 let.

Varnost

Neželeni učinki cepiva, ki so se pojavili, so bili običajno blagi. Največkrat se je pojavila bolečina na mestu injiciranja, utrujenost in rahlo povišana telesna temperatura. Tekom izvajanja študije so zabeležene štiri smrti, tri v cepilni skupini, eno pa v skupini, ki je prejela placebo. Nobena smrt naj ne bi bila povezana s cepljenjem.

Sputnik V – AstraZeneca: preskusi cepiv proti COVID-19

Sklad RDIF (Russian Direct Investment Fund), inštitut Gamaleya, AstraZeneca in R-Pharm so 21. decembra 2020 podpisali sporazum o razvoju in izvajanju programa kliničnih raziskav za oceno imunogenosti in varnosti kombinirane uporabe ene od komponent cepiva Sputnik V, ki ga je razvil inštitut Gamaleya, in ene od komponent cepiva AZD1222, ki sta ga razvili AstraZeneca in Univerza v Oxfordu.

Značilnosti cepiva proizvajalca CanSino

Urška Fajdiga in Ernestina Lavrih

Ad5-nCoV oz. Convidecia je cepivo proti okužbi z novim koronavirusom, ki so ga razvili v kitajskem podjetju CanSino Biologics v sodelovanju s Pekinškim inštitutom za biotehnologijo in kitajsko Vojaško medicinsko akademijo. Je vektorsko cepivo na osnovi okvarjenega adenovirusnega vektorja tipa 5, ki nosi zapis za protein bodice virusa SARS-CoV-2.

Cepivo naj bi 28 dni po cepljenju zagotavljalo 65-odstotno zaščito pred okužbo. Cepivo se injicira v mišico; posameznik prejme en odmerek cepiva s 5×10^{10} virusnimi delci. Hranimo ga v hladilniku (2–8 °C). Najprej je bilo odobreno na Kitajskem, Madžarskem, v Pakistanu, Mehiki in Čilu (stanje aprila 2021).

Uporabljenemu adenovirusu Ad5 so izbrisali zgodnje gene, ki so v regijah E1 in E3. V odsotnosti genov E1 se virus ne more razmnoževati, z izbrisom regije E3 pa je onemogočena razgradnja gostiteljske celice. V rekombinantni vektor so vstavili gen za protein bodice, ki so mu dodali zapis za signalni peptid tkivnega aktivatorja plazminogena za povečano izražanje v sesalskih celicah.

Po cepljenju gensko spremenjeni adenovirusi vstopijo v gostiteljske celice, kjer v jedro sprostitjo rekombinantno DNA. Nastanejo proteini bodice, ki jih celice predstavijo imunskemu sistemu.

V primeru predhodne okužbe z adenovirusi se pojavi problem predobstoječe imunosti. Adenovirusi so imunogeni že sami po sebi, zato so po okužbi z njimi prisotne spominske celice. Nevtralizirajoča protitelesa proti adenovirusom že v majhnih koncentracijah okrnijo privzem vektorja v gostiteljske celice, kar posledično pomeni zmanjšano učinkovitost cepiva.

Imunogenost in učinkovitost so sprva preverjali na miših in dihurjih, pri čemer so različne skupine prejemale različno visoke odmerke cepiva intranazalno (v nosnico) ali intramuskularno (v mišico). Po cepljenju so jih okužili s SARS-CoV-2 in ugotovili, da so bili odmerki zadostni za zaščito pred okužbo s koronavirusom, pri čemer se je intranazalno odmerjanje izkazalo kot bolj učinkovito.

V 1. fazi klinične študije je sodelovalo 108 zdravih prostovoljcev, starih med 18 in 60 let. Razdeljeni so bili v 3 skupine, vsaka je prejela višji odmerek cepiva intramuskularno v roko: 5×10^{10} virusnih delcev/0,5 mL; 1×10^{11} virusnih delcev/mL; $1,5 \times 10^{11}$ virusnih delcev/1,5 mL. Po vseh odmerkih se je že 14 dni po cepljenju pojavila zadostna imunost. Ker ni bilo prijavljenih hudih negativnih stranskih učinkov, so lahko nadaljevali z 2. fazo kliničnih študij.

V 2. fazi je sodelovalo 508 zdravih prostovoljcev: 253 oseb je prejelo cepivo z 1×10^{11} virusnih delcev, 129 oseb cepivo s 5×10^{10} virusnih delcev, 126 oseb pa je prejelo placebo. Cepivo so prejeli intramuskularno v roko. Stranski učinki, o katerih so poročali udeleženci, so bili blagi do zmerni - najpogosteje povišana telesna temperatura, glavobol in/ali bolečina na mestu injiciranja. Manjši odmerek (5×10^{10} virusnih delcev) je spodbudil zadosten imunski odziv in malenkost blažje stranske učinke, zato so ta odmerek tudi določili kot varnega in učinkovitega. Tretja faza kliničnih študij še poteka – ko bodo znani rezultati, bomo več vedeli o dejanski učinkovitosti cepiva na dolgi rok in sposobnosti preprečevanja prenosa okužbe.

Primerjava vektorskih cepiv

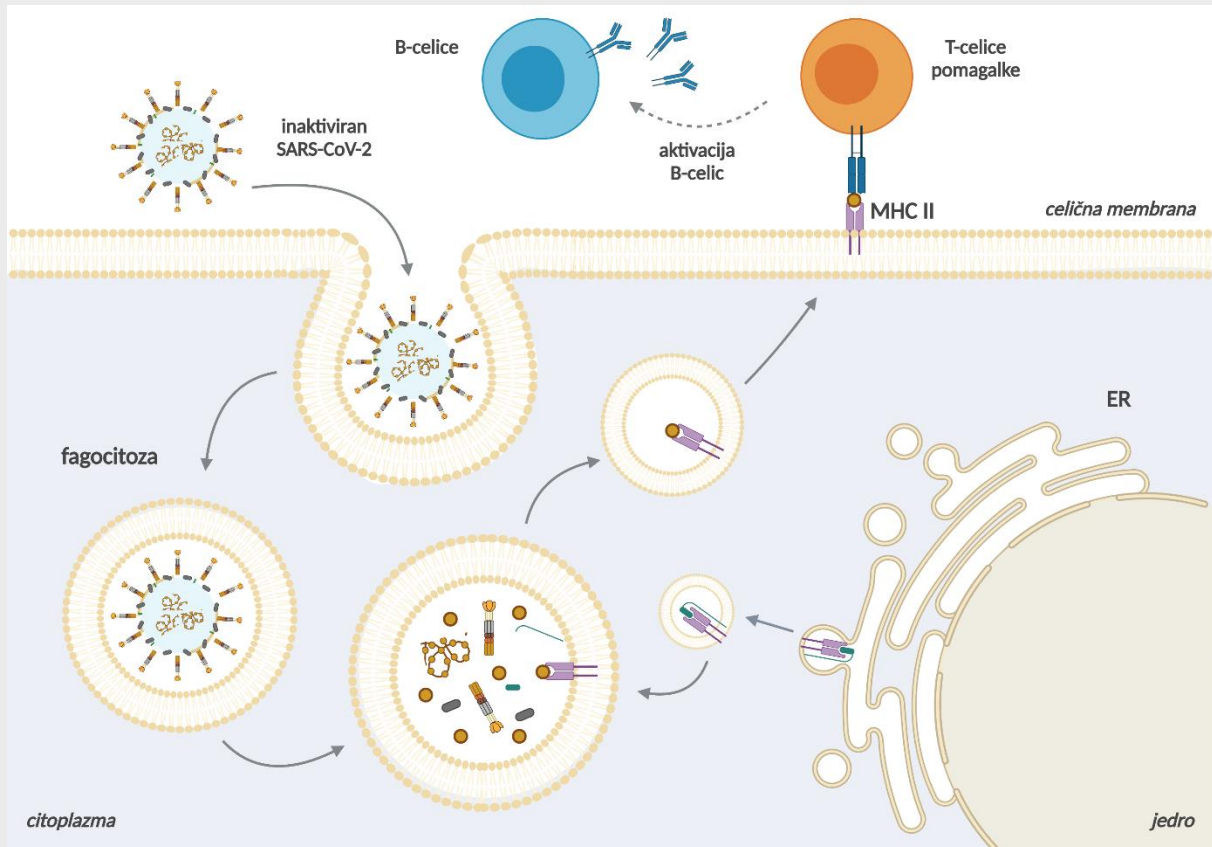
Tabela 2: Primerjava vektorskih cepiv (stanje maja 2021).

	AstraZeneca	Johnson & Johnson / Janssen	Sputnik V	CanSino
Ime	Vaxzevria, Covishield	COVID-19 Vaccine Janssen	Sputnik V, Gam-COVID-Vac	Ad5-nCoV, Convidecia
Tip cepiva	ChAdOx1-S	Ad26.COV2.S	Ad26-S in Ad5-S	Ad5-S
Način injiciranja	v mišico (intramuskularno)	v mišico (intramuskularno)	v mišico (intramuskularno)	v mišico (intramuskularno)
Redčenje	/	/	/	/
Doza	Dve dozi , vsaka vsebuje najmanj $2,5 \times 10^8$ virusnih delcev (druga doza po 12 tednih).	Ena doza , ki vsebuje 5×10^{10} virusnih delcev.	Dve dozi . Prva vsebuje Ad26 (1×10^{11} virusnih delcev), druga pa Ad5 (1×10^{11} virusnih delcev). Drugi odmerek sledi 21 dni po prvem.	Ena doza , ki vsebuje 5×10^{10} virusnih delcev.
Zaščita	15 dni po prejemu drugega odmerka	14 dni po prejemu odmerka	N/A	28 dni po prejemu odmerka
Shranjevanje	med 2 °C in 8 °C (do 6 mesecev) v temi	med 2 °C in 8 °C (6 mesecev) v temi	-18 °C (6 mesecev) v temi	med 2 °C in 8 °C
Učinkovitost	82 %	72 % (ZDA), 66 % (Latinska Amerika), 57 % (Južna Afrika)	91,6 %	65,7 %
Starost	18 let in več			
Odobreno v EU	da	da	v postopku	ne (izjema: Madžarska)
Sestava	L-histidin, L-histidinijev klorid monohidrat, magnezijev klorid heksahidrat, polisorbitat 80 (E433), etanol, saharoza, NaCl, dinatrijev EDTA dihidrat, voda za injiciranje	2-hidroksipropil-β-ciklodekstrin (HBCD), monohidrat citronske kisline, klorovodikova kislina, polisorbitat 80, natrijev klorid, natrijev hidroksid, trinatrijev citrat dihidrat, voda za injiciranje	Tris-(hidroksimetil)-aminometan, natrijev klorid, saharoza, magnezijev klorid heksahidrat, dinatrijev EDTA dihidrat, polisorbitat 80, etanol in voda	N/A
Opomba	ChAdOx1-S pridobljen v celični liniji HEK293	Ad26.COV2-S pridobljen v celični liniji PER.C6 TetR	pridobivanje v celični liniji HEK293	N/A
Dedni material človeka se ne spremeni, nudijo 100-odstotno zaščito pred hudim potekom bolezni COVID-19.				

N/A - ni podatka

Inaktivirana cepiva

Inaktivirana cepiva so cepiva, ki vsebujejo onesposobljenega povzročitelja bolezni. Inaktivacijo povzročitelja dosežemo s toplotno ali kemično obdelavo. Zaradi inaktivacije virus izgubi zmožnost razmnoževanja in ni sposoben povzročiti okužbe. Takšna cepiva največkrat sprožijo le humoralno imunost (slika 5), ne pa tudi celične.



Slika 5: Mehanizem delovanja inaktiviranih cepiv. Antigen predstavitevne celice (APC) v procesu fagocitoze sprejmejo inaktiviran virus, ki ostane obdan z lipidno membrano. Taki membranski strukturi rečemo fagosom. Ta se postopno spreminja in sprejema druge molekule, med drugim proteine MHC II in encime, odgovorne za razgradnjo proteinov. Ti encimi razgradijo virusne proteine do peptidov, ki se nato vežejo na molekule MHC II in preselijo na celično membrano. S tem APC na svoji površini predstavijo peptide (antigenske epitope) T-celicam pomagalkam, ki v nadaljevanju sprožijo aktivacijo limfocitov B, ključnih za delovanje humoralne komponente imunskega odziva. ER – endoplazemski retikulum

Značilnosti cepiv proizvajalcev Sinopharm in Sinovac

Luka Gnidovec in Liza Ulčakar

CoronaVac

Cepivo, ki ga je proti virusu SARS-CoV-2 razvilo kitajsko farmacevtsko podjetje Sinovac Biotech, se imenuje CoronaVac. Pripravljeno je na klasičen način, in sicer gre za inaktivirano virusno cepivo. Za pripravo cepiva CoronaVac je bil izbran eden izmed vzorcev SARS-CoV-2 s Kitajske. Virusne delce so namnožili v ledvičnih celicah afriške zelene opice (celice Vero), nato pa so jih inaktivirali z β -propiolaktonom. Kot adjuvant so uporabili aluminijev hidroksid. Cepivo je treba shranjevati pri 2–8 °C.

Prvo in drugo fazo kliničnih študij so izvajali na zdravih posameznikih, starih med 18 in 59 let, kasneje tudi na starejših od 60 let. Najpogostejši stranski učinek je bila bolečina na mestu vboda, ostale reakcije so bile redkejšje in blage. Jakost imunskega odziva ni kazala bistvene odvisnosti od doze (3 $\mu\text{g}/0,5$ mL ali 6 $\mu\text{g}/0,5$ mL raztopine aluminijevega hidroksida), očitna pa je bila odvisnost od časovnega razmika med prvim in drugim cepljenjem. Boljše rezultate so dosegli, če so drugi odmerek injicirali po 28 dneh kot po 14 dneh.

Tretja faza kliničnih študij poteka v sedmih državah. Podatki o učinkovitosti iz različnih držav so zelo različni, kar naj bi bila posledica prisotnosti različnih sevov virusa v različnih državah, nereprezentativnosti nekaterih skupin prostovoljcev in različnih kriterijev za ocenjevanje obolelosti pacientov. Kljub temu so uporabo cepiva CoronaVac odobrili že v 22 neevropskih državah, med njimi tudi v Čilu, kjer so nato opravili še študijo na splošni populaciji. Rezultati so pokazali, da je cepivo v primeru 28-dnevnega razmaka med prvim in drugim odmerkom 67-odstotno učinkovito pri preprečevanju simptomatskih okužb, 85-odstotno učinkovito pri preprečevanju hospitalizacij, za 89 % se zmanjša število

sprejemov v intenzivno nego in za 80 % število smrti.

BBIBP-CorV

Cepivo BBIBP-CorV je eno izmed dveh inaktiviranih cepiv, ki ga je razvilo kitajsko farmacevtsko podjetje Sinopharm Group. Pripravljeno je na podoben način kot CoronaVac; izbrani sev iz vzorca pacientke so namnožili v celicah Vero in v naslednjih korakih virusne delce inaktivirali ter odstranili možne nečistoče. Kot adjuvant so tudi v tem primeru uporabili aluminijev hidroksid.

V **prvi fazi** kliničnih testiranj je 192 posameznikov prejelo različne količine cepiva v razmaku 28 dni. Najpogostejši stranski učinek je bila bolečina na mestu vboda, najpogostejši sistemski stranski učinek pa vročina. Resnih stranskih učinkov niso zaznali. Protitelesa so se pojavila pri vseh posameznikih po 42 dneh. Vsebnost (titer) protiteles je bila primerljiva pri osebah, ki so prejele 4 μg ali 8 μg doze cepiva, pri tistih, ki so prejeli 2 μg cepiva, pa je bila nižja.

V **drugi fazi** je sodelovalo 448 prostovoljcev, starih med 18 in 59 let. Prejeli so en 8 μg odmerek ali dva 4 μg odmerka v razmaku 14, 21 ali 28 dni. Vsi neželeni stranski učinki so bili blagi ali zmerni. Največ protiteles po 28 dneh od prejema drugega odmerka so imele osebe, ki so prejele dva odmerka v razmaku 21 dni.

Tretja faza kliničnih testiranj poteka skupno v Združenih arabskih emiratih, Bahrajnu, Egiptu in Jordaniji. Sinopharm Group je v svoji izjavi 30. decembra 2020 navedel 79-odstotno učinkovitost cepiva. Uradnih objav o tretji fazi kliničnih testiranj v znanstvenih revijah še ni. Poleg tega cepivo testirajo tudi v Peruju, Argentini in Maroku.

Značilnosti cepiva proizvajalca Bharat Biotech

Eva Keber in Urška Pečarič Strnad

Covaxin (tudi BBV152) je prvo indijsko cepivo proti COVID-19, ki ga proizvaja biotehnološko podjetje Bharat Biotech. Je inaktivirano cepivo in temelji na dobro uveljavljeni in preizkušeni platformi v svetu tehnologije cepiv, saj takšna cepiva obstajajo že desetletja. Inaktivirani virusi se ne razmnožujejo, zato ne povzročajo bolezni, vseeno pa omogočijo, da imunski sistem sproži obrambno reakcijo proti okužbi.

Za izdelavo cepiva so uporabili virusni sev NIV-2020-770, ki so ga izolirali v Indiji. Viruse so namnožili v ledvičnih celicah afriške zelene opice (Vero CCL-18). Po namnožitvi v bioreaktorju so virusne delce očistili in jih nato inaktivirali z β -propiolaktonom, ki se med drugim najverjetneje veže na virusno RNA, kar prepreči nadaljnje razmnoževanje virusa, hkrati pa proteini ostanejo večinoma nespremenjeni.

Za klinične študije so pripravili 3 različice cepiva, ki so se razlikovale v koncentraciji antigena (3 μ g in 6 μ g) in vrsti adjuvanta (Algel in Algel-IMDG). Določili so, da je cepivo najbolj stabilno pri temperaturi med 2 in 8 °C. Covaxin poleg inaktiviranih virusnih delcev SARS-CoV-2 in adjuvantov vsebuje še konzervans ter pufer, ki uravnava pH. Cepivo injiciramo intramuskularno. Ko vstopi v telo, antigen predstavljene celice fagocitirajo virusne delce, nato pa fragmente virusa izpostavijo na svoji površini. T-celice pomagalk nato zaznajo te fragmente in aktivirajo B-celice, ki nato proizvedejo protitelesa proti koronavirusu in predstavljajo zaščito pred okužbo.

Rezultati kliničnih študij

Faza 1: V prvi fazi kliničnih testiranj je sodelovalo 375 ljudi, starih med 18 in 55 let. Cepivo so injicirali v dveh dozah z zamikom 14 dni. Skupaj je samo 15 % ljudi poročalo o stranskih učinkih (bolečina na mestu vboda, glavobol in utrujenost). Kasnejše raziskave so pokazale, da cepivo sproži humoralno in tudi celično imunost.

Faza 2: Cepivo so preizkusili na 380 ljudeh, starih med 12 in 65 let. Drugo dozo so prejeli 28 dni po prvi. Po pričakovanjih so sodelujoči razvili protitelesa proti SARS-CoV-2. V krvi so zaznali T-celice pomagalk, specifične za ta virus. Izkazalo se je, da 6 μ l adjuvanta Algel-IMDG sproži boljši imunski odziv, zato so tega preverjali v tretji fazi kliničnih študij.

Faza 3: Cepivo BBV152 so v tretji fazi preizkusili na 25 800 osebah; polovica jih je prejela cepivo, polovica pa placebo. Sodelujoči so bili stari od 18 do 98 let. Pri vseh testiranih so opravili tri tipe analiz:

- pojav simptomov, ki so se pojavili po cepljenju;
- ugotavljanje števila simptomatskih in asimptomatskih okužb;
- spremljanje razvoja odpornosti proti koronavirusu.

Za testiranje učinkovitosti so analizirali odziv 130 ljudi, ki so se minimalno 14 dni po prejemu druge doze okužili s SARS-CoV-2. Rezultati so pokazali, da je učinkovitost cepiva 81-odstotna. Covaxin je učinkovit tudi proti angleškemu sevu.

Primerjava inaktiviranih cepiv

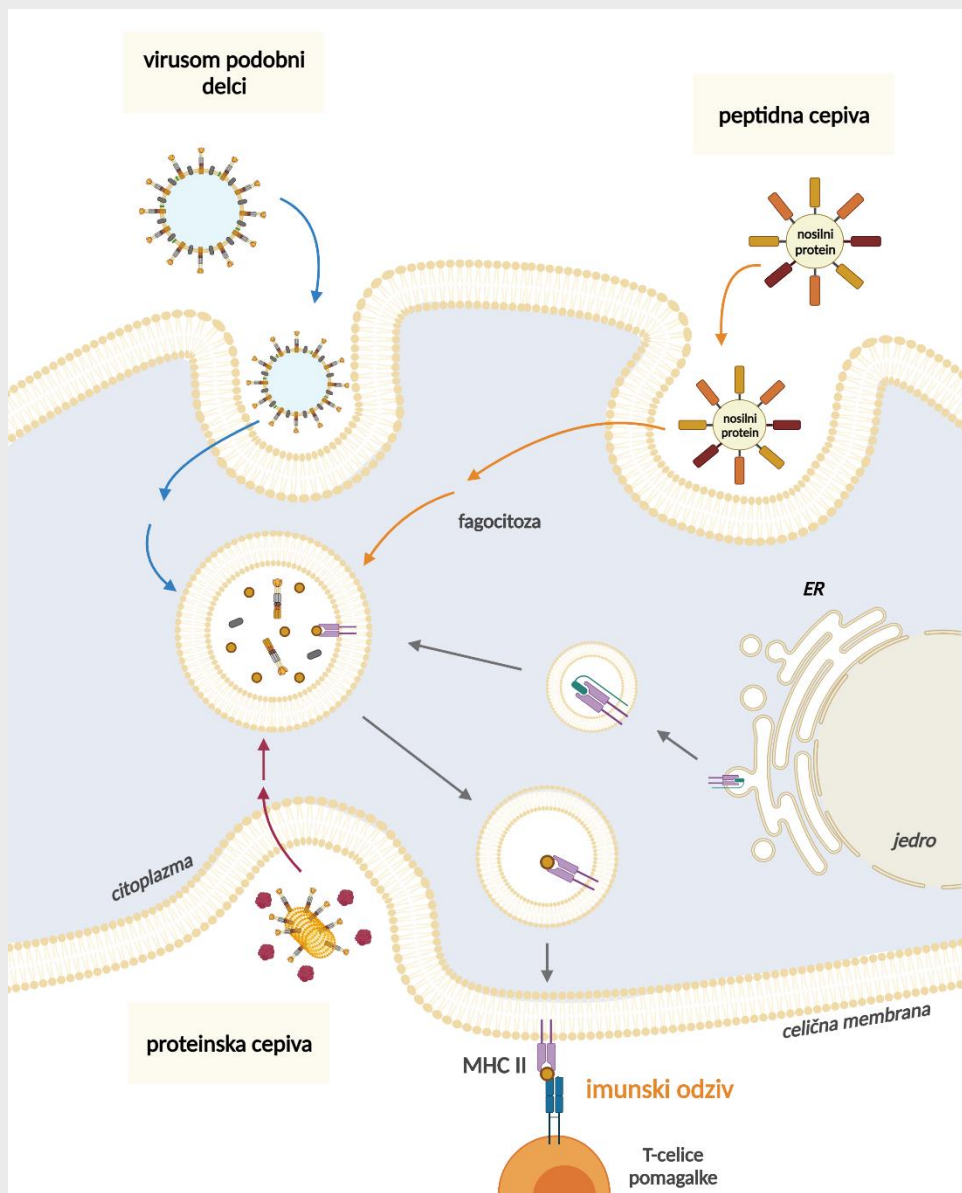
Tabela 3: Primerjava inaktiviranih cepiv (stanje maja 2021).

	Sinopharm	Sinovac Biotech	Bharat Biotech
Ime	BBIBP-CorV	CoronaVac	Covaxin, BBV152
Tip cepiva	inaktivirano		
Način injiciranja	v mišico (intramuskularno)		
Redčenje	/	/	/
Doza	Dve dozi , ena doza vsebuje 4 µg inaktiviranega virusa SARS-CoV-2 (druga doza po 21 dneh)	Dve dozi , ena doza vsebuje 3 µg inaktiviranega virusa SARS-CoV-2 (druga doza po 28 dneh)	Dve dozi , ena doza vsebuje 6 µg inaktiviranega virusa SARS-CoV-2, seva NIV-2020-770 (druga doza po 28 dneh)
Zaščita	N/A	14 dni po prejemu drugega odmerka	14 dni po prejemu drugega odmerka
Shranjevanje	med 2 °C in 8 °C	med 2 °C in 8 °C	med 2 °C in 8 °C
Učinkovitost	79 %	50 %	81 %
Starost	18 let in več		
Odobreno v EU	ne (izjema: Madžarska)	ne	ne
Sestava	aluminijev hidroksid, fosfatni pufer	aluminijev hidroksid, fosfatni pufer	aluminijev hidroksid, agonist TLR 7/8 (imidazokinolinon), 2-fenoksietanol, fosfatni pufer
Opomba	Virusne delce so namnožili v ledvičnih celicah afriške zelene opice (Vero) inaktivirali z β-propiolaktonom.		Virusne delce so namnožili v ledvičnih celicah afriške zelene opice (Vero CCL-18) in inaktivirali z β-propiolaktonom.
	Nudijo 100-odstotno zaščito pred hudim potekom bolezni COVID-19.		

N/A – ni podatka

Cepiva iz delov patogena

V to skupino cepiv uvrščamo cepiva, ki ne vsebujejo celotnega povzročitelja bolezni, ampak le njegove dele (npr. proteinska cepiva, peptidna cepiva in virusom podobni delci). Pri rekombinantnih proteinskih cepivih za sprožitev imunskega odgovora uporabimo virusni protein, ki ga pripravimo s tehnologijo rekombinantne DNA. Peptidna cepiva vsebujejo manjše peptide, ki predstavljajo izpostavljene dele proteina, ki je del virusne ovojnice. Cepiva, ki vsebujejo virusom podobne delce, pa vsebujejo virusne delce brez genskega materiala. Antigen predstavitvene celice v procesu fagocitoze sprejmejo virusne delce ali njihove proteinske komponente in jih razgradijo. Iz proteinov tako nastanejo peptidi, ki jih celice predstavijo na svoji površini T-celicam pomagalkam (slika 6).



Slika 6: Mehanizem delovanja cepiv iz delov patogena. Antigen predstavitvene celice (APC) v procesu fagocitoze sprejmejo proteine, peptide ali virusom podobne delce. Encimi v fagosomu virusne delce ali proteinske komponente razgradijo na peptide, ki se vežejo na proteine MHC in prenesejo na celično površino. Tako jih predstavijo T-celicam pomagalkam, ki sprožijo humoralno in celično komponento imunskega odziva.
ER – endoplazemski retikulum

Značilnosti cepiva proizvajalca Novavax

Jernej Imperl in Klementina Polanec

Cepivo NVX-CoV2373 proizvaja ameriško podjetje Novavax. Temelji na nanodelcih z rekombinantnim proteinom bodice virusa SARS-CoV-2. V času pisanja cepivo še ni odobreno v Evropi.

Cepivo proizvajalca Novavax vsebuje tri ključne sestavine: rekombinantni protein bodice, polisorbata 80 in adjuvant Matrix-M. Cepivo se lahko hrani pri temperaturi 2–8 °C do 6 mesecev.

Rekombinantni protein bodice

Protein bodice je antigen, ki ga s cepivom želimo predstaviti imunskemu sistemu. S tega vidika je to cepivo podobno konkurenčnim cepivom, vendar pa je cepivo Novavax eno redkih, ki uporablja očiščen protein neposredno v cepivu (namesto mRNA ali virusnega vektorja). V protein so uvedli dva seta mutacij. Najprej so spremenili tarčno zaporedje za cepitev (682-QQAQ-685), kar onemogoči aktivacijo proteina v našem telesu, z naslednjo spremembo (K986P in V987P) pa so povečali stabilnost proteinske strukture. Prilagojeni protein je stabilen pri različnih pogojih in je primeren za vzpostavitev imunosti proti SARS-CoV-2.

Za pridobivanje proteina bodice so izbrali kulture celic Sf9 ameriške koruzne sovke (vrsta večje) *Spodoptera frugiperda*, saj omogočajo pridobivanje proteina bodice v velikih količinah in s pravilno prostorsko zgradbo. V celice so vnesli gen za mutiran protein bodice s pomočjo insektnega virusa. Prišlo je do sinteze rekombinantnega proteina, ki so ga očistili in uporabili za pripravo cepiva.

Polisorbat 80

Polisorbat 80 je neionski detergent, ki se uporablja v živilski industriji, proizvodnji kozmetike in zdravil. V vodnih raztopinah polisorbata 80 spontano tvori micelle – 10 nm velike lipidne strukture v obliki valja. V cepivu Novavax ti miceli služijo kot ogrodje, v katerega

se lahko zasidrajo proteini bodice. Tako nastanejo nanodelci, veliki okoli 30 nm, ki lahko vsebujejo do 14 proteinov bodice. Ker nanodelec predstavlja večjo strukturo kot sam protein bodice, in navzven celo spominja na virus, sproži močnejši imunski odziv in poveča učinkovitost cepiva.

Matrix-M

Adjuvanti so sestavine cepiva, ki spodbudijo imunski sistem in povečajo učinkovitost cepiva. Cepivu Novavax je dodan adjuvant Matrix-M, ki je sestavljen iz saponina južnoameriške drevesne vrste *Quillaja saponaria*, holesterola in fosfolipidov. Tvori mehurčke podobne velikosti kot nanodelci s proteinom bodice.

Klinična testiranja cepiva

Prva preizkušanja varnosti in imunogenosti cepiva Novavax so potekala na miših in pavijanih. Po prejemu dveh odmerkov cepiva so živali proizvedle protitelesa proti proteinu bodice, ki so bila sposobna nevtralizirati SARS-CoV-2. Zaradi vezave protiteles na protein bodice se virus ni mogel vezati na receptorje na površini celic in jih okužiti. S tem so raziskovalci potrdili delovanje in varnost cepiva, s čimer so prešli na klinična preizkušanja na ljudeh.

1. faza kliničnega preizkušanja se je začela maja 2020 v Avstraliji. Sodelovalo je 131 zdravih prostovoljcev, starih od 18 do 59 let. Prvi in drugi odmerek so prejeli 21 dni narazen, pri čemer jih je 83 prejelo cepivo z adjuvantom, 25 brez adjuvanta in 23 placebo. Najpogostejša lokalna stranska učinka sta bila bolečina in oteklina na mestu vboda, sistemski stranski učinki pa utrujenost, glavobol in bolečine v mišicah. Stranski učinki so bili v glavnem kratkotrajni in blagi. Cepivo z adjuvantom je sprožilo močnejši imunski odziv in spodbudilo nastanek večje količine protiteles, kot so jih zaznali v krvi posameznikov, ki so preboleli COVID-19. Zaznali so tudi močan odziv T-celic pomagalk tipa 1.

2. fazo kliničnega preizkušanja so začeli avgusta 2020 v ZDA in Avstraliji. Sodelovalo je 1256 prostovoljcev, starih od 18 do 84 let, pri čemer jih je 45 % predstavljajo skupino starejših (60–84 let). Sodelujoče so razdelili v 5 skupin, od tega so 4 prejele različne doze cepiva z adjuvantom, 1 pa placebo. Rezultati 2. faze so bili v glavnem enaki kot rezultati 1. faze. Ugotovili so, da je cepivo varno tudi za starejšo populacijo. Stranski učinki so bili pri starejših redkejši in blažji, imunski odziv na cepivo pa je bil nekoliko slabši zaradi staranja imunskega sistema. Ugotovili so, da je nižja doza cepiva (5 µg) bolj primerna kot višja (25 µg), saj pri cepljenih povzroči manj stranskih učinkov, razvije pa se približno enaka količina protiteles.

3. faza kliničnega preizkušanja se je začela septembra 2020 v Združenem kraljestvu. Sodelovalo je več kot 15.000 prostovoljcev, od tega 27 % starih nad 65 let. Polovica sodelujočih je prejela dva odmerka cepiva, druga polovica dva odmerka placeba. Rezultati preizkušanja še niso objavljeni v obliki

znanstvenega članka, je pa podjetje Novavax sporočilo, da učinkovitost cepiva proti originalnemu sevu virusa znaša 96,4 %, proti britanski različici pa 86,3 %. Cepivo nudi 100-odstotno zaščito pred hudim potekom bolezni COVID-19.

Ostala klinična testiranja

- Rezultati faze 2b iz Južnoafriške republike so pokazali, da je učinkovitost cepiva proti južnoafriški različici 55,4 % (za HIV-negativno populacijo).
- V ZDA in Mehiki poteka 3. faza kliničnega preizkušanja, v kateri sodeluje okoli 30.000 prostovoljcev starejših od 18 let.
- Februarja 2021 se je v Združenem kraljestvu začela raziskava, v kateri so prostovoljce cepili s kombinacijo različnih cepiv (AstraZeneca, Pfizer, Moderna in Novavax). Prvi in drugi odmerek sta predstavljali enako ali pa različni cepivi.

Značilnosti cepiva proizvajalca Vector

Urša Lovše

Cepivo **EpiVacCorona** je peptidno cepivo ruskega raziskovalnega centra Vector (Državno raziskovalno središče za virologijo in biotehnologijo). Temelji na treh kemijsko sintetiziranih peptidih, ki predstavljajo imunogene dele (epitope) proteina bodice. Peptidi so kovalentno vezani na proteinski nosilec, cepivo pa poleg sintetiziranih peptidov in nosilnega proteina vsebuje še adjuvant aluminijev hidroksid.

Izdelava cepiva

Peptide, ki so jih v nadaljevanju sintetizirali, so izbrali na podlagi znanih podatkov o prostorski zgradbi in aminokislinskem zaporedju proteina bodice. Izbrali so tri ustrezne peptide, dolge med 20 in 31 aminokislinskih ostankov, ki so podobni epitopom virusnega proteina bodice, in jih prepoznavajo limfociti B (B-celice). Izbrane peptide so proizvedli s standardnimi kemijskimi postopki za sintezo peptidov s trdno fazo. Tako pripravljene peptide so kovalentno vezali na proteinski nosilec, ki so ga kot rekombinantni protein pripravili v laboratorijskem sevu bakterij *Escherichia coli*. Proteinski nosilec je fuzijski protein, sestavljen iz vezavnega proteina za maltozo (MBP), ki je

bakterijskega izvora in proteina N (nukleokapside) virusa SARS-CoV-2. Za prvim delom proteina (MBP) je zaporedje 6 histidinov, ki omogoča izolacijo rekombinantnega proteina z afinitetno kromatografijo na imobiliziranih nikljevih ionih.

Zaradi vezave na nosilno molekulo so dosegli povečano stabilnost in imunogenost peptidov, ki so jo še dodano povečali z adjuvantom aluminijevim hidroksidom.

Pripravljeno cepivo vsebuje v eni dozi 260 µg aktivne učinkovine, aplicira pa se v dveh dozah, intramuskularno z 21- do 28-dnevnim zamikom. Cepivo shranjujemo v hladilniku (2–8 °C).

Klinične študije

1. in 2. klinična faza sta potekali do oktobra 2020 v Rusiji. Sodelovalo je 100 prostovoljcev, starih med 18 in 60 let. V 3. klinično fazo je vključenih okoli 3000 ljudi, predvidoma pa naj bi trajala do avgusta 2021. Cepivo je že odobreno za uporabo v Rusiji in Turkmenistanu.

Značilnosti cepiva proizvajalca VBI Vaccines

Željka Erić

VBI Vaccines je biofarmacevtsko podjetje, ki je usmerjeno predvsem v razvoj in proizvodnjo cepiv, predvsem za preprečevanje in zdravljenje nalezljivih bolezni. Z inovativnim pristopom pri pripravi virusom podobnih delcev (VLP), vključno s tehnologijo VLP z ovojnico (eVLP), razvija kandidate za cepiva, ki posnemajo strukturo virusa in tako sprožijo močan imunski odziv.

Cepivo VBI-2902a

VBI-2902a je kandidat za cepivo, ki vsebuje VLP z modificirano predfuzijsko obliko proteina bodice SARS-CoV-2. VLP so strukturno podobni virusu SARS-CoV-2, ne vsebujejo pa genskega materiala, zato se ne morejo razmnoževati in povzročiti nastanka bolezni COVID-19. Cepivo

je zasnovano tako, da spodbudi nastanek nevtralizirajočih protiteles proti proteinu bodice. VBI-2902a se injicira intramuskularno, vsebuje do 10 µg proteina bodice, kot adjuvant pa mu je dodan aluminijev fosfat.

Klinične študije

S kliničnimi študijami prve in druge faze bodo ovrednotili varnost, učinkovitost, doziranje (5 µg ali 10 µg proteina bodice) ter imunogenost cepiva VBI-2902a, in sicer v režimu enega in dveh odmerkov glede na placebo (fiziološka raztopina). V klinične študije faze 1/2 je vključenih 780 zdravih prostovoljcev, ki so starejši od 18 let.

Začetna študija faze 1/2 VBI-2902a se je začela 15. marca 2021 in naj bi bila končana junija 2022.

Primerjava cepiv iz delov patogena

Tabela 4: Primerjava cepiv iz delov patogena (stanje maja 2021).

Lastnost	Novavax	Vector	VBI Vaccines
Ime	NVX-CoV2373	EpiVacCorona	VBI-2902a
Tip cepiva	proteinsko cepivo	peptidno cepivo	virusom podobni delci
Način injiciranja	v mišico (intramuskularno)		
Redčenje	/	/	/
Doza	Dve dozi, ena doza vsebuje 5 µg aktivne učinkovine (druga doza po 21 dneh).	Dve dozi, ena doza vsebuje 260 µg aktivne učinkovine (druga doza po 21-28 dneh).	N/A
Zaščita	N/A	N/A	N/A
Shranjevanje	med 2 °C in 8 °C (6 mesecev)	med 2 °C in 8 °C	med 2 °C in 8 °C
Učinkovitost	96,4 %	N/A	N/A
Starost	18 let in več	18 let in več	N/A
Odobreno v EU	ne	ne	ne
Sestava	polisorbata 80, matrix-M (adjuvant)	nosilni fuzijski protein, sestavljen iz vezavnega proteina za maltozo in koronavirusnega proteina N, aluminijev hidroksid (adjuvant)	amonijev fosfat
Opomba	<p>pridobivanje v kulturi celic večče <i>Spodoptera frugiperda</i> (Sf9)</p> <p>nudi 100 % zaščito pred hudim potekom bolezni COVID-19</p>	kemijska sinteza peptidov s trdno fazo	klinične študije so v teku (prvi podatki bodo na voljo predvidoma junija 2022)

N/A – ni podatka

Uporabnost obstoječih cepiv proti novim variantam virusa SARS-CoV-2

Marko Dolinar

V času od začetka razvoja cepiv proti virusu SARS-CoV-2 se je pojavila množica novih virusnih variant. V prvih mesecih pandemije so zaznali po eno mutirano varianto mesečno, kasneje, ko je bilo okuženih vedno več ljudi (izredno pa se je povečalo tudi število analiz), pa je bilo opisanih variant vedno več. Teh je danes verjetno že več deset tisoč, a so jih večino opazili le pri posameznih pacientih. Do mutacij pride v času, ko se virus v okuženem človeku razmnožuje, in to predvsem zaradi napak, ki jih encim RNA-polimeraza naredi pri sintezi nove kopije genoma. Pri pacientih z dolgotrajno okužbo se lahko v virusnem genomu nabere več mutacij, tudi več kot 20.

Vsaka mutacija v virusnem genomu ne predstavlja nujno večjega tveganja za paciente, pa tudi za virus večina mutacij ne predstavlja nobene prednosti. Ohranijo se in prevladajo le redke različice – tiste, ki se širijo hitreje –, pri tem pa ni nujno, da povzročijo tudi močnejše bolezenske znake. Nekatere različice SARS-CoV-2 so opisane v drugem poglavju.

V Sloveniji smo prvi primer angleške različice (B.1.1.7) odkrili januarja, južnoafriško (B1.351) konec februarja, brazilski sev (P1 oz. B.1.1.28) marca, indijskega (B1.617) pa maja 2021. Od afriških sevov je bil sicer pri nas najpogostejši nigerijski (B1.525), ki smo ga prvič zaznali januarja 2021. Že v dobrih dveh mesecih od prvega pojava v Sloveniji je angleški sev povsem zasenčil prvotno prevladujoči sev B1.258.17 in v začetku maja je bil njegov delež že skoraj 98-odstoten*. V prvih 18 tednih leta 2021 so v Sloveniji zaznali kar 55 različnih variant virusa SARS-CoV-2.

Z mutacijami v proteinu bodice - proti temu je usmerjena večina protiteles, ki se razvijejo po cepljenju s trenutno odobrenimi cepivi - se spremeni tudi prostorska zgradba tega proteina. Protitelesa proti proteinu bodice, kakršen je bil prisoten pri začetni (vuhanski) različici SARS-CoV-2, prepoznajo samo po obliki zelo podobne proteine. Večinoma mutacije povzročijo majhne razlike v obliki proteina (npr. ko se ena aminokislina zamenja z drugo podobno aminokislino), lahko pa so razlike tudi velike, če je zamenjava s strukturno različno aminokislino, predvsem na površini proteina, ali če se zamenja več aminokislin. Na srečo pa zelo spremenjena zgradba proteina bodice ne bi več omogočala vezave na površino tarčnih celic. Angleški sev ima na primer v proteinu bodice 7 aminokislin spremenjenih, 3 pa manjkajo. Kljub tolikim spremembam njegova celokupna oblika ni bistveno spremenjena in protitelesa proti vuhanski različici še vedno dokaj dobro prepoznajo angleško različico.

Glede kompatibilnosti v Sloveniji uporabljanih cepiv z najpogostejšimi variantami virusa SARS-CoV-2 je nemogoče podati zanesljive podatke, ki bi veljali za paciente. Sistematične analize še niso bile objavljene, številni podatki o učinkovitosti pa temeljijo na predvidevanjih, ki upoštevajo strukturo mutiranega proteina bodice, ter na nekaterih biokemijskih poskusih, ni pa na voljo rezultatov kliničnih testov.

Za **angleško različico** je znano, da je cepivo AstraZeneca nekoliko manj učinkovito kot za vuhansko različico in za njeno evropsko varianto (z mutacijo D614G, ki je omogočila bistveno hitrejše širjenje virusa po svetu). Cepiva proizvajalcev Moderna, Janssen in Pfizer naj bi dokaj dobro zaščitila pred angleško različico.

Južnoafriška različica je nekoliko težje prepoznavna protitelesom, ki nastanejo po cepljenju z RNA-cepivom Moderna in DNA-cepivom Janssen, ter bistveno težje prepoznavna tistim, ki se razvijejo po cepljenju z adenovirusnim cepivom proizvajalca AstraZeneca. Preliminarni rezultati s cepivom proizvajalca Pfizer so dobri. Moderna je že pripravila prilagojeno različico cepiva proti tej varianti; trenutno je v 1. fazi kliničnega testiranja.

Za **brazilsko različico** velja podobno kot za angleško, da je cepivo AstraZeneca nekoliko manj učinkovito, kar velja tudi za Pfizerjevo cepivo in cepivo proizvajalca Moderna. Janssenovo cepivo je nekoliko uspešnejše proti brazilski kot proti južnoafriški različici.

Indijska različica se odziva na cepivo proizvajalcev Pfizer in AstraZeneca po dveh dozah, a nekoliko slabše kot angleška različica. Učinkovitost obeh cepiv po eni dozi je bila dokaj slaba (približno 30 %). Tudi Modernino cepivo naj bi bilo dokaj učinkovito proti indijskemu sevu.

Za **nigerijsko varianto** je zaenkrat še premalo podatkov.

Ker se tako proizvajalci cepiv kot epidemiologi zavedajo, da bo virus SARS-CoV-2 mutiral, vse dokler bo krožil med obolelimi, razmišljajo o razvoju cepiv proti novim oblikam. Zaenkrat še ni jasno, ali bi bila za taka prilagojena cepiva potrebna pred odobritvijo ponovna klinična testiranja oziroma v kakšnem obsegu, saj bi se cepiva od prvotnih izredno malo razlikovala. Manj obveznih testiranj bi seveda omogočilo

hitrejšo uporabo in s tem hitrejšo omejitev širjenja.

Proizvajalci že pripravljajo prilagojena cepiva za pozitivne odmerke (torej v večini primerov tretje cepljenje). Za te variante cepiv kaže, da naj bi bili sposobni pripraviti v večjih količinah do jeseni 2021.

* Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani je 15. 12. 2021 sporočil, da so odkrili prve primere okužbe z različico omikron v vzorcih, odvzetih med 29. novembrom in 5. decembrom. Ta različica vsebuje 26 zamenjav aminokislin, 3 delecije in 1 insercijo in velja za najbolj kužno varianto doslej. S svojim proteinom bodice se zelo močno veže na receptorski protein, zato bi bilo možno, da se bo virus težje prebil v notranjost celice in bo zato morda povzročil blažji potek bolezni.

Poročilo NLZOH z dne 20. 12. 2021 pa vključuje podatek o skupaj 143 različicah virusa, ki so jih zaznali v Sloveniji v tem letu. Do zaključka redakcije te brošure so bili zadnji podatki o razširjenosti različice omikron z dne 22. 12. 2021, ko je bilo znanih 28 primerov. Skupaj so v letu 2021 določili zaporedje več kot 25.000 vzorcem, odvzetim v Sloveniji, od tega je bilo več kot 99 % različice delta.

Opuščena cepiva

Nina Lukančič in Neža Pavko

V590 – Merck, IAVI

To cepivo temelji na rekombinantnih oslavljenih virusnih delcih vezikularnega stomatitisa (rVSV), ki so jim gen za plaščni glikoprotein zamenjali z genom za protein bodice virusa SARS-CoV-2. Zaradi te zamenjave imajo rekombinantni virusni delci podobne lastnosti vstopa v celice kot sam virus SARS-CoV-2. V 1. fazi kliničnih študij so po intramuskularni aplikaciji cepiva ugotovili, da se osebe na cepivo dobro odzivajo, vendar njihov imunski odziv ni tako močan kot pri osebah, ki so okužbo s COVID-19 že prebolele, ali bile cepljene z enim izmed registriranih cepiv.

V591 – Merck, Themis, Institut Pasteur

To cepivo temelji na že dobro uveljavljenem cepivu proti ošpicam. Oslabljenim virusom ošpic so v genom vstavili gen za protein bodice virusa SARS-CoV-2. Oslabljeni virusni delci ošpic okužujejo antigen predstavitevne celice. Ob razmnoževanju rekombinantnih virusov se v okuženih celicah sintetizira tudi protein bodice, ki v cepljeni osebi sproži imunski odziv proti proteinu bodice virusa SARS-CoV-2. Cepivo so po 1. fazi kliničnih študij opustili zaradi enakih razlogov kot cepivo V590.

UQ-CSL V451 – University of Queensland, CSL Limited

Cepivo so pripravili s tehnologijo molekulske objemke. Molekulska objemka je polipeptid, ki se uporablja za ohranjanje oblike proteinov. Univerza v Queenslandu je tehnologijo zasnovala tako, da objemka stabilizira protein

bodice v njegovi predfuzijski konformaciji, torej v obliki, ki je prisotna v virusnem delcu še pred pritrditvijo na receptor tarčne celice. Kot objemko so uporabili fragmente glikoproteina 41 (gp41), ki je protein virusne ovojnice virusa HIV. Raziskovalci so poleg objemke cepivu dodali tudi adjuvant MF59. Junija 2020 so začeli s 1. fazo kliničnega testiranja, v kateri je sodelovalo 216 prostovoljcev. V teku te faze testiranja so ugotovili, da so udeleženci razvili protitelesa proti fragmentom gp41, kar je povzročilo lažno pozitivne rezultate presejalnih testov za HIV. To je bil razlog, da niso nadaljevali z naslednjo fazo kliničnih testiranj.

Cepivo Imperial College London

To cepivo temelji na samoojačevalni RNA, ki zapisuje protein bodice virusa SARS-CoV-2. Samoojačevalna RNA vsebuje poleg zapisa za protein, proti kateremu naj bi nastala protitelesa, še zapise za štiri proteinske molekule, ki se spontano uredijo v aktiven encim z imenom od RNA odvisna RNA-polimeraza. Ta encim je sposoben na osnovi RNA v cepivu sintetizirati v celicah, v katere RNA vstopi, dodatne kopije RNA. To pomeni, da bi za cepljenje uporabili bistveno manj RNA, vendar bi bila ta daljša zaradi dodanih zapisov za dele encima.

Glede na število že odobrenih drugih cepiv proti temu virusu so se odločili, da z njihovim ne nadaljujejo kliničnih testiranj, so pa svoje raziskave osredotočili na prilagoditev tehnologije novim različicam SARS-CoV-2. Ta sposobnost bi lahko bila osrednja pri razvoju cepiv druge generacije proti COVID-19.

Viri

Splošno o virusih in variante SARS-CoV-2

WHO announces simple, easy-to-say labels for SARS-CoV-2 Variants of Interest and Concern; dostopno na <https://www.who.int/news/item/31-05-2021-who-announces-simple-easy-to-say-labels-for-sars-cov-2-variants-of-interest-and-concern> (datum dostopa 22. 12. 2021).

Molekularnobiološke značilnosti SARS-CoV-2 in prvi aktualni mutanti

Coronavirus Variants and Mutations; dostopno na <https://www.nytimes.com/interactive/2021/health/coronavirus-variant-tracker.html> (datum dostopa 9. 3. 2021).

D. Kim in sod. »The Architecture of SARS-CoV-2 Transcriptome.« *Cell* **2020**, 181(4), 914–921.e10.

E. J. Snijder in sod. »Ultrastructure and Origin of Membrane Vesicles Associated with the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Replication Complex.« *Journal of Virology* **2006**, 80(12), 5927–5940.

E.G. Holmes in A. Rambaut. »Viral evolution and the emergence of SARS coronavirus.« *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **2004**, 1059–1065.

F. Fratev. »The SARS-CoV-2 S1 spike protein mutation N501Y alters the protein interactions with both hACE2 and human derived antibody: A Free energy of perturbation study«, *bioRxiv* **2020**.

H. Wang in sod. »The genetic sequence, origin, and diagnosis of SARS-CoV-2.« *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2020**, 39(9), 1629–1635.

J. D. Fernandes in sod. »The UCSC SARS-CoV-2 Genome Browser.« *Nature Genetics* **2020**, 52(10), 991–998.

J. D. Ramírez in sod. »Will the emergent SARS-CoV2 B.1.1.7 lineage affect molecular diagnosis of COVID-19?«, *Journal of Medical Virology* **2021**.

L. Alanagreh, F. Alzoughool in M. Atoum. »The human coronavirus disease covid-19: Its origin, characteristics, and insights into potential drugs and its mechanisms.« *Pathogens* **2020**, 9(5).

M. J. Van Hemert in sod. »SARS-coronavirus replication/transcription complexes are membrane-protected and need a host factor for activity in vitro.« *PLoS Pathogens* **2008**, 4(5).

M. Ramanathan in sod. »SARS-CoV-2 B.1.1.7 and B.1.351 Spike variants bind human ACE2 with increased affinity.« *bioRxiv* **2021**.

S. Chakraborty. »Evolutionary and structural analysis elucidates mutations on SARS-CoV2 spike protein with altered human ACE2 binding affinity.« *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2021**, 534, 374–380.

S. F. Elena in R. Sanjuán. »Adaptive Value of High Mutation Rates of RNA Viruses: Separating Causes from Consequences.« *Journal of Virology* **2005**, 79(18), 11555–11558.

S. Satarker in M. Nampoothiri. »Structural Proteins in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2.« *Archives of Medical Research* **2020**, 51(6), 482–491.

SARS-CoV-2 Variants vs. Vaccines; dostopno na <https://asm.org/Articles/2021/February/SARS-CoV-2-Variants-vs-Vaccines> (datum dostopa 9. 3. 2021.).

Science Brief: Emerging SARS-CoV-2 Variants | CDC; dostopno na <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/more/science-and-research/scientific-brief-emerging-variants.html> (datum dostopa 9. 3. 2021).

X. Li in sod. »Emergence of SARS-CoV-2 through recombination and strong purifying selection.« *Science* **2020**, 6(27), eabb9153.

Y. Chen, Q. Liu in D. Guo. »Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis.« *Journal of Medical Virology* **2020**, 92(4), 418–423.

Interakcija SARS-CoV-2 s tarčno celico

J. Shang in sod. »Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2.« *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2020**, 117, 11727–11734.

N. Murgolo in sod. »SARS-CoV-2 tropism, entry, replication, and propagation: Considerations for drug discovery and development.« *PLoS Pathogens* **2021**, 17.

P. V'kovski, A. Kratzel, S. Steiner, H. Stalder in V. Thiel. »Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2.« *Nature Reviews Microbiology* **2021**, 19, 155–170.

RNA-cepiva

A. Wadhwa, A. Aljabbari, A. Lokras, C. Foged in A. Thakur. »Opportunities and Challenges in the Delivery of mRNA-Based Vaccines.« *Pharm.* **2020**, 12, 102.

J. R. Teijaro in D. L. Farber. COVID-19 vaccines: modes of immune activation and future challenges. *Nat. Rev. Immunol.* **2021**, 21, 195–197.

Meet the mRNA vaccine rookies aiming to take down COVID-19 | CAS; dostopno na <https://www.cas.org/resource/blog/covid-mrna-vaccine> (datum dostopa 30. 3. 2021).

Značilnosti cepiva proizvajalca Moderna

A. M. Reichmuth, M. A. Oberli, A. Jeklenec, R. Langer, in D. Blankschtein. »mRNA vaccine delivery using lipid nanoparticles.« *Ther. Deliv.* **2016**, 7, 319–334.

C. for M. P. for H. U. (CHMP): Assessment report COVID-19 Vaccine Moderna; dostopno na https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/covid-19-vaccine-moderna-epar-public-assessment-report_en.pdf (datum dostopa 14. 3. 2021)

D. Tripathi, G. Yi in R. Vankayalapati. »COVID-19: An update on vaccine development.« *Indian J. Rheumatol.* **2020**, 15, 70–72.

I. Staffans: Annex I. Evid. *Eur. Asylum Proced.* **2012**, 269–269.

M. D. Buschmann in sod. »Nanomaterial delivery systems for mRNA vaccines.« *Vaccines* **2021**, 9, 1–30.

N. A. C. Jackson, K. E. Kester, D. Casimiro, S. Gurunathan in F. DeRosa. »The promise of mRNA vaccines: a biotech and industrial perspective.« *npj Vaccines* **2020**, 5, 3–8.

N. Pardi, M. J. Hogan, F. W. Porter in D. Weissman. »mRNA vaccines—a new era in vaccinology.« *Nat. Rev. Drug Discov.* **2018**, 17, 261–279.

Y. H. Chung, V. Beiss, S. N. Fiering in N. F. Steinmetz. »Covid-19 vaccine frontrunners and their nanotechnology design.« *ACS Nano* **2020**, 14, 12522–12537.

Y. Huang, C. Yang, X. feng Xu, W. Xuc in S. wen Liu. »Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antiviral drug development for COVID-19.« *Acta Pharmacol. Sin.* **2020**, 41, 1141–1149.

Y. Wang, Z. Zhang, J. Luo, X. Han, Y. Wei in X. Wei. »mRNA vaccine: a potential therapeutic strategy.« *Mol. Cancer* **2021**, 20, 33.

Rezultati kliničnih testiranj cepiva proizvajalca Moderna

A. Ihan: Delovanje cepiv proti covid-19. NIJZ, 2021; dostopno na https://www.nijz.si/files/uploaded/004-cepiva_gradivo_za_strokovno_javnost_29122020.pdf (datum dostopa 14. 3. 2021).

Vaccines and Related Biological Products Advisory Committee December 17, 2020 Meeting Briefing Document - FDA. FDA, 2020; dostopno na <https://www.fda.gov/media/144434/download> (datum dostopa 14. 3. 2021).

C. for M. P. for H. U. (CHMP): Assessment report COVID-19 Vaccine Moderna; dostopno na https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/covid-19-vaccine-moderna-epar-public-assessment-report_en.pdf (datum dostopa 14. 3. 2021).

Značilnosti cepiva proizvajalca Pfizer / BioNTech

A. B. Vogel in sod. »Immunogenic BNT162b vaccines protect rhesus macaques from SARS-CoV-2.« *Nature* **2021**, 1–7.

Background document on the mRNA vaccine BNT162b2 (Pfizer-BioNTech) against COVID-19; dostopno na [https://www.who.int/publications/i/item/background-document-on-mrna-vaccine-bnt162b2-\(pfizer-biontech\)-against-covid-19](https://www.who.int/publications/i/item/background-document-on-mrna-vaccine-bnt162b2-(pfizer-biontech)-against-covid-19). (datum dostopa 30. 3. 2021)

CHMP. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) Assessment report Comirnaty Common name: COVID-19 mRNA vaccine (nucleoside-modified); dostopno na https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/comirnaty-epar-public-assessment-report_en.pdf. (datum dostopa 30. 3. 2021)

EMA Approves New Storage Option for Pfizer-BioNTech Vaccine, Easing Distribution and Storage of Doses Across European Union | Pfizer; dostopno na <https://www.pfizer.com/news/press-release/press-release-detail/ema-approves-new-storage-option-pfizer-biontech-vaccine> (datum dostopa 30. 3. 2021).

N. A. C. Jackson, K. E. Kester, D. Casimiro, S. Gurunathan in F. DeRosa. »The promise of mRNA vaccines: a biotech and industrial perspective.« *NPJ Vaccines* **2020**, 5, 1–6.

N. C. Kyriakidis, A. López-Cortés, E. V. González, A. B. Grimaldos in E. O. Prado. »SARS-CoV-2 vaccines strategies: a comprehensive review of phase 3 candidates.« *NPJ vaccines* **2021**, 6, 28.

Project Lightspeed – Public | BioNTech; dostopno na <https://biontech.de/covid-19-portal/project-lightspeed> (datum dostopa 30. 3. 2021)

U. Sahin, K. Krikó in Ö Türeci. »mRNA-based therapeutics-developing a new class of drugs.« *Nature Reviews Drug Discovery* **2014**, 13, 759–780.

Y. N. Lamb. »BNT162b2 mRNA COVID-19 Vaccine: First Approval.« *Drugs* **2021**, 81, 495–501.

Y. Wang in sod. »mRNA vaccine: a potential therapeutic strategy.« *Mol. Cancer* **2021**, 20, 33.

Rezultati kliničnih testiranj cepiva proizvajalca Pfizer / BioNTech

BioNTech and Pfizer announce completion of dosing for first cohort of Phase 1/2 trial of COVID-19 vaccine candidates in Germany. Pfizer; dostopno na <https://investors.pfizer.com/investor-news/press-release-details/2020/BioNTech-and-Pfizer-announce-completion-of-dosing-for-first-cohort-of-Phase-1-2-trial-of-COVID-19-vaccine-candidates-in-Germany/default.aspx> (datum dostopa 30. 3. 2021).

Clinical data. EMA; dostopno na <https://clinicaldata.ema.europa.eu/web/cdp/home> (datum dostopa 30. 3. 2021)

Comirnaty: EPAR – Public assessment report). EMA; dostopno na https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/comirnaty-epar-public-assessment-report_en.pdf (datum dostopa 30. 3. 2021).

E. E. Walsh in sod. »RNA-based COVID-19 vaccine BNT162b2 selected for a pivotal efficacy study.« *N Engl J Med.* **2020**, 383.

F. P. Polack in sod. »Safety and Efficacy of the BNT162b2 RNA COVID-19 Vaccine.« *N Engl J Med.* **2020**, 383.

K. A. Swanson in sod. »Neutralizing activity of BNT162b2-elicited serum.« *N Engl J Med.* **2021**.

M. C. Castells, E. J. Phillips. »Maintaining Safety with SARS-CoV-2 Vaccine.« *N Engl J Med.* **2021**, 384.

N. Dragan in sod. »BNT162b2 mRNA COVID-19 Vaccine in a Nationwide Mass Vaccination Setting.« *N Engl J Med.* **2020**.

Pfizer and BioNTech Commence Global Clinical Trial to Evaluate COVID-19 Vaccine in Pregnant Women. Pfizer; dostopno na <https://investors.biontech.de/news-releases/news-release-details/pfizer-and-biontech-commence-global-clinical-trial-evaluate> (datum dostopa 30. 3. 2021)

Pfizer and BioNTech Initiate a Study as Part of Broad Development Plan to Evaluate COVID-19 Booster and New Vaccine Variants. Pfizer; dostopno na <https://investors.biontech.de/news-releases/news-release-details/pfizer-and-biontech-initiate-study-part-broad-development-plan> (datum dostopa 30. 3. 2021).

Scientists study mass vaccination in Austrian district hit hard by South African COVID variant. Euronews; dostopno na <https://www.reuters.com/article/us-health-coronavirus-austria-idUSKBN2AV1CF?fbclid=IwAR2zPLPS101Q8n2BoQfnbcTeEmbXKOUTziYnqRLd0snB5KFeMA55WrLODE> (datum dostopa 30. 3. 2021).

Vektorska cepiva

J. R. Teijaro in D. L. Farber. COVID-19 vaccines: modes of immune activation and future challenges. *Nat. Rev. Immunol.* **2021**, 21, 195–197.

S. Singh, R. Kumar in B. Agrawal. »Adenoviral Vector-Based Vaccines and Gene Therapies: Current Status and Future Prospects.« *Adenoviruses* **2019**.

Značilnosti cepiva proizvajalca AstraZeneca

A. Almuqrin, A. Davidson, M. K. Williamson, P. Lewis, K. Heesom, S. Morris, S. Gilbert in D. Matthews. »SARS-CoV-2 candidate vaccine ChAdOx1 nCoV-19 infection of human cell lines reveals a normal low range of viral backbone gene expression alongside very high levels of SARS-CoV-2 S glycoprotein expression.« *Genome Med.* **2020**, 1–17.

Assessment report COVID-19 Vaccine AstraZeneca; dostopno na <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/covid-19-vaccine-astrazeneca?fbclid=IwAR081Lvs179VBNzxf00OvZojZliM98180RbuliEiytkH-gGVl0MouiDAZs#authorisation-details-section> (datum dostopa 19. 3. 2021).

M. D. J. Dicks, A. J. Spencer, N. J. Edwards, G. Wadell, K. Bojang, S. C. Gilbert, A. V. S. Hill in M. G. Cottingham »A novel chimpanzee adenovirus vector with low human seroprevalence: Improved systems for vector derivation and comparative immunogenicity.« *PLoS One* **2012**, 7(7).

N. van Doremalen in sod. »ChAdOx1 nCoV-19 vaccine prevents SARS-CoV-2 pneumonia in rhesus macaques.« *Nature* **2020**, 586(7830), 578–582.

P. M. Folegatti in sod. »Safety and immunogenicity of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine against SARS-CoV-2: a preliminary report of a phase 1/2, single-blind, randomised controlled trial.« *Lancet* **2020**, 396(10249), 467–478.

S. Singh, R. Kumar in B. Agrawal. »Adenoviral Vector-Based Vaccines and Gene Therapies: Current Status and Future Prospects.« *Adenoviruses* **2019**.

Rezultati kliničnih testiranj cepiva proizvajalca AstraZeneca

AZD1222 US Phase III trial met primary efficacy endpoint in preventing COVID-19 at interim analysis; dostopno na <https://www.astrazeneca.com/media-centre/press-releases/2021/astrazeneca-us-vaccine-trial-met-primary-endpoint.html> (datum dostopa 19. 3. 2021).

COVID-19 Vaccine AstraZeneca: benefits still outweigh the risks despite possible link to rare blood clots with low blood platelets | European Medicines Agency; dostopno na <https://www.ema.europa.eu/en/news/covid-19-vaccine-astrazeneca-benefits-still-outweigh-risks-despite-possible-link-rare-blood-clots> (datum dostopa 19. 3. 2021).

E. Callaway. »Oxford Covid Vaccine Results Puzzle Scientists.« *Nature* **2020**, 588.

Federal Health Officials Say AstraZeneca Vaccine Trial May Have Relied on 'Outdated Information'; dostopno na <https://www.nytimes.com/live/2021/03/22/world/covid-vaccine-coronavirus-cases> (datum dostopa 19. 3. 2021).

M. Voysey in sod. »Single Dose Administration, And The Influence Of The Timing Of The Booster Dose On Immunogenicity and Efficacy Of ChAdOx1 nCoV-19 (AZD1222) Vaccine.« *SSRN Electron. J.* **2021**. doi:10.2139/ssrn.3777268.

Značilnosti cepiva proizvajalca Johnson & Johnson / Janssen

J. Custers, d. Kim in sod. »vaccines based on replication incompetent ad26 viral vectors: standardized template with key considerations for a risk/benefit assessment.« *vaccine* **2020**. 10.1016/j.vaccine.2020.09.018.

L. Tostanoski, f. Wegman in sod. »ad26 vaccine protects against sars-cov-2 severe clinical disease in hamsters.« *nature medicine*. **2020**, 26, 1-7.

R. Bos, I. Rutten in sod. »ad26 vector-based covid-19 vaccine encoding a prefusion-stabilized sars-cov-2 spike immunogen induces potent humoral and cellular immune responses.« *npj vaccine* **2020**, 28, 5-91.

P. L. Abbink, e. Angelique in sod. »comparative seroprevalence and immunogenicity of six rare serotype recombinant adenovirus vaccine vectors from subgroups b and d.« *journal of virology* **2007**, 81, 4654-63.

N. B. Mercado, r. Zahn, f. Wegmann in sod. »single-shot ad26 vaccine protects against sars-cov-2 in rhesus macaques.« *nature* **2020**, 586, 583–588.

L. G. Sadoff j, g. Shukarev in sod. »interim results of a phase 1-2a trial of ad26.cov2.s covid-19 vaccine.« *n engl j med*. **2021**. Doi: 10.1056/nejmoa2034201.

Janssen investigational covid-19 vaccine: interim analysis of phase 3 clinical data released; dostopno na <https://www.nih.gov/news-events/news-releases/janssen-investigational-covid-19-vaccine-interim-analysis-phase-3-clinical-data-released> (datum dostopa 5. 4. 2021).

Fact sheet for recipients and caregivers' emergency use authorization (eua) of the janssen covid-19 vaccine to prevent coronavirus disease 2019 (covid-19) in individuals 18 years of age and older; dostopno na <https://www.fda.gov/media/146305/download> (datum dostopa 5. 4. 2021).

Johnson & johnson covid-19 vaccine authorized by u.s. fda for emergency use - first single-shot vaccine in fight against global pandemic; dostopno na <https://www.jnj.com/johnson-johnson-covid-19-vaccine-authorized-by-u-s-fda-for-emergency-use-first-single-shot-vaccine-in-fight-against-global-pandemic> (datum dostopa 5. 4. 2021).

Per.c6 cell lines; dostopno na https://www.gmp-creativebiolabs.com/per-c6-cell-lines_74.htm (datum dostopa 5. 4. 2021).

Covid vaccine: eu regulators approve johnson & johnson shot; dostopno na <https://www.dw.com/en/covid-vaccine-eu-regulators-approve-johnson-johnson-shot/a-56834858> (datum dostopa 5. 4. 2021).

Značilnosti cepiva proizvajalca Gamaleya

COVID-19 and Sputnik V Vaccine; dostopno na https://www.researchgate.net/publication/344336325_COVID-19_and_Sputnik_V_Vaccine (datum dostopa 10. 4. 2021)

D. Logunov in sod. »Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia.« *The Lancet*. **2021**, 397.

How Gamaleya's Vaccine Works; dostopno na <https://www.nytimes.com/interactive/2021/health/gamaleya-covid-19-vaccine.html> (datum dostopa 10. 4. 2021)

I. Jones in P. Roy. »Sputnik V COVID-19 vaccine candidate appears safe and effective.« *The Lancet*. **2021**, 8(4), e26.

N. Hilal, N. Melhem, F. El-Jardali. »K2P COVID-19 Series: A Closer Look at COVID-19 Vaccines: The Known, the Unknown, and the Uncertain.« *Knowledge to Policy (K2P) Center*, **2021**.

Phase III trial shows Sputnik V COVID-19 vaccine is 91.6 percent effective; dostopno na <https://www.europeanpharmaceuticalreview.com/news/141597/phase-iii-trial-shows-sputnik-v-covid-19-vaccine-is-91-6-percent-effective/> (datum dostopa 10. 4. 2021).

Russia's Sputnik V COVID-19 Vaccine: How They Did It; dostopno na <https://swarajyamag.com/science/russias-sputnik-v-covid-19-vaccine-how-they-did-it> (Datum dostopa 10. 4. 2021)

Russian SARS-CoV-2 vaccine; dostopno na <https://www.bmj.com/content/370/bmj.m3270> (datum dostopa 10. 4. 2021)

Scientists question 'strange' data in Russian coronavirus vaccine trial after 'unlikely' patterns; dostopno na <https://www.cnbc.com/2020/09/10/scientists-question-russian-vaccine-trial-data-on-unlikely-patterns.html> (datum dostopa 10. 4. 2021)

Sputnik V vaccine has 91.6% efficacy against symptomatic Covid, Russian trial suggests; dostopno na <https://www.theguardian.com/society/2021/feb/02/sputnik-v-vaccine-has-916-efficacy-against-symptomatic-covid-russian-trial-suggests> (datum dostopa 10.4.2021)

Sputnik V. The First Registered COVID-19 Vaccine. Proven Human Adenoviral Vector Technology; dostopno na <https://sputnikvaccine.com/about-vaccine/clinical-trials/> (datum dostopa 10. 4. 2021)

The Russian Direct Investment Fund: RDIF, The Gamaleya National Center, AstraZeneca and R-Pharm sign an agreement to cooperate on COVID-19 vaccine development; dostopno na https://rdif.ru/Eng_fullNews/6220/ (datum dostopa 10. 4. 2021).

Značilnosti cepiva proizvajalca CanSino

S. Wu in sod. »A single dose of an adenovirus-vectored vaccine provides protection against SARS-CoV-2 challenge.« *Nat. Commun.* **2020**.

N. Tatsis in H. C. J. Ertl. »Adenoviruses as vaccine vectors.« *Molecular Therapy* **2004**.

H. Fausther-Bovendo in G. P. Kobinger »Pre-existing immunity against Ad vectors: Humoral, cellular, and innate response, what's important?« *Human Vaccines and Immunotherapeutics* **2014**.

F. C. Zhu in sod. »Immunogenicity and safety of a recombinant adenovirus type-5-vectored COVID-19 vaccine in healthy adults aged 18 years or older: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial.« *Lancet* **2020**, 396, 479–488.

Inaktivirana cepiva

E. Callaway. The race for coronavirus vaccines: a graphical guide. *Nature* **2020**, 580, 576–577.

Značilnosti cepiva proizvajalcev Sinopharm in Sinovac

Big Chile study finds Chinese vaccine slashes COVID deaths - ABC News; dostopno na <https://abcnews.go.com/Health/wireStory/big-chile-study-finds-chinese-vaccine-slashes-covid-77120616> (datum dostopa 20. 4. 2021).

CoronaVac – Wikipedia; dostopno na <https://en.wikipedia.org/wiki/CoronaVac> (datum dostopa 20. 4. 2021).

H. Wang in sod. »Development of an Inactivated Vaccine Candidate, BBIBP-CorV, with Potent Protection against SARS-CoV-2.« *Cell* **2020**, 182(3), 713- 721.e9.

Principles of Vaccination; dostopno na <https://www.cdc.gov/vaccines/pubs/pinkbook/prinvac.html> (Datum dostopa 20. 4. 2021).

S. Xia in sod. »Safety and immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine, BBIBP-CorV: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1/2 trial.« *Lancet Infect. Dis.* **2021**, 21(1), 39–51.

Sinopharm (Beijing): BBIBP-CorV – COVID19 Vaccine Tracker; dostopno na

<https://covid19.trackvaccines.org/vaccines/5/#trial-chictr2000034780> (datum dostopa 20. 4. 2021).

Sinopharm's COVID-19 vaccine 79% effective, seeks approval in China | Reuters; dostopno na <https://www.reuters.com/article/us-health-coronavirus-china-vaccine/sinopharms-covid-19-vaccine-79-effective-seeks-approval-in-china-idUSKBN2940C8> (datum dostopa 20. 4. 2021).

Sinovac: CoronaVac – COVID19 Vaccine Tracker; dostopno na <https://covid19.trackvaccines.org/vaccines/7/#trial-nct04651790> (datum dostopa 20. 4. 2021).

Y. Zhang in sod. »Safety, tolerability, and immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine in healthy adults aged 18–59 years: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1/2 clinical trial.« *Lancet Infect. Dis.* **2021**, 21(2), 181–192.

Značilnosti cepiva proizvajalca Bharat Biotech

B. Ganneru in sod. »Th1 skewed immune response of whole virion inactivated SARS CoV 2 vaccine and its safety evaluation.« *iScience* **2021**, 24(4), 102298.

Bharat Biotech, COVAXIN® - India's First Indigenous COVID-19 Vaccine; dostopno na <https://www.bharatbiotech.com/covaxin.html> (datum dostopa 20. 4. 2021)

D. McMaster, M. Veremu in K. Jonas. »Inactivated COVID-19 vaccine BBV152/COVAXIN effectively neutralizes recently emerged B.1.1.7 variant of SARS-CoV-2.« *Int. Soc. Travel Med.* **2020**, 1–56.

Fact sheet for vaccine recipients & caregivers restricted use in emergency situation of covid-19 sars-cov-2 vaccine by bharat biotech; dostopno na https://cdsco.gov.in/opencms/export/sites/CDSCO_WEB/en/biotechver.pdf (datum dostopa 20. 4. 2021)

How Bharat Biotech's Vaccine Works; dostopno na <https://www.nytimes.com/interactive/2021/health/bharat-biotech-covid-19-vaccine.html> (datum dostopa 10. 4. 2021).

P. D. Yadav in sod. »Immunogenicity and protective efficacy of inactivated SARS-CoV-2 vaccine candidate, BBV152 in rhesus macaques.« *Nat. Commun.* **2021**, 12(1), 1–11, 2021.

S. Mohandas in sod. »Immunogenicity and protective efficacy of BBV152, whole virion inactivated SARS- CoV-2 vaccine candidates in the Syrian hamster model.« *iScience* **2021**, 24(2), 102054.

Cepiva iz delov patogena

E. Callaway. The race for coronavirus vaccines: a graphical guide. *Nature* **2020**, 580, 576–577.

Značilnosti cepiva proizvajalca Novavax

C. Boutin: NIST Clarifies Structure of Prospective Vaccine for Respiratory Virus | NIST; dostopno na <https://www.nist.gov/news-events/news/2020/12/nist-clarifies-structure-prospective-vaccine-respiratory-virus> (datum dostopa 3. 5. 2021).

C. Keech in sod. »Phase 1–2 Trial of a SARS-CoV-2 Recombinant Spike Protein Nanoparticle Vaccine.« *N. Engl. J. Med.* **2020**, 383(24), 2320–2332.

E. Mahase. »Covid-19: Moderna and Novavax vaccines to be tested in mixing vaccines trial.« *BMJ* **2021**, 372, n971.

J. H. Tian in sod. »SARS-CoV-2 spike glycoprotein vaccine candidate NVX-CoV2373 immunogenicity in baboons and protection in mice.« *Nat. Commun.* **2021**, 12(1), 1–14.

J. M. Reimer in sod. »Matrix-MTM Adjuvant Induces Local Recruitment, Activation and Maturation of Central Immune Cells in Absence of Antigen.« *PLoS One*. **2012**, 7(7), e41451.

N. Formica in sod. »Evaluation of a SARS-CoV-2 Vaccine NVX-CoV2373 in Younger and Older Adults.« *medRxiv* **2021**, str. 2021.02.26.21252482.

Novavax Confirms High Levels of Efficacy Against Original and Variant COVID-19 Strains in United Kingdom and South Africa Trials | Novavax Inc. - IR Site; dostopno na <https://ir.novavax.com/news-releases/news-release-details/novavax-confirms-high-levels-efficacy-against-original-and-0> (datum dostopa 4. 5. 2021).

Novavax Initiates Phase 2 Portion of Phase 1/2 Clinical Trial of COVID-19 Vaccine | Novavax Inc. - IR Site; dostopno na <https://ir.novavax.com/news-releases/news-release-details/novavax-initiates-phase-2-portion-phase-1-2-clinical-trial-covid> (datum dostopa 4. 5. 2021).

Phase 3 trial of Novavax investigational COVID-19 vaccine opens | National Institutes of Health (NIH); dostopno na <https://www.nih.gov/news-events/news-releases/phase-3-trial-novavax-investigational-covid-19-vaccine-opens> (datum dostopa 4. 5. 2021).

Polysorbate 80 – Wikipedia; dostopno na https://en.wikipedia.org/wiki/Polysorbate_80 (datum dostopa 3. 5. 2021).

S. Bangaru in sod. »Structural analysis of full-length SARS-CoV-2 spike protein from an advanced vaccine candidate.« *Science*. **2020**, 370(6520), 1089–1094.

The Cold Truth about COVID-19 Vaccines; dostopno na <https://www.genengnews.com/news/the-cold-truth-about-covid-19-vaccines/> (datum dostopa 4. 5. 2021).

Urgent global health needs addressed by Novavax; dostopno na <https://www.novavax.com/our-unique-technology> (datum dostopa 3. 5. 2021).

Značilnosti cepiva proizvajalca Vector

A. B. Ryzhikov in sod. »A single blind, placebo-controlled randomized study of the safety, reactogenicity and immunogenicity of the 'EpiVacCorona' Vaccine for the prevention of COVID-19, in volunteers aged 18–60 years (phase I–II).« *Russ. J. Infect. Immun.* **2021**, 11(2), 283–296.

A. B. Ryzhikov in sod. »Immunogenicity and protectivity of the peptide candidate vaccine against SARS-CoV-2.« *Ann. Russ. Acad. Med. Sci.* **2021**, 76(1), 5–19.

A. B. Ryzhikov in sod. »Peptide immunogens and vaccine composition against COVID-19 coronavirus infection using peptide immunogens.« Patent RU 2738081. **2020**.

EpiVacCorona – Wikipedia; dostopno na <https://en.wikipedia.org/wiki/EpiVacCorona> (datum dostopa 5. 5. 2021).

EpiVacCorona Vaccine – precision vaccinations; dostopno na <https://www.precisionvaccinations.com/vaccines/epivaccorona-vaccine> (datum dostopa 4. 5. 2021)

G. B. Fields. »Introduction to peptide synthesis.« *Current protocols in protein science* **2002**, 18, 18.1.

Study of the Safety, Reactogenicity and Immunogenicity of "EpiVacCorona" Vaccine for the Prevention of COVID-19 (EpiVacCorona) Dostopno na <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04527575> (datum dostopa 4. 5. 2021)

Study of the Tolerability, Safety, Immunogenicity and Preventive Efficacy of the EpiVacCorona Vaccine for the

Prevention of COVID-19; dostopno na <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04780035?id=NCT04780035&draw=2&rank=1&load=cart> (datum dostopa 4. 5. 2021)

Značilnosti cepiva proizvajalca VBI Vaccines

A. C. Fluckiger in sod. »An enveloped virus-like particle vaccine expressing a stabilized prefusion form of the SARS-CoV-2 spike protein elicits potent immunity after a single dose.« *bioRxiv* **2021**.

CSO Preclinical Coronavirus Program Data; dostopno na https://1o976r1jw2eculmeoxz46ig6-wpengine.netdna-ssl.com/wp-content/uploads/2020/08/August-2020-VBI-2900-Preclinical-Data-Announcement_Final.pdf (datum dostopa 10. 5. 2021)

VBI-2902 – Wikipedia; dostopno na <https://en.wikipedia.org/wiki/VBI-2902> (datum dostopa 5. 5. 2021)

VBI-2902a - ClinicalTrials.gov, Safety, Tolerability, and Immunogenicity of the COVID-19 Vaccine Candidate (VBI-2902a); dostopno na <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04773665> (datum dostopa 7. 5. 2021)

VBIVACCINE - VBI Vaccines Announces Preclinical Coronavirus Program Data and Selection of Clinical Candidates with Potential as One-Dose Vaccines; dostopno na <https://www.vbivaccines.com/press-releases/preclinical-coronavirus-data-candidate-selection/> (datum dostopa 7. 5. 2021)

VBIVACCINE – VBI Vaccines Announces Publication of Preclinical and Challenge Study Data of its eVLP Vaccine Candidate Against COVID-19 (VBI-2902); dostopno na <https://www.vbivaccines.com/press-releases/vbi-2902-preclinical-and-challenge-study-data/> (datum dostopa 6. 5. 2021)

Uporabnost obstoječih cepiv proti novim variantam virusa SARS-CoV-2

Brazilian, UK and South African variants; dostopno na <https://www.bhf.org.uk/informationsupport/heart-matters-magazine/news/coronavirus-and-your-health/covid-variant#UKModerna> (datum dostopa 25. 5. 2021)

D. Connelly: Everything you need to know about COVID-19 vaccines. The Pharmaceutical Journal; dostopno na <https://pharmaceutical-journal.com/article/feature/everything-you-need-to-know-about-covid-19-vaccines> (datum dostopa 26. 5. 2021)

Sledenje različicam SARS-CoV-2; dostopno na <https://www.nlzoh.si/objave/sledenje-razlicicam-sars-cov-2-5/> (datum dostopa 24. 5. 2021)

Opuščena cepiva

F. Tangy in H. Y. Naim. »Live attenuated measles vaccine as a potential multivalent pediatric vaccination vector.« *Viral Immunol.* **2005**, 18(2), 317–326.

IAVI Press release; dostopno na <https://www.iavi.org/news-resources/press-releases/2021/merck-and-iavi-discontinue-development-of-covid-19-vaccine-candidate-v590> (datum dostopa 7. 4. 2021).

Independent - Imperial College London; dostopno na <https://www.independent.co.uk/news/health/covid-vaccine-variant-imperial-college-uk-b1792766.html> (datum dostopa 6. 4. 2021).

Institut Pasteur Press release: dostopno na <https://www.pasteur.fr/en/research-journal/press-documents/covid-19-progress-update-institut-pasteur-scientific-response-and-vaccine-candidate-research> (datum dostopa 7. 4. 2021).

M. E. Dieterle in sod. »A replication-competent vesicular stomatitis virus for studies of SARS-CoV-2 spike-mediated cell entry and its inhibition.« *bioRxiv Prepr. Serv. Biol.* **2020**.

Molecular clamp vaccines; dostopno na <https://www.nature.com/articles/d42473-020-00504-2?source=globalbiodefense&fbclid=IwAR2akaPqMNeVnHbnkKEZlHg11d-bNQT18xfM8KIT9dFNeLw6QNGXu5JGjEc> (datum dostopa 6. 4. 2021).

Precision vaccinations; dostopno na <https://www.precisionvaccinations.com/vaccines/uq-csl-v451-vaccine> (datum dostopa 6. 4. 2021).