



mRNA Temelli SARS-CoV-2 Aşıları ve Devam Eden Çalışmalar mRNA Based SARS-CoV-2 Vaccines and Ongoing Researches

Tuğrul HOŞBUL¹ [ID], Ülkü İrem YILMAZ² [ID], Canset Nur AYDOĞAN¹ [ID], Fatih ŞAHİNER¹ [ID]

¹Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye [Department of Medical Microbiology, Gulhane Medical Faculty, University of Health Sciences, Ankara, Turkey].

²Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye [Department of Medical Microbiology, Gulhane Institute of Health Sciences, University of Health Sciences, Ankara, Turkey].

Makale geçmişi [Article Info]: Geliş Tarihi (Received): 22.01.2021. Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 30.01.2021.

İletişim [Correspondence]: Tuğrul Hoşbul; Dr.Öğr.Üy., Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye. E-posta: tugrulhosbul@gmail.com [Tuğrul Hoşbul; Asst.Prof., Department of Medical Microbiology, Gulhane Medical Faculty, University of Health Sciences, Ankara, Turkey. E-mail: tugrulhosbul@gmail.com]

Özet

SARS-CoV-2 (Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) insanları ve bir dizi hayvan türünü enfekte eden ve insanlarda COVID-19 (coronavirus disease 2019) olarak adlandırılan hastalığa neden olan, yüksek bulaştırıcılık hızı ile ciddi bir sağlık krizi ve küresel pandemiye neden olan bir RNA virüsüdür. Tüm dünyada sosyoekonomik hayat üzerine yıkıcı etkilere neden olan SARS-CoV-2 pandemisinin kontrol altına alınmasında standart halk sağlığı önlemlerinin etkileri dönemsel ve bölgesel düzeyde sınırlı kalmış ve bu büyük krizi kontrol altına almada aşılar atfedilen önem en üst düzeye çıkmıştır. Geçmişte bir benzeri ile Zika virus salgınında karşılaşmış olmasına rağmen, SARS-CoV-2 pandemisinde aşı çalışmaları tarihte eşi görülmemiş bir hıza ve kapsama ulaşmıştır. Son bir yıl içerisinde başlayan aşı çalışmaları arasında Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından izlenen aşı adaylarının sayısı 236'ya ulaşırken bunların 63'ü klinik çalışma aşamalarına ulaşmıştır. Bunlar içerisinde 30'a yakın mRNA aşı adayından ise 7'si klinik çalışma aşamalarına ulaşmış ve 2020 Aralık itibarıyla yeni geliştirilen birkaç mRNA aşısı "acil kullanım onayları" ile milyonlarca kişiye uygulanmıştır. SARS-CoV ve MERS-CoV (Middle East respiratory syndrome coronavirus) üzerinde yapılan çalışmalar virüsün hücreye girişinde kritik önemi olan ve çok sayıda nötralizan epitop barındıran S proteininin aşı tasarımı için çekici bir hedef olduğunu ortaya koymuştur. Günümüzde de, S proteinini veya bu proteinin alt birimlerini kodlayan mRNA temelli aşılar kromozoma entegre olma veya enfeksiyon riski taşımamaları, düşük doz aşılarla yüksek düzeyde antikor yanıtını uyarmaları, hızlı tasarım ve ölçeklenebilir üretim avantajları ile küresel aşılama programlarının baskın aşı platformları olmuştur. Türkiye'de ise bir mRNA aşı adayının preklinik çalışmaları devam ederken, farklı bir mRNA aşısının (BNT162b2) faz III çalışmalarına Türkiye'den birçok merkez dahil olmuştur. SARS-CoV-2 salgının başlangıcından itibaren izlenen yeni mutasyonlar mRNA aşılarının etkinliği ile ilgili endişelere neden olurken, yakın zamanda yapılan analizler ve laboratuvar çalışmaları (nötralizasyon testleri) yeni varyantların henüz aşı etkinliği üzerinde ciddi etkileri olmadığını göstermektedir. Yıkıcı etkileri olan küresel bir salgına hızlı müdahale amacıyla, klinik çalışmaları hızlı bir şekilde tamamlanan ve uzun dönem olası yan etkileri ile ilgili verilerin bulunmadığı bu aşılar için önümüzdeki süreçte güvenlik ve etkinlik ile ilgili daha detaylı verilere ulaşılacağı beklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: SARS-CoV-2, mRNA, BNT162b2, mRNA-1273, Yeni varyantlar, Mutasyon, S proteini.

Abstract

SARS-CoV-2 (Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) is an RNA virus that infects humans and a number of animal species and causes the disease called COVID-19 (coronavirus disease 2019) in humans, causing a severe health crisis and global pandemic with its high rate of transmission. In controlling the SARS-CoV-2 pandemic, which has devastating effects on socioeconomic life all over the world, the effects of standard public health measures have remained limited at periodic and regional levels, and the importance attributed to vaccines in controlling that great crisis has reached the highest level. Although a similar situation has been encountered in the Zika virus outbreak in the past, vaccination studies in the SARS-CoV-2 pandemic have reached an unprecedented speed and scope in history. Among the vaccine studies that started in the last year, the number of vaccine candidates monitored by the World Health Organization (WHO) have reached 236 and 63 of them have reached the clinical study stages. Among these, nearly 30 are mRNA vaccines and 7 of them have reached clinical study stages and as of December 2020, and several newly developed mRNA vaccines have been applied to millions of people with "emergency use authorization". Studies conducted on SARS-CoV and MERS-CoV (Middle East respiratory syndrome coronavirus) have revealed that the S protein, which has a critical importance in the entry of the virus into the cell and contains a large number of neutralizing epitopes, is an attractive target for vaccine design. Today, mRNA-based vaccines encoding the S protein or its subunits have become the dominant vaccine platforms of global vaccination programs, with the advantage of not having the potential risk of infection or being integrated to into the chromosome, stimulating a high level of antibody response with low dose vaccination, rapid design and scalable production. While the preclinical studies of an mRNA vaccine candidate are continuing in Turkey, many centers from Turkey have been involved in the phase III trials of a different mRNA vaccine (BNT162b2). New mutations monitored since the beginning of the SARS-CoV-2 outbreak raise concerns about the effectiveness of mRNA vaccines, recent analyzes and laboratory studies (neutralization tests) show that the new variants do not yet have a serious impact on vaccine efficacy. It is expected that more detailed data about safety and efficacy will be available in the upcoming period for these vaccines, for which clinical studies have been completed quickly and there are no data on long-term possible side effects in order to respond rapidly to a global epidemic with devastating effects.

Keywords: SARS-CoV-2, mRNA, BNT162b2, mRNA-1273, New variants, Mutation, S protein.

Giriş

Son yüzyılda aşilar birçok bulaşıcı hastalığın yıkıcı etkilerini azaltarak toplumsal ve ekonomik temelde dünyanın yeniden şekillendirilmesinde önemli bir rol oynamıştır [1,2]. Mevsimsel grip örneğinde olduğu gibi enfeksiyon hastalıklarının tedavi maliyetleri yüksek olup, yaygın profilaktik aşılama bu maliyetleri önemli ölçüde düşürmekte ve insanları birçok viral hastalıktan etkili ve sürdürülebilir bir şekilde korumaktadır [1]. SARS-CoV-2 (Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) başlıca solunum damlacıkları ile bulaşan ve COVID-19 (*coronavirus disease 2019*) olarak adlandırılan solunum yolu hastalığına neden olan zoonotik bir RNA virüsüdür [3]. Bu virüsün Aralık 2019'da ortaya çıkışı, geçtiğimiz bir yıl içerisinde dünya çapında yıkıcı sonuçlar doğurmuştur. Maske kullanımı, fiziksel mesafe ve izolasyon uygulamaları, semptomatik kişilerin test edilmesi ve temaslı takibi gibi koruyucu halk sağlığı önlemlerinin titizlikle uygulandığı yerlerde

salgının yayılımı bir derece sınırlandırılmasına rağmen; ekonomik ve sosyolojik nedenlerle bu eylemlerin sürdürülebilir olmaması, salgının yayılımını ve olumsuz sonuçlarını engellemede yetersiz kalması endişe verici bir durumdur [4].

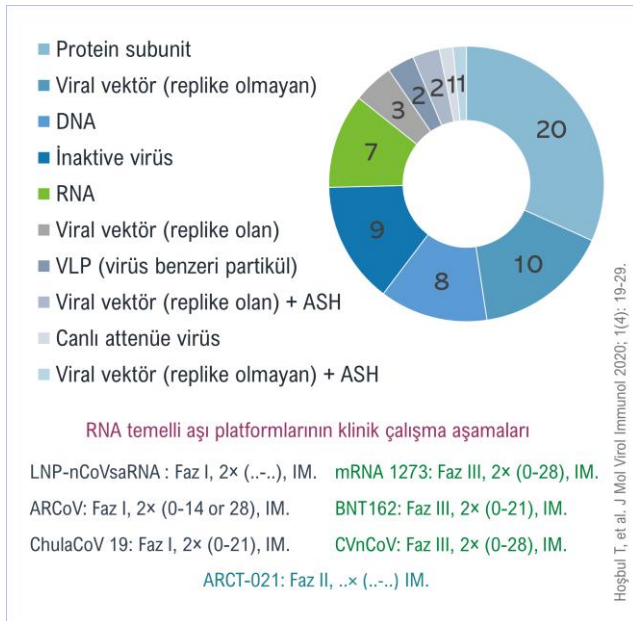
Salgının yayılımını önlemek ve komplikasyon riski yüksek olan kişileri şiddetli hastalık tablolarından korumak ve dolayısıyla hastalıkla ilişkili morbidite ve mortaliteyi azaltmak için aşılara acil ihtiyaç vardır. Bu acil duruma yanıt vermek adına yürütülen çalışmalarda çok sayıda aşı platformu klinik çalışma aşamalarına ulaşmıştır [5].

SARS-CoV-2 için en çok protein subünit temelli aşilar üzerinde çalışılırken, diğer aşı adayları arasında; viral vektör temeli aşilar, RNA (ribonükleik asit) ve DNA (deoksiribonükleik asit) aşiları, virüs benzeri partiküller (*virus like particle*, VLP), inaktive aşilar ve az sayıda canlı attenüe virüs aşı formatı yer almaktadır (Şekil 1) [5].

Bu makalede daha detaylı olarak ele alınan mRNA (*messenger RNA*) temelli aşılar geleneksel aşı platformlarının koruyucu bağışıklık tepkilerini uyarmada yetersiz kaldığı çeşitli kanser türleri ve bulaşıcı patojenlerle mücadelede gelecek için umut vaat eden nispeten yeni bir aşı sınıfını temsil etmektedir [6]. mRNA aşı platformu, immünojen tasarım ve üretimindeki esnekliği ve yüksek etkinliği göz önüne alındığında, yeni ortaya çıkan enfeksiyon etkenleri ve pandemi durumlarında hızlı üretim kapasitesi ve uygun maliyeti ile avantajlı bir strateji olarak görülmektedir [7,8].

SARS-CoV-2 Aşı Çalışmaları

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından takip edilen 200'den fazla aşı adayından 63 SARS-CoV-2 aşı adayı klinik deneme (faz I-III) aşamalarına ulaşmışken, 173 aşı adayı ise Ocak 2021 itibariyle klinik öncesi çalışma aşamalarında [1,5]. Bu aşılarından 30'a yakını ise mRNA temelli aşılar, bunların da yedisi klinik çalışma aşamasındadır [5]. Yakın zamanda, mRNA temelli iki SARS-CoV-2 aşısı, BNT162b2 ve mRNA-1273, Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) acil kullanım onayı (*Emergency Use Authorization, EUA*) almıştır [9,10]; BNT162b2'ye ayrıca Birleşik Krallık [11], Kanada ve Avrupa Birliği başta olmak üzere birçok ülkede EUA verilmiştir [3,12].



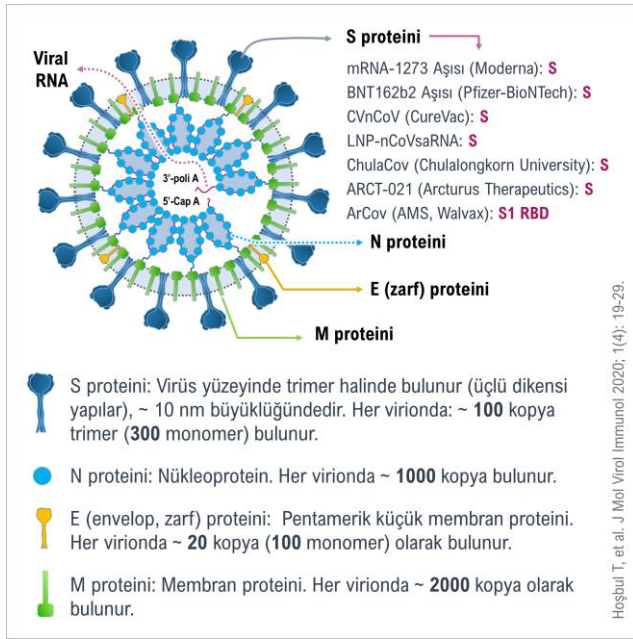
Şekil 1. Klinik çalışma aşamalarındaki SARS-CoV-2 aşıları ve mRNA temelli aşılar. IM: İntramusküler. ASH: Antijen sunan hücre. 2x: İki doz aşı uygulaması.

SARS-CoV-2 Aşılarında Hedef Proteinler

SARS-CoV-2, yüzeyindeki dikensi proteinlerle (başak proteini, S proteini, *spike protein*) belirli hücrelerin yüzeylerinde eksprese edilen ACE-2 (anjyotensin dönüştürücü enzim 2) reseptörlerine bağlanarak hedef hücreleri enfekte eder [3]. SARS-CoV ve SARS-CoV-2 virüsleri yüksek sekans benzerliğine sahip oldukları gibi, insan hücrelerini enfekte etmek için benzer giriş yolunu kullanırlar [13,14]. Geçmişte SARS-CoV ve MERS-CoV (Middle East respiratory syndrome CoV) ile yapılan çalışma ve analizlerinden elde edilen bilgiler; tam uzunluktaki S proteininin ve S1, RBD (*receptor-binding domain*) ve S2 alt birim proteinlerinin nötralize edici antikorları indükleyen çok sayıda anahtar epitop içerdiğini tanımlamıştır [1,15]. Ek olarak S proteini (hem SARS-CoV hem de SARS-CoV-2'de) enfekte olan ve olmayan hücreler arasındaki füzyonu indükleyerek, virüsün nötralize edici antikorlardan kaçınmasına ve hücreler arasında doğrudan yayılmasına izin verir [1].

Virüsün hücreye girişi sırasında S proteininin S1 alt biriminin RBD bölgesi (Şekil 2), insan hücrelerindeki ACE-2 reseptörü ile etkileşime girer ve ardından S2 alt biriminin füzyon peptidinin aracılık ettiği membran füzyonu gerçekleşir [13]. Virüsün hücreye girişinde S proteininin oynadığı kritik rol, onu COVID-19 aşıları için ilgi çekici bir hedef haline getirmiştir [1,3]. Ayrıca, COVID-19 hastalarında üretilen fonksiyonel nötralize edici antikorların çoğunlukla S proteini içindeki epitoplara hedeflediği bulunmuştur, ki bu da S proteininin SARS-CoV-2'ye karşı aşılama için umut verici bir hedef olduğunu düşündürmektedir [1,13,16]. Hem N-terminal bağlanma alanını (NTD) hem de RBD'yi içeren S1 proteini (Şekil 2), aşı geliştirme çalışmalarında hedef olarak seçilmiş ve özellikle RBD alanına oluşan karşı antikorların, SARS-CoV ve MERS-CoV enfeksiyonlarını önlediği geçmiş çalışmalarda gösterilmiştir ve yine NTD bölgesi MERS-CoV için aşı hedefi olarak test edilmiştir [1,16]. Yapısal olarak benzer olmakla birlikte, SARS-CoV-2 S proteini, SARS-CoV S proteinine göre konakçı hücrelere daha yüksek bağlanma afinitesi (10 ila 20 kat) göstermiştir, ki bu durum COVID-19'un yüksek bulaşma oranını açıklamakta ve her iki virüsün S proteinlerindeki epitoplara için oluşan antikorların bağlanma

güçlerinin ve nötralizan etkinliklerinin farklılık gösterebileceğine işaret etmektedir [17,18]. Hatta bu durum SARS-CoV-2'nin yeni tanımlanan varyantları için de tartışılmaktadır [19].

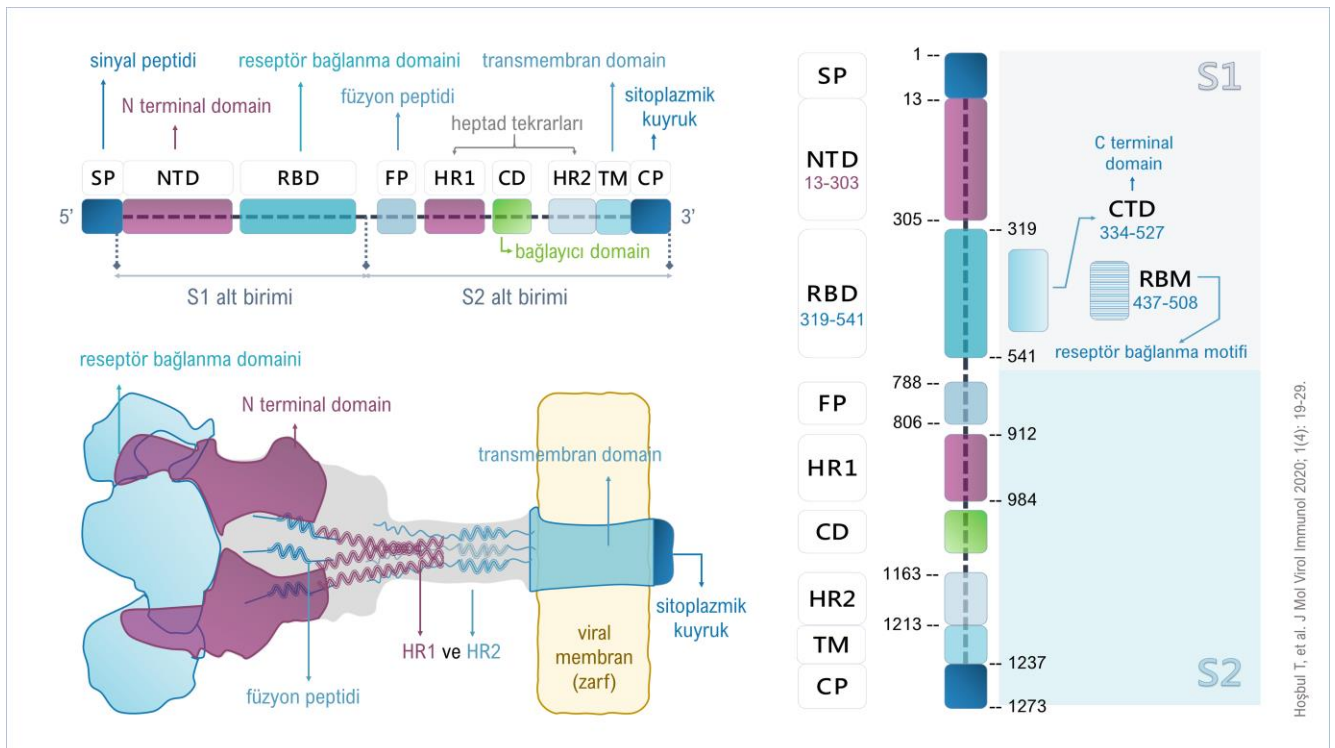


Şekil 2. SARS-CoV-2 proteinleri ve klinik çalışmaları devam eden mRNA aşısının hedefleri.

N proteini, korunmuş bir gen bölgesinden üretilmektedir ve koronavirus virionunda en yüksek kopya sayısında bulunan proteinlerden biridir [1,14]. Doğal enfeksiyonlar sırasında

oluşan N proteinine spesifik antikorların koronavirus enfeksiyonları için düşük düzeyde de olsa immün koruma sağlayabileceği belirtilmektedir [20]. Yine COVID-19 hastalarında N proteinine karşı antikor geliştiği gösterilmiş, ancak bu proteinin aşılama hedefi olarak seçilmesi tartışmalı bir konudur [1]. Bazı çalışmalarda, N proteinine karşı güçlü humoral ve hücrel immün yanıtların geliştiği gösterilmiş ve korunmuş bir bölgeden üretiliyor olması nedeniyle bu proteinin aşı hedefi olarak tercih edilebileceği önerilmiştir [1,14], farklı çalışmalarda ise N proteininin nötralizan antikor üretimine katkısının önemli derecede olmadığı değerlendirilmiştir [1].

M (membran) proteininin yüzeyde kalan amino ucunun kompleman varlığında koronavirus enfektivitesini nötralize edebilen antikorların üretimini uyardığı belirtilmektedir [20]. M proteininin transmembran kısmının yapısal analizinin yapıldığı bir çalışmada SARS-CoV'a karşı güçlü hücrel immün yanıt indüksiyonunu sağlayan bir T hücresi epitop kümesinin varlığı gösterilmiş ve bu proteinin aşı çalışmaları için hedef olabileceği belirtilmiştir [1]. SARS-CoV-2 E proteininin ise yapısal özelliği ve düşük miktarı nedeni ile güçlü bir immün yanıtı uarması düşük bir olasılıktır ve iyi bir aşı hedefi olmadığı değerlendirilmektedir [1,20].



Şekil 3. SARS-CoV-2 spike proteini genomik düzeni ve alt birimleri.

SARS-CoV 2003 mRNA Aşı Çalışmaları

Önceki bir çalışmada, 2002-2003 salgınından sorumlu olan SARS-CoV S proteininin koruyucu bağışıklık için uygun bir aşı hedefi olduğu gösterilmiştir [15]. İlgili çalışmada, tam uzunlukta (*full-length*) S proteini (FL-S) veya S proteininin böcek hücrelerinde rekombinan bakuloviruslar tarafından eksprese edilen ekstrasellüler domaini (EC-S) ile aşılama farelerde "insan ve misk kedisi SARS-CoV virüslerinin temsili suşları olan" Tor2, GD03T13 ve SZ3 kökenlerinin S proteinleri ile oluşturulan SARS psödovirüslerine karşı güçlü nötralizan aktivite gösteren yüksek titrelili anti-S antikoları geliştirdiği gösterilmiştir. Araştırmacılar bu verilere dayanarak, güçlü immünojeniteye sahip S proteini temelli aşılama insan ve hayvan SARS-CoV varyantlarına karşı yüksek titrelili nötralizan antikor tepkileri indüklediğini ve S proteininin SARS aşılama tasarımı için uygun bir hedef olabileceğini bildirmişlerdir. Aynı çalışmada S proteininin antijenik yapısı detaylı bir şekilde incelenmiş ve bağışıklanan farelerden izole edilen 38 monoklonal antikor (MAB) paneli ile karakterize edilmiştir. Anti-S epitoplarının çoğunun (32/38) S1 alanı içinde lokalize olduğu ve az bir kısmının (6/38) da S2 alanı ile eşleştiği saptanmıştır. Anti-S1 MAB'lerin 17'si NTD bölgesini hedeflerken (12 ila 327. aminoasitler-aa), 9'u reseptör bağlanma alanı (RBD; aa 318 ila 510) ve 6'sı S1 alanı içerisinde major immünodominant bölgeyi içeren C-terminal bölgesi (aa 528 ila 635) ile reaksiyona girmiştir. RBD'ye özgü MAB'lerin tümü nötralizan aktivite gösterirken, 6'sının reseptör bağlanmasını etkili bir şekilde bloke eden güçlü aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Bu veri RBD'nin majör nötralizan epitoplara içerdiği ve reseptör bağlanma ilişkisini bloke etmenin SARS-CoV nötralizasyonu için temel mekanizma olduğu şeklinde yorumlanmıştır. S1 NTD bölgesine özgü beş MAB orta derecede nötralizasyon aktivitesi sergilerken, S2 alanı ve S1'deki ana immünodominant bölge ile reaksiyona giren MAB'lerin hiçbiri nötralizasyon aktivitesi göstermemiştir [15].

mRNA-1273 Aşısı (Moderna)

Moderna mRNA-1273 aşısı, SARS-CoV-2'nin prefüzyonla stabilize edilmiş tam uzunluktaki S proteinini kodlayan, lipid nanopartikül (LNP) ile

kapsüllenmiş, intramusküler olarak uygulanan mRNA temelli bir aşıdır. Bu aşının faz III çalışma (NCT04470427) sonuçları 2020 yılının son günlerinde yayımlandı [7]. Randomize, gözlemci tarafından körleştirilen, plasebo kontrollü faz III çalışması ABD'de 99 merkezde gerçekleştirildi. SARS-CoV-2 enfeksiyonu veya komplikasyonları için yüksek risk altındaki kişilerin, 28 gün (4 hafta) arayla iki intramusküler mRNA-1273 (100 µg, her biri 0.5 mL) veya plasebo enjeksiyonu almak üzere 1:1 oranında rastgele dağıtıldığı çalışmada, birincil son nokta, SARS-CoV-2 ile daha önce enfekte olmamış katılımcılarda ikinci enjeksiyonu izleyen en az 14 günlük süre sonrasında COVID-19 hastalığının önlenmesi olarak belirlenmiştir. Çalışmaya, aşı ve plasebo gruplarında toplam 30420 gönüllü (her grupta 15210 katılımcı olmak üzere) dahil edilmiştir. Katılımcıların ikinci dozdan sonra ortalama 63 günlük (0 ila 97) takip süresi sonunda (%62'si 56 günden fazla) semptomatik COVID-19 hastalığı plasebo grubundaki 185 katılımcıda ve mRNA-1273 grubundaki 11 katılımcıda gözlemlenmiş ve aşı etkinliği %94.1 (%95 CI, %89.3 ila %96.8; P <0.001) olarak bildirilmiştir. Çalışmada 30 katılımcıda şiddetli COVID-19 enfeksiyonu meydana geldiği ve bunlardan bir olgunun ölümle sonuçlandığı bildirilirken, bu 30 olgunun tamamının plasebo grubunda olduğu belirtilmiştir [7].

Aşıya bağlı bildirilen enjeksiyon bölgesinde lokal advers olayların (orta şiddetli geçici reaktöjenite), hem ilk dozdan (%84.2'a karşın %19.8) hem de ikinci dozdan (%88.6'a karşın, %18.8) sonra plasebo grubuna kıyasla aşı grubunda daha sık meydana geldiği bildirilmiştir. Aşı (mRNA-1273) grubunda, enjeksiyon bölgesi olayları (*events*), ciddiyet açısından temel olarak derece 1 veya 2 olarak izlenmiş ve sırasıyla birinci ve ikinci dozlardan ortalama 2.6 ve 3.2 gün sonrasına kadar devam etmiştir. Enjeksiyon bölgesinde görülen en yaygın olay enjeksiyon sonrası ağrı (%86.0) olarak bildirilmiştir. Gecikmiş enjeksiyon bölgesi reaksiyonlarının (8. gün veya sonrasında başlayan) ise ilk dozdan sonra 244 katılımcıda (%0.8) ve ikinci dozdan sonra 68 katılımcıda (%0.2) kaydedildiği bildirilmiştir. Bu reaksiyonlar eritem, aşı bölgesinde sertleşme ve hassasiyet ile karakterize edilmiş ve sonraki 4 ila 5 gün içinde çözüldüğü belirtilmiştir [7].

Sistemik advers olaylar, hem ilk dozdan (%54.9'e karşın %42.2) hem de ikinci dozdan (%79.4'e karşın %36.5) sonra plasebo grubuna göre mRNA-1273 aşı grubunda daha sık meydana gelmiştir. Sistemik olayların ciddiyeti, aşı grubunda ikinci dozdan sonra artmıştır; 2. derece olayların oranları ilk dozdan sonra %16.5 iken ikinci dozdan sonra %38.1'e yükselmiştir. Benzer şekilde 3. derece olayların da %2.9'dan %15.8'e arttığı bildirilmiştir. mRNA-1273 grubundaki sistemik advers olaylar, sırasıyla birinci ve ikinci dozlardan sonra ortalama 2.6 gün ve 3.1 gün sürmüştür [7]. Hem enjeksiyon bölgesi olayları hem de sistemik advers olaylar, genç katılımcılar (18 ila <65 yaş) arasında yaşlı katılımcılara (65 yaş ve üstü) kıyasla daha yaygın olarak gözlemlenmiştir. Advers olayların, çalışma başlangıcında SARS-CoV-2 enfeksiyonu için negatif olan katılımcılarda, başlangıçta pozitif olan kişilere kıyasla daha yaygın olduğu bildirilmiştir [7].

Devam eden bu çalışmanın (NCT04470427) ilk aşılardan 119 gün (ikinci aşılardan 90 gün) sonra açıklanan immünojenite verilerine göre ise mRNA-1273 aşısı ile ilgili hiçbir ciddi advers olayın kaydedilmediği ve insanlarda SARS-CoV-2 enfeksiyonuna karşı korumanın korelasyonları henüz tam olarak ortaya konmamış olsa da, mevcut sonuçların "bağlanma ve nötralize edici antikörlerin titrelerinde beklenen hafif bir düşüşe rağmen" mRNA-1273'ün kalıcı humoral bağışıklık sağlama potansiyeline sahip olduğunu desteklediği belirtilmiştir [21]. Moderna mRNA aşısına Aralık 2020'de FDA tarafından ABD'de 18 yaş ve üstü bireylerde acil kullanım izni verilmiş ve pandemi ile mücadelede en yaygın kullanılan aşılarından biri olmuştur [10].

BNT162b2 Aşısı (Pfizer-BioNTech)

BNT162b2, prefüzyonla stabilize edilmiş, zara sabitlenmiş (*membrane-anchored*) SARS-CoV-2'nin tam uzunluktaki S proteinini kodlayan, LNP ile formüle edilmiş, nükleozit modifiye (prefüzyon yapısında kilitlemek için iki prolin mutasyonu ile modifiye edilmiştir) bir mRNA aşısıdır [22]. ABD ve Almanya'da sağlıklı erkekler ve kadınlar arasında yürütülen araştırmalardan elde edilen ilk bulgular, BNT162b2 aşısının 30 µg'lık iki dozunun, yüksek SARS-CoV-2 nötralize edici antikör titreleri

ve güçlü antijene özgü CD8⁺ ve Th1 tipi CD4⁺ T hücreleri tepkileri ortaya çıkardığını göstermiştir [23,24].

Yaşlı ve genç erişkinlerde 30 µg BNT162b2 ile ortaya çıkan %50 nötralize edici ortalama titreler, daha yaşlı erişkinlerde genç erişkinlere göre daha düşük nötralize edici tepkiye rağmen, bir insan konvalesan serum panelinde ölçülen ortalama titreleri aşmıştır. Ek olarak, BNT162b2'nin reaktöjenite profili esas olarak kısa süreli, lokal (yani enjeksiyon bölgesi) ve sistemik tepkiler oluşturmuştur [23,24]. Bu bulgular, BNT162b2 aşı adayının 3. aşamaya ilerlemesini desteklemiştir.

Faz II-III çalışma sonuçları; çok uluslu, plasebo kontrollü, gözlemcinin körleştirildiği etkinlik çalışmasında, 16 yaş ve üzeri kişiler 21 gün arayla iki doz plasebo veya BNT162b2 aşısı alacak şekilde 1:1 oranında rastgele dağıtılmıştır (doz başına 30 µg). Toplam 43548 katılımcı randomizasyona tabi tutularak, bunlardan 43448'ine enjeksiyon uygulanmıştır (21720'si BNT162b2 ile ve 21728'i plasebo). Faz II-III çalışmasında toplam 44820 kişi taranmış ve 16 yaş ve üzeri 43548 kişi, dünya çapında 152 farklı merkezde (Amerika Birleşik Devletleri 130 bölge, Türkiye 9, Almanya 6, Güney Afrika 4, Brezilya 2 ve Arjantin 1 bölge olmak üzere) randomizasyona tabi tutulmuştur [22].

BNT162b2 almak üzere seçilen katılımcılar arasında ikinci dozdan en az 7 gün sonra başlayan 8 COVID-19 vakası ve plasebo grubunda yer alanlar arasında 162 vaka saptanmış ve bu sonuçlara göre BNT162b2 aşısının COVID-19'u önlemede izlem süresi için geçerli olmak üzere %95 etkili (%95 CI, %90.3 ila %97.6) olduğu değerlendirilmiştir. Yaş, cinsiyet, ırk, etnik köken, başlangıçtaki vücut kitle indeksi ve komorbid koşulların varlığına göre tanımlanan alt gruplarda benzer aşı etkinliği (genellikle %90 ila 100) gözlenmiştir [22].

İlk dozdan sonra gözlemlenen şiddetli seyreden 10 COVID-19 vakasından 9'unun plasebo alıcılarında ve 1'inin BNT162b2 alıcısında meydana geldiği bildirilmiştir. BNT162b2'nin güvenlik profili, enjeksiyon bölgesinde kısa süreli, hafif ila orta derecede ağrı, yorgunluk ve baş ağrısı ile karakterize edilmiştir. Ciddi yan etkilerin insidansı düşük olarak bulunmuş ve aşı ve plasebo

gruplarında benzer olduğu gözlemlenmiştir. Ortalama 2 aylık izlem sonuçlarına göre aşının güvenlik profilinin diğer viral aşılarla benzer olduğu değerlendirilmiştir [22].

Pfizer-BioNTech mRNA aşısı Aralık 2020'de ABD, İngiltere ve Avrupa'da 16 yaş ve üstü bireylerde acil kullanım izni almıştır [9,11,12]. FDA kararı, 10 Aralık'ta danışma komitesi tarafından yapılan bir oylamayı takiben verilmiştir (bir çekimser, 17 olumlu, 4 olumsuz oy) [25]. Değerlendirme komitesi incelemesinde aşının güvenli görüldüğü ve en yaygın yan etkilerin yorgunluk, baş ağrısı ve ateşi içerdiği belirtilmiştir [25]. Aşılananlar arasında dört geçici Bell paralizisi (yüz felci) vakası bildirilmiştir, benzer şekilde mRNA-1273 faz III çalışmasında da aşı grubunda 3 plasebo grubunda 1 yüz felci vakası bildirilmiş, ancak her iki aşı için de bu durum aşılarla kesin olarak ilişkilendirilememiştir [25-27]. FDA incelemesinde BNT162b2 aşısı için aşılarla verilen reaksiyonların çoğunun, enjeksiyondan sonraki altı hafta içinde belirgin hale geldiği, ancak aşılanan kişilerin daha uzun süre takip edilmesinin daha sonra ortaya çıkabilecek herhangi bir yan etkiyi tespit etmek için yararlı olacağı belirtilmiştir [25].

Diğer SARS-CoV-2 mRNA aşıları

Acil kullanım onayı alan, mRNA-1273 ve BNT162b2 aşılarının dışında mRNA temelli 5 aşı daha klinik çalışma aşamalarında olup, klinik öncesi aşamalarda ise 20'den fazla aşı adayı bulunmaktadır [5].

Tam uzunlukta, füzyon öncesi stabilize edilmiş S proteinini kodlayan, LNP ile kapsüllenmiş, sekans optimize mRNA bazlı SARS-CoV-2 aşısı olan CVnCoV (CureVac) aşısı intramusküler 2 doz şeklinde (0-28) uygulanmaktadır [28]. Diğer mRNA tabanlı yaklaşımlardan farklı olarak, CVnCoV kimyasal olarak modifiye edilmemiş nükleotidler içermekte ve nispeten düşük dozlarda uygulanmaktadır [29]. CVnCoV'nin insan dışı primatlarda (*non-human primates*, NHP) güçlü humoral ve hücrel bağışıklık yanıtlarını indüklediği ve 8 µg CVnCoV ile aşılanan hayvanların deneysel enfeksiyondan korunduğu gösterilmiştir. Enfekte edilen hayvanlardaki patolojik değişikliklerin akciğer histopatolojisi ve bilgisayarlı tomografi taramaları

ile kapsamlı analizleri sonucu CVnCoV aşılması sonrasında hayvanlarda herhangi bir ilerlemiş hastalık belirtisi olmadığını ortaya koymuştur [29]. Bu sonuçlar üzerine CVnCoV aşısının güvenliğinin, immünojenitesinin ve koruyucu etkinliğinin değerlendirilmesi için 36500 kişiyi kapsayan faz IIB-III etkinlik çalışmaları (NCT04652102) planlanmıştır [28,29].

ARCT-021 aşısı (Arcturus Therapeutics) faz II çalışmaları (NCT04668339) devam eden, intramusküler iki doz (0-28 gün) uygulanan ve S proteinini hedefleyen mRNA temelli bir SARS-CoV-2 aşısı adaydır [5].

LNP-nCoVsaRNA (Imperial College London) aşısı faz I çalışması (ISRCTN17072692) devam eden, S proteinini kodlayan replike olabilen saRNA aşısı adaydır [5]. Bu aşı güvenliği ve immünojenitesi insanlarda ilk kez klinik çalışma düzeyinde denenen replikon mRNA aşısıdır [5]. Nisan 2020'de faz I çalışmaları başlatılmıştır [30].

ArCov mRNA aşısı Çin'de geliştirilmektedir. Faz I çalışmaları (ChiCTR2000034112) devam eden aşı üç farklı kuruluşun (Academy of Military Science China, Suzhou Abogen Biosciences ve Yunsan Walvax Biotechnology) desteği ile geliştirilmektedir. S proteininin RBD gen bölgesini hedefleyen aşı intramusküler iki doz (0-14 veya 0-28 gün) olarak uygulanması planlanmaktadır [5].

ChulaCov mRNA aşısı adayı (Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand) faz I çalışmaları (NCT04566276) devam eden, intramusküler iki doz (0-21) olarak uygulanması planlanan bir aşı adaydır [28].

Türkiye'de geliştirilen ilk mRNA temelli SARS-CoV-2 aşısı (Selçuk Üniversitesi, Konya) henüz prelinik çalışma aşamasındadır [5].

Mutasyonlar ve Aşı Etkinliği

SARS-CoV-2 mutasyonları salgının ortaya çıktığı ilk dönemlerden itibaren dünya genelindeki veriler üzerinden izlenmekte ve mutasyonlarla oluşan değişikliklerin enfeksiyon bulaşı, hastalık şiddeti veya aşı etkinliği üzerindeki olası etkileri incelenmektedir [31-33]. Koronavirüsler genel olarak virüsün biyolojik davranışları için belirleyici olmayan ve virüsün yapısını ve bileşenlerini önemli ölçüde değiştirmeyen birçok mutasyona uğramakta ve bu fenomen aynı zamanda SARS-

CoV-2'de de görülmektedir [20,32,33]. Bununla beraber daha hızlı bulaşma, yüksek viral yük veya hastalık şiddetinde artış gibi riskler ile ilişkili olabilecekleri öngörülen ve bu öngörülerini destekleyen kanıtlara ulaşılan bazı mutasyonlar yakından izlenmektedir.

Günümüz pandemisinde Şubat 2020'de Avrupa'da ortaya çıkan SARS-CoV-2 S proteini D614G (Asp⁶¹⁴-to-Gly) mutasyonu en sık görülen mutasyon formudur ve yüksek bulaştırıcılık ve yüksek viral yük ile ilişkilendirilen bu mutasyon küresel olarak baskın varyantlardan biri haline gelmiştir [32,33]. D614G'nin aşı etkinliğini tehlikeye atabilecek nötralizasyon kaçışına da aracılık edip etmediğini belirlemek için; farelerden, NHP'den ve insanlardan elde edilen serumlar, D614 veya G614 varyantlarını taşıyan psödovirüslerin nötralizasyonu için test edilmiş ve G614 psödovirüsünün nötralizasyona orta derecede daha duyarlı olduğu belirlenmiştir [34]. G614 psödovirüsü ayrıca, virüsün her iki formu ile enfekte olmuş insanlardan alınan konvalesan serumlar ve RBD monoklonal antikolar ile nötralizasyona daha duyarlı bulunmuştur. Negatif boyama elektron mikroskopu incelemelerinde G614 S proteininde "nötralizasyona karşı gelişmiş duyarlılıkla ilişkili olabilecek epitop yapılarının artmış oranı" izlenmiş ve bu bulgulara dayanarak, D614G mutasyonunun mevcut aşı geliştirme çalışmaları için bir engel oluşturmasının beklenmediği bildirilmiştir [34].

Artmış bulaşıcılık ile ilişkilendirilen üç yeni varyant olan B.1.1.7 (İngiltere), B.1.351 (Güney Afrika) ve B.1.1.28 (Brezilya) yakın zamanda pandemiyi etkileyebilecek üç yeni köken olarak yakından izlenmektedir [19]. Bu varyantların üçünde de S geninin RBM (reseptör bağlanma motifi) bölgesinde (Şekil 3) N501Y mutasyonu saptanmıştır. B.1.351 ve P.1 varyantlarında ise yine RBM bölgesinde oluşan E484K ve K417N ortak değişiklikleri izlenmektedir [35-37]. B.1.1.7 varyantı (S proteininde bulunan sekiz mutasyon ile birlikte viral genomda toplam on yedi mutasyona sahiptir) gibi ilk olarak Güney Afrika'da saptanan B.1.351 varyantının da (S proteininde bulunan on mutasyona sahiptir) hızlı bir oranda yayıldığı ve artan bulaşma hızı ve yüksek viral yük ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [35-37]. SARS-CoV-2'nin B.1.1.7 veya 501Y.V1 olarak

adlandırılan yeni varyantı ilk kez Eylül 2020'de İngiltere'de tespit edilmiş ve bu varyantın yayılımını sınırlandırmak için birçok ülkede seyahat kısıtlamaları uygulanmıştır [33]. Bu açıklama ilk yapıldığında virüs varyantı, toplam vakaların 1/4'ünü zaten enfekte etmiş ve Aralık 2020'de Birleşik Krallık'ta enfekte olanların oranı 2/3'üne ulaşmıştı. B.1.1.7 varyantının yayılma hızının, ilgili mutasyonları içermeyen SARS-CoV-2 ile karşılaştırıldığında, 0.4'lük bir R indeksi büyümesi ile vaka sayılarında %70'den fazla artışa neden olabileceği öne sürülmüştür [33]. Birçok uluslararası laboratuvar tarafından test edilen bu varyant, farklı ülkelere hızla yayılırken ilk değerlendirmeler bu varyantın solunum yolu ve akciğer hastalıklarında daha ciddi etkilere neden olmadığı ancak viral yük artışı ile ilişkili olması nedeniyle kontrol altında tutulması gerektiğini ve bu varyantın aşı etkinliğini bir derece azaltma olasılığı olsa da, aşı etkinliğini tamamen ortadan kaldırması gibi bir durumun beklenmediği şeklindedir [33]. Bununla beraber, bu öngörüyü netleştirmek için bir dizi aşılanmış denekten alınan antikoların yeni SARS-CoV-2 varyantlarını nötralize edip edemeyeceğini görmek için küçük gruplarda testler planlanmıştır [33]. Kısa bir süre önce hem BNT162b2 hem de mRNA-1273 aşısı için bu testlerin sonuçları açıklanmıştır [38,39].

B.1.1.7 (İngiltere) ve B.1.351 (Güney Afrika) varyantlarının açıklanmasından kısa bir süre sonra yapılan hızlı değerlendirmelerin birinde BNT162b2 aşısı almış yirmi gönüllüden alınan serum örneklerinde S proteinlerinde •N501Y, •69/70-deletion + N501Y + D614G ve •E484K + N501Y + D614G mutasyonlarını taşıyan genetiği değiştirilmiş üç SARS-CoV-2 varyantı için yeterli nötralizan antikor olduğu tespit edilmiştir (ortalama titre parental varyanta göre 0.81 ile 1.46 kat arasında değişmek üzere). Ancak elde edilen varyantlarda, B.1.1.7 ve B.1.351 varyantlarında tespit edilen mutasyonların tamamının yer almıyor olması ve varyant virüslere karşı aşının etkin olduğunu gösteren klinik verinin bulunmaması bu çalışmadaki en önemli kısıtlılıklar olarak belirtilmiştir [38].

Yine yakın zamanda mRNA-1273 aşısının, B.1.1.7 (İngiltere) ve B.1.351 (Güney Afrika) varyantlarına karşı nötralizan aktiviteyi koruduğu bildirilmiştir [39]. Bir in-vitro çalışmada, iki doz 30

µg veya 100 µg mRNA-1273 ile immünize edilmiş NHP'den veya iki 100 µg doz mRNA alan sekiz faz I klinik deneme katılımcısından (18-55 yaş arası) alınan serumlar kullanarak mRNA-1273'ün yeni SARS-CoV-2 varyantlarına karşı güçlü nötralize edici antikorlar ortaya çıkarma yeteneği değerlendirilmiştir. B.1.1.7 varyantı için, nötralize edici antikor titrelerinin yüksek düzeylerde kaldığı ve önceki varyantlara göre genel olarak tutarlı olduğu, sonuç olarak da B.1.1.7 varyantında bulunan mutasyonların tam setinin veya bazı spesifik anahtar mutasyonların nötralizasyon üzerinde önemli bir etkisinin gözlenmediği bildirilmiştir. İlgili çalışmada bu mutasyonların konvalesan serumlardan yapılan nötralizasyonu azalttığı ve enfektiviteyi artırdığı yönünde bildirimler yapılmış olmasına rağmen, faz I katılımcılarından ve mRNA-1273 ile aşılana NHP'den alınan serumların B.1.1.7 varyantını önceki varyantlarla aynı seviyede nötralize edebildiği bildirilmiştir. B.1.351 varyantı için ise mRNA-1273 aşısı ile aşılamanın, NHP'leri vahşi tip viral yüklemeye karşı koruduğu gösterilen nötralizan titrelerin üzerinde kalan değerlerde

nötralizan antikor titreleri ürettiği bildirilmiştir. Bu nötralizan antikor seviyelerinin koruyucu olması beklenirken, psödovirüs nötralize edici antikor titreleri, önceki varyantlara göre yaklaşık 6 kat daha düşük bulunmuş ve bu düşük titrelerin; yeni B.1.351 suşlarına karşı bağışıklığın daha erken azalması olasılığını düşündürebileceği değerlendirilmiştir [39].

Sonuç

SARS-CoV-2 pandemisi mRNA temelli aşılardan salgına müdahaledeki gücünü ve etkinliğini ortaya koymuş olmakla beraber, mRNA aşılardan salgınını durdurmada başarılı olması durumunda bu teknoloji diğer enfeksiyon etkenleri ile mücadelede veya gelecekteki olası salgınlara müdahalede insanoğlu için yeni bir savunma aracı olabilir. Stabilitesi güçlendirilmiş, uzun dönem yan etkileri bilinen, daha düşük aşı dozu gerektiren, tek doz aşılama ile güçlü bağışıklık yanıtı uyaran, immünojenitesi optimize edilmiş, düşük maliyetli yeni mRNA temelli aşı platformlarının geleceğin dünyasında daha yaygın kullanım alanları bulacağını bekleyebiliriz.

Çıkar beyanı: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemiştir. Makalenin içeriğinden ve yazılmasından tek başına yazarlar sorumludur. **Finansal destek:** Bu çalışmaya finansal destek verilmemiştir.

Kaynaklar

1. Chung JY, Thone MN, Kwon YJ. COVID-19 vaccines: The status and perspectives in delivery points of view. *Adv Drug Deliv Rev* 2020; 170: 1-25. [Crossref]
2. Henderson DA. The eradication of smallpox--an overview of the past, present, and future. *Vaccine* 2011; 29 Suppl 4: D7-9. [Crossref]
3. Tumban E. Lead SARS-CoV-2 Candidate Vaccines: Expectations from Phase III Trials and Recommendations Post-Vaccine Approval. *Viruses* 2020; 13(1): E54. [Crossref]
4. Sarı O, Hoşbul T, Şahiner F. Basic Epidemiological Parameters at the end of the 5th month of the COVID-19 Outbreak. *J Mol Virol Immunol* 2020; 1(1): 67-80. [Crossref]
5. World Health Organization (WHO), Geneva, Switzerland. Draft landscape of COVID-19 candidate vaccines. Available at: <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines> [Accessed January 28, 2021].
6. Pardi N, Hogan MJ, Porter FW, Weissman D. mRNA vaccines - a new era in vaccinology. *Nat Rev Drug Discov* 2018; 17(4): 261-79. [Crossref]
7. Baden LR, El Sahly HM, Essink B, Kotloff K, Frey S, Novak R, et al.; COVE Study Group. Efficacy and Safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine. *N Engl J Med* 2020; [Epub ahead of print]. [Crossref]
8. Verbeke R, Lentacker I, De Smedt SC, Dewitte H. Three decades of messenger RNA vaccine development. *Nano Today* 2019; 28: 100766. [Crossref]
9. US Food and Drug Administration (FDA), Silver Spring, Maryland, USA. Pfizer COVID-19 Vaccine EUA Letter of Authorization. Available at: <https://www.fda.gov/media/144412/download> [Accessed December 29, 2020].
10. US Food and Drug Administration (FDA), Silver Spring, Maryland, USA. Moderna COVID-19 Vaccine EUA Letter of Authorization. Available at: <https://www.fda.gov/media/144636/download> [Accessed December 29, 2020].
11. Mahase E. Covid-19: UK approves Pfizer and BioNTech vaccine with rollout due to start next week. *BMJ* 2020; 371: m4714. [Crossref]
12. European Medicines Agency (EMA), Amsterdam, Netherlands. EMA recommends first COVID-19 vaccine for authorisation in the EU. Available at:

<https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/comirnaty> [Accessed December 29, 2020].

- 13.** Park KS, Sun X, Aikins ME, Moon JJ. Non-viral COVID-19 vaccine delivery systems. *Adv Drug Deliv Rev* 2021; 169: 137-51. [[Crossref](#)]
- 14.** Dutta NK, Mazumdar K, Gordy JT. The Nucleocapsid Protein of SARS-CoV-2: a Target for Vaccine Development. *J Virol* 2020; 94(13): e00647-20. [[Crossref](#)]
- 15.** He Y, Li J, Heck S, Lustigman S, Jiang S. Antigenic and immunogenic characterization of recombinant baculovirus-expressed severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein: implication for vaccine design. *J Virol* 2006; 80(12): 5757-67. [[Crossref](#)]
- 16.** Dai L, Gao GF. Viral targets for vaccines against COVID-19. *Nat Rev Immunol* 2020: 1-10. [Epub ahead of print] [[Crossref](#)]
- 17.** Wang Q, Zhang Y, Wu L, Niu S, Song C, Zhang Z, et al. Structural and Functional Basis of SARS-CoV-2 Entry by Using Human ACE2. *Cell* 2020. pii: S0092-8674(20)30338-X. [[Crossref](#)]
- 18.** Wrapp D, Wang N, Corbett KS, Goldsmith JA, Hsieh CL, Abiona O, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science* 2020; 367(6483): 1260-3. [[Crossref](#)]
- 19.** Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta, Georgia, USA. Emerging SARS-CoV-2 Variants. Available at: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/more/science-and-research/scientific-brief-emerging-variants.html> [Accessed January 29, 2021].
- 20.** International Committee on Taxonomy of Viruses, Washington, DC. ICTV reports; Coronaviridae. Available at: https://talk.ictvonline.org/ictvreports/ictv_9th_report/positive-sense-rna-viruses2011/w/posrna_viruses/222/coronaviridae [Accessed March 30, 2020]
- 21.** Widge AT, Roupheal NG, Jackson LA, Anderson EJ, Roberts PC, Makhene M, et al; mRNA-1273 Study Group. Durability of Responses after SARS-CoV-2 mRNA-1273 Vaccination. *N Engl J Med* 2021; 384(1): 80-2. [[Crossref](#)]
- 22.** Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, Lockhart S, et al.; C4591001 Clinical Trial Group. Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *N Engl J Med* 2020; 383(27): 2603-15. [[Crossref](#)]
- 23.** Sahin U, Muik A, Vogler I, Derhovanessian E, Kranz LM, Vormehr M, et al. BNT162b2 induces SARS-CoV-2-neutralising antibodies and T cells in humans. *medRxiv* 2020.12.09.20245175. [[Crossref](#)]
- 24.** Walsh EE, Frenck RW Jr, Falsey AR, Kitchin N, Absalon J, et al. Safety and Immunogenicity of Two RNA-Based Covid-19 Vaccine Candidates. *N Engl J Med* 2020; 383(25): 2439-50. [[Crossref](#)]
- 25.** Ledford H. US authorization of first COVID vaccine marks new phase in safety monitoring. *Nature* 2020; 588(7838): 377-8. [[Crossref](#)]
- 26.** US Food and Drug Administration (FDA), Silver Spring, Maryland, USA. Vaccines and Related Biological Products Advisory Committee December 17, 2020 Meeting Presentation - FDA Review of Efficacy and Safety of Moderna COVID-19 Vaccine Emergency Use Authorization Request. Available at: <https://www.fda.gov/media/144585/download> [Accessed December 29, 2020].
- 27.** US Food and Drug Administration (FDA), Silver Spring, Maryland, USA. Vaccines and Related Biological Products Advisory Committee Meeting December 10, 2020 FDA Briefing Document Pfizer-BioNTech COVID-19 Vaccine. Available at: <https://www.fda.gov/media/144245/download> [Accessed December 29, 2020].
- 28.** National Institutes of Health (NIH), New York, USA. National Library of Medicine (NLM); ClinicalTrials.gov. Available at: <https://www.clinicaltrials.gov/> [Accessed December 23, 2020].
- 29.** Rauch S, Gooch K, Hall Y, Salguero FJ, Dennis MJ, Gleeson FV, et al. mRNA vaccine CVnCoV protects non-human primates from SARS-CoV-2 challenge infection. *bioRxiv* 2020.12.23.424138. [[Crossref](#)]
- 30.** Amraiz D, Fatima M, Navid MT. SARS-CoV-2 Leading Vaccine Candidates: Progress and Development. *Life and Science* 2020; 1(suppl): 38-44. [[Crossref](#)]
- 31.** Pachetti M, Marini B, Benedetti F, Giudici F, Mauro E, Storici P, et al. Emerging SARS-CoV-2 mutation hot spots include a novel RNA-dependent-RNA polymerase variant. *J Transl Med* 2020; 18(1): 179. [[Crossref](#)]
- 32.** Callaway E. The coronavirus is mutating - does it matter? *Nature* 2020; 585(7824): 174-7. [[Crossref](#)]
- 33.** Conti P, Caraffa A, Gallenga CE, Kritas SK, Frydas I, Younes A, et al. The British variant of the new coronavirus-19 (Sars-Cov-2) should not create a vaccine problem. *J Biol Regul Homeost Agents* 2021; 35(1). [Epub ahead of print] [[Crossref](#)]
- 34.** Weissman D, Alameh MG, de Silva T, Collini P, Hornsby H, Brown R, et al. D614G Spike Mutation Increases SARS CoV-2 Susceptibility to Neutralization. *Cell Host Microbe* 2021; 29(1): 23-31.e4. [[Crossref](#)]
- 35.** Rambaut A, Loman N, Pybus O, Barclay W, Barrett J, Carabelli A, et al. COVID-19 Genomics Consortium UK (CoG-UK), Preliminary genomic characterisation of an emergent SARS-CoV-2 lineage in the UK defined by a novel set of spike mutations. *virological.org* 2020.
- 36.** Tegally H, Wilkinson E, Giovanetti M, Iranzadeh A, Fonseca V, Giandhari J, et al. Emergence and rapid spread of a new severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 (SARS-CoV-2) lineage with multiple spike mutations in South Africa. *medRxiv* 2020.12.21.20248640. [[Crossref](#)]

37. Naveca F, da Costa C, Nascimento V, Souza V, Corado A, Nascimento Á, et al. SARS-CoV-2 reinfection by the new Variant of Concern (VOC) P.1 in Amazonas, Brazil. virological.org 2021.

38. BioNTech SE, Mainz, Rhineland-Palatinate, Germany. In Vitro Studies Demonstrate Pfizer and BioNTech COVID-19 Vaccine Elicits Antibodies that Neutralize SARS-CoV-2 with Key Mutations Present in U.K. and South African Variants Available at: <https://investors.biontech.de/news-releases/news->

[release-details/vitro-studies-demonstrate-pfizer-and-biontech-covid-19-vaccine/](https://investors.biontech.de/news-releases/news-release-details/vitro-studies-demonstrate-pfizer-and-biontech-covid-19-vaccine/) [Accessed January 29, 2021].

39. Moderna, Massachusetts, ABD. COVID-19 Vaccine Retains Neutralizing Activity Against Emerging Variants First Identified in the U.K. and the Republic of South Africa. Available at: <https://investors.modernatx.com/node/10841/pdf> [Accessed January 25, 2021]