

BNT162b2: possibile lettura errata dei codoni, errori nella sintesi proteica e anomalie dello splicing alternativo

Dr. Kira Smith

Clinical and Experimental Medicine
Novara (NO) – Italy

kira-smith@mil-med.com

Received xxxxxx

Accepted for publication xxxxxx

Published xxxxxx

Astratto

Il vaccino *BioNTech/Pfizer BNT162b2* è composto da un RNA avente 4284 nucleotidi, suddivisi in 6 sezioni, che portano le informazioni per creare una fabbrica di proteine S Spike, quelle usate dal Sars-CoV-2 (Covid-19) per infettare il soggetto. Dopodiché, queste proteine vengono dirette al di fuori della cellula, facendo scattare la reazione immunitaria e la produzione di anticorpi.

Il problema è la pesante alterazione dell'mRNA: l'Uracile viene sostituito per ingannare il sistema immunitario, le lettere di tutte le triplette di codoni vengono sostituite da una C o una G, per aumentare la velocità di produzione delle proteine all'estremo, sostituzione di alcuni aminoacidi con la Prolina, l'aggiunta di una sequenza misteriosa (3'-UTR), unito allo splicing alternativo, ovvero possibilità di errori di traduzione della sequenza e sintesi delle proteine; esse non vengono prodotte uguali, ma leggermente diverse. Tutto ciò può essere causa di molte malattie ereditarie e vari tipi di tumore, dalla nascita alla loro crescita, fino alla responsabilità delle metastasi.

In sostanza, ciò che verrà creato è tutt'altro che ben definito come proteina S Spike: basta un errore di trascrizione, produzione errata di aminoacidi, quindi di proteine, per provocare gravi danni a lungo termine alla salute umana, nonostante il DNA non venga modificato, essendo invece nel nucleo cellulare e non nel citoplasma, ove arriva l'mRNA modificato.

Tuttavia, in questo caso, la correlazione tra velocità di sintesi ed espressione proteica, oltre al meccanismo che potrebbe inficiare la traduzione della sequenza restano oscuri, in quanto molti trials sono proprietari di *BioNTech/Pfizer*.

Keywords: Covid-19, BNT162b2, splicing alternativo, codoni, misreading

1. Introduzione

Cenni sul funzionamento

Il vaccino contro il Sars-CoV-2 (Covid-19) di **BioNTec/Pfizer** denominato **BNT162b2**, ma denominato anche *Tozinameran*, o *Comirnaty*, contiene circa **30 mcg di RNA**¹, che viene iniettato in una sfera di **lipidi** dentro il corpo umano, in particolare dentro al **citoplasma** delle cellule, ma **al di fuori del nucleo** (dove vi è il DNA); tale RNA possiede informazione genetica modificata (da qua modRNA), ovvero un **mRNA** (RNA messaggero) contenente le **istruzioni** per mettere in moto una fabbrica di **proteine**, cloni della **proteina S Spike**, ovvero la proteina (e solo la proteina, non tutto il virus) **utilizzata dal Covid-19 per entrare nell'ospite** e infettarlo. Una volta che esse vengono prodotte in serie ad opera dei **ribosomi**, vengono trasportate all'**esterno** della cellula, oltre il rivestimento lipidico; in questo modo il **sistema immunitario** individua queste proteine come **invasori** delle cellule e le **attacca**, tramite la **produzione di anticorpi**. Ecco perché **non è ipotizzabile** che il vaccino **induca la malattia**, oppure che **modifichi il DNA** umano.

Analisi della sequenza genetica

Il vaccino è composto da **4284 nucleotidi**, suddivisi in **6 sezioni**: **cap** è l'**inizio** della sequenza, che si apre con i due nucleotidi **GA**, indicanti falsamente che **l'mRNA proviene dalla cellula umana** ed essere quindi accettato⁴; **5'** indica la **direzione** da seguire per la traduzione, mentre **UTR** indica la **zona** dove il **ribosoma** deve **posarsi** per poter fabbricare le proteine e in questa sezione è stata **sostituita** la **U** di **Uracile** con una molecola di **1-metil-3'-pseudouridina**, indicata con il carattere **Ψ**, per **bypassare il sistema immunitario** e impedire che venga così degradato l'RNA appena entrato; questo è però un fattore che può portare ad **errori nella produzione di proteine**. Multiple sintesi di **Ψ** sono implicate nelle **modificazioni delle posizioni** e difetti in molte di esse sono collegate a **patologie umane**¹. Vi è poi la sezione **sig**, denominata **sequenza di avvio estesa del peptide di segnalazione della glicoproteina S**, la cui informazione è necessaria per **guidare la proteina** appena formata, tramite il **reticolo endoplasmatico**, fuori dalla cellula; anche qua vengono messe in atto delle **modifiche alle triplette di nucleotidi** per far accettare l'RNA dal sistema immunitario, **cambiando la posizione** di alcune **lettere** componenti l'informazione con altre (in genere in 3°

posizione "wobble"), apparentemente "sinonimi innocui" (prevalentemente **aumentando il numero di lettere C e G**, che codificano la **velocità di produzione delle proteine**). Tuttavia, mentre specificano identici aminoacidi, **i due sinonimi non sono precisamente la stessa cosa**, almeno quando arriva l'atto della **traduzione**. Diversi studi mostrano che **piccole ma significanti differenze** in come ogni aminoacido interagisce con il corrispondente **transfer mRNA (tRNA)** affliggono sia la **velocità**, che l'**accuratezza** della traduzione.² Se è vero che **3 lettere formano un codone e più di un codone codifica per lo stesso aminoacido**, è anche vero che **aumentando così sproporzionatamente la velocità di produzione delle proteine** e apportando **almeno una modifica a tutte le triplette**, si rischia di incorrere in **gravi errori di traduzione**.

Anche i caratteri che compongono la sequenza relativa alla **costruzione della proteina Spike** vera e propria **S protein_mut** sono stati **alterati** con più **C** e **G** che era possibile aggiungere, rispettando i **sinonimi in tabella di codice genetico standard**, con **sostituzione** degli aminoacidi **Lisina (AAA)** e **Valina (GUU)** con la **Prolina (CUU)**, per impedire che la proteina costruita collasi su se stessa. Alla **fine** di questa sequenza vi sono **2 codoni di Stop**. **Non** è del tutto **comprovato** che con tale sostituzione si andranno a **formare gli stessi elementi** e non vi saranno errori di **misreading**.

3'-UTR (Regione Non Tradotta 3 Primo): dovrebbe indicare la **direzione di traduzione** della sequenza e migliorare la sintesi proteica, tuttavia rimangono **sconosciute** molte delle sue **funzioni**; pertanto è **impossibile** accertarne la **sicurezza**. Ciò che si sa è affermato dal **WHO** ed è la frase seguente: "la **3' UTR** per il vaccino *BioNTech/Pfizer* è stata **prelevata da "the amino-terminal enhancer of split (AES) mRNA and the mitochondrial encoded 12S ribosomal RNA"**.

poly(A): arriviamo dunque alla **fine della sequenza** e incontriamo **30 A**, poi un **collegamento a 10 nucleotidi** GCAUAUGACU, **seguito da altre 70 A**, poiché **ogni mRNA può essere riutilizzato** dall'organismo più volte.

Quando **terminano le A**, l'**mRNA** viene **degradato**.

Tutte queste sono **modifiche proprietarie** per aumentare l'**espressione proteica**, delle quali **non si sa nulla** circa la **traduzione effettiva** messa in atto dall'organismo.

Vi è una stretta correlazione con il **misreading** dei **codoni** (*codon bias*).

2. Metodo di investigazione

Cenni sulla traduzione nella sintesi proteica

La **traduzione** viene divisa in genere in **tre fasi**: *inizio*, *allungamento* e *termine*.²

1. Il **ribosoma** si lega all'**mRNA** nel **codone di inizio**;
2. La **catena polipeptidica** si allunga in una **direzione del movimento del ribosoma**, per aggiunta successiva di aminoacidi;
3. Quando si trova un **codone di Stop**, il **polipeptide** viene rilasciato e il **ribosoma** si dissocia.

Splicing alternativo ed altri errori di traduzione

Un altro **problema correlato** consiste nel fatto che **uno stesso pre-mRNA** può dare origine a **mRNA maturi differenti**, quindi a **proteine leggermente diverse** tra loro (**splicing alternativo**). Un'alterazione nel **processo di sintesi delle proteine** si è scoperta essere proprio la **causa dello sviluppo e della crescita di alcuni tumori**, ed **altre patologie**, senza che venga in qualche modo **alterato il DNA**. In particolare, si implica la genesi di molte **malattie ereditarie** e **33 tipi di cancro**, oltre a patologie **neurodegenerative**.

Tutti gli **eventi di splicing** individuati nei tre i geni della serie PHT comportano la **perdita della frame di lettura** della sequenza dei messaggeri, e l'**introduzione di un codone di stop prematuro (PTC, Premature Termination Codon)** sempre situato più di **50-55 nucleotidi a monte dell'ultima giunzione esone-esone**, il che rende i trascritti alternativi **bersagli del sistema di sorveglianza NMD (Nonsense-mediated mRNA Decay)**. Per *slc15a4/PHT1* di uomo e ratto, ciò è stato **dimostrato** mediante **esperimenti di inibizione del sistema NMD** in diverse linee cellulari, in cui l'espressione delle varianti alternative rispetto ai trascritti canonici è risultata sempre stabilizzata in seguito all'inibizione.³

3. Conclusioni

Evidenziazione dei possibili problemi a lungo termine sulla salute umana e riscontro finale

La **correlazione** tra **velocità di sintesi** delle **proteine**, aumentata del 100%, con gli **errori di traduzione** della **sequenza**, così come il **meccanismo che inficia la produzione di aminoacidi** restano in questo caso per ora **oscuri**, essendo molti **trials proprietari** di **BioNTech/Pfizer**.

In sostanza si può dire che il **codice della sequenza totale** sia **intrinsecamente alterato in modo sbilanciato**, troppo rispetto al corrispettivo naturale, e troppo per poter affermare che l'organismo umano **riproduca esattamente** le proteine **S Spike**, uguali una con l'altra, rischiando così apportare **gravi danni alla salute umana a lungo termine**.

Ciò che verrà prodotto da quella sequenza è **tutt'altro che ben definito**, ma è scritto nei **geni di ogni individuo** e dal suo **profilo ribosomiale**, come verrà **tradotto** e cosa **verrà prodotto**, quindi i **benefici o danni** che si andranno a causare.

Referenze

¹ *Biomolecules* 2020, 10(5),729; <https://doi.org/10.3390/biom10050729>

² Robinson R (2014) *Which Codon Synonym Is Best? It May Depend on What's on the Menu*. *PLoS Biol* 12(12): e1002014. doi:10.1371/journal.pbio.1002014

³ Ghent University Faculty of Veterinary Medicine, "mRNA modification and delivery strategies towards the establishment of a platform for safe and effective gene therapy"