

## Magyar Nobel-díjasok, 2023

### A HÍRVIVŐ CÉLBA ÉRT

## THE MESSENGER HAS REACHED ITS DESTINATION

Duda Ernő

professor emeritus, Szegedi Tudományegyetem Orvosi Biológiai Intézet, Szeged  
duda@brc.hu

„Szasztok! Képzeljétek, magyar úrhajós kering odafent!” – robbant be a laborba a tőle megszokott dinamizmussal Karikó Katalin egy májusi reggelen, 1980-ban. Hivatalosan semmi keresnivalója nem volt nálunk, hiszen egy másik intézetben, a Biofizikai Intézet nukleinsav laborjában dolgozott. De Katit minden érdekelte, és amikor hallotta, hogy mi sejttenyészetek genetikai átalakításán dolgozunk, csatlakozott hozzánk.

A DNS- (deziribonukleinsav, angolul *deoxyribonucleic acid*, *DNA*) molekulák laboratóriumi szabás-varrása, a rekombináns DNS-technológia ekkor még gyerekcipőben járt, még olyan sejttenyészeteket is nehéz volt találni, amelyekben ki tudtuk mutatni, hogy genetikailag megváltozott. Korábban sokat dolgoztunk RNS- (ribonukleinsav, angolul *ribonucleic acid*, *RNA*) vírusokkal, és tudtuk, hogy azok membránja (a vírus *envelope*) nagyon jó határfokkal tudja bejuttatni a vírus genomját a sejtekbe. Valami hasonlót szerettünk volna létrehozni. Kationos lipideket állítottunk elő, és a DNS-molekulákat vagy azok komplexeit igyekeztünk becsomagolni a lipidekből kialakított hólyagocskába, a liposzómákba. Mivel a sejtek membránja negatív töltéssel rendelkezik, a megfelelően kialakított liposzómák kapcsolódni tudtak a sejtekhez, a membránok fuzionáltak, és tartalmuk kimutatható hatékonysággal bejutott a sejtekbe.

Mire eljutottunk az eredmények közléséig, Katit el is veszítettük. A Szegedi Biológiai Központban nem volt szokatlan – igazából általános volt –, hogy mire egy fiatal kutatóról kiderült, hogy tehetséges, nézhetett is valahol állás után, mert nagyon ritkán fordult elő, hogy volt szabad „státusz” vagy pályázati pénz arra, hogy alkalmazzuk. Az akkori viszonyokhoz képest kitűnő nemzetközi kapcsolatokkal rendelkezünk, ha az illető tényleg tehetséges volt, rendszerint tudtunk neki szerezni valahonnan egy meghívást, mert bárhol boldogan alkalmazták az általunk ajánlott fiatalokat.

Tomasz Jenő, a Nukleinsav Csoport vezetője kicsivel korábban kapott meghívást Amerikába, és távozásával a kis csoport főnök nélkül maradt. Ráadásul, a vegyészekből álló csoport idegen testnek számított a biofizikus csoportok között. Így került a Francia család is Amerikába, a philadelphiai Temple Universityre (Francia Béla Karikó Katalin férje). A népmesei fordulat, a kislányuk macijába varrt valutával, már világszerte ismert történet.

A nukleotidok és nukleinsavak szintézisének és módosításának ismerete elég ritka *skill* volt akkoriban, és ez növelte Kati értékét. De túl ezen, Kati kicsit szerelembe is esett az mRNS-sel (hírvivő RNS, angolul *messenger RNA*, *mRNA*). Az mRNS az a molekula, amely irányítja a fehérjék szintézisét a sejtekben. Tehát, ha hiányzik egy sejtől vagy egy szervezetből egy bizonyos fehérje, akkor ott az mRNS bejuttatása segíthet. Márpedig, számos olyan súlyos betegség, kóros állapot ismert az orvosi irodalomban, amelyet egy adott fehérjének az állandó vagy időleges hiánya okoz. Kézenfekvő, hogy az mRNS-nek terápiás jelentősége lehet.

Mégis kevesen voltak, akik ezen a területen dolgoztak, mert az mRNS kivételesen bomlékony. Az élő szervezetekben nagyon sok olyan enzim van, amely képes darabokra vágni az egyszálú RNS-molekulákat, és – mivel az mRNS-ek rendszerint nagyon nagyok, és csak intakt állapotban működőképesek – nem sok esélyük van arra, hogy mesterséges körülmények között kifejtthessék hatásukat. Ráadásul, Kati is azt találta, hogy mRNS, de akár csak a nukleotidok homopolimerei is, az élő rendszerekben gyulladásozós reakciót váltanak ki. Az ezredforduló előtti évtizedben szinte mindenki (mondhatnánk, hogy minden *épesű kutató*), aki ezen a területen dolgozott, előbb-utóbb felmérte a nehézségeket, és más kutatási területet keresett magának. Elképesztő szívóosság, rendíthetetlen hit kellett ahhoz, hogy valaki hosszú éveken keresztül megpróbálja bizonyítani, hogy van megoldás.

Az első amerikai években Kati megtapasztalhatta, hogy egy hiúságában megsértett főnök (akinek nem kívánta tovább folytatni a kutatást), milyen bosszúhadjáratra volt képes. Például, ki akarta toloncoltatni őt az Államokból. De azután egy rövid időre felcsillant a szerencse is. 1989-ben dr. Elliot Barnathan kardiológussal dolgozott, és – bár a próbálkozásért eleinte kinevették őket – végül kísérletesen bizonyítani tudták az mRNS által kódolt fehérje jelenlétét. „I felt like a god”, volt Kati reakciója. Aki már dolgozott fehérjék izotópos jelölésével, tudja, hogy milyen elképesztően érzékeny a módszer, milyen kevés anyag is kimutatható. De ez a nyomnyi fehérje, a pozitív kísérlet erőt adott a következő évekre. Rövidesen Barnathan a biotech iparba távozott, Katinak egyedül kellett az egész tudományos közvéleménnyel felvennie a harcot, mert senki nem hitte, hogy érdemes mRNS-sel próbálkozni. Kati rengeteget dolgozott, férje egyszer kiszámolta, hogy az órábère valószínűleg nem haladta meg az egy dollárt! De sajnos a pályázatokat értékelő zsűri változatlanul úgy érezték, hogy nem érdemes pénzt pazarolni értelmetlennek ítélt kísérletekre.

Az amerikai egyetemek csak a PhD-t frissen megszerzett fiatal kutatókat támogatják egy ideig, ha azok nem tudnak pályázati pénzt szerezni, fel is út, le is út. Karikó is reménytelen helyzetbe került a University of Pennsylvanián Barnathan távozása után. Szerencsére egy korábbi kollégája, dr. Langer, aki becsülte Kati munkabírást és módszerességét, rábeszélte az agysebészeti klinika vezetőjét, hogy adjon neki kutatási lehetőséget. Agyműtétek után gyakran előfordul, hogy a betegek vérében veszedelmes vérrögök keletkeznek. Az elképzelés az volt, hogy egy RNS-t a vérkeringésben levő fehér vörsejtekbe juttatva, rábírák azokat egy enzim termelésére, amely a rendkívül bomlékony, de nagyon hatásos nitrogén-monoxidot elő tudja állítani, ami az erek kitágítása révén javítja a keringést és az oxigénellátást.

Sajnos még az állatkísérletek sem hoztak pozitív eredményt, úgyhogy, amikor dr. Langer és a klinika vezetője is távoztak, Karikónak megint állás után kellett néznie. Ekkor történt az a *deus ex machina* egy másológép képében, amely megváltoztatta Karikó – és nem csak Karikó – sorsát. A másológép melletti beszélgetés során, ami nem túl barátságosan indult Kati és dr. Andrew Weissman között, kiderült, hogy Weissman védőoltáson dolgozik az AIDS (acquired immunodeficiency syndrome) kórokozója, a HIV (human immunodeficiency virus) ellen. „I am an RNA scientist. I can make anything with mRNA”, tódította Karikó, és – mindannyiunk szerencséjére – Weissman hitt neki.

De a kísérletek azt mutatták, hogy ugyan bármit meg tudott csinálni a petricsészében tenyésztett sejtekkel, az állatkísérletek rendre csődöt mondtak. Az immunrendszer karmesterei a dendritikus sejtek. Ezek a falósejtekből differenciálódó sejtek képesek az „ellenség” fehérjéinek darabjait bemutatni mind a CD4+ T-limfocitáknak – ezek aktiválják azokat a B-sejteket, amelyek a bemutatott molekuláris mintázatok ellen ellenanyagot képesek termelni –, mind pedig a citotoxikus T-limfocitáknak (CTL) is nevezett CD8+ T-sejteknek. Ez utóbbiak rendelkeznek azzal a különleges sajátsággal, hogy elpusztíthatják a mi saját sejtjeinket. Feltéve, hogy ezek a sejtek veszélyt jelentenek a szervezet számára: ilyenek a mutáns vagy tumoros sejtek, a vírussal fertőzött sejtek, vagy amelyekben egy kórokozó, például a gümőkór baktériuma található. A HIV-fertőzött emberekben valamilyen ezek a CTL-sejtek nem pusztítják el azokat a sejteket, amelyekben a vírus lappang vagy szaporodik.

Amikor Karikóék ezeket a kísérleteket végezték, már ismert volt, hogy az immunsejtek rendelkeznek olyan érzékelőkkel, amelyekkel a kórokozó szervezetek jellegzetes molekuláris mintázatait felismerhetők. Ezek a „mintázatfelismerő receptorok” vészjeleket küldenek, ha a szervezetben felbukkan például a Gram-negatív baktériumokra jellemző lipopoliszacharid (az endotoxin), az egysejtű gombák polimannán molekulái, a vírusok kétszálú (replikatív) RNS-e vagy a *Mycobacterium*ok lipopeptidjei. Kati a kísérletek során felismerte, hogy a sejtekből izolált tRNS-ek nem okoztak gyulladási reakciót, tehát ezeket nem

érzékeli valami hasonló receptor, de a szintetikus poli(ribo)nukleotidokat vagy az mRNS-t igen.

A sejtekben az RNS-ekből a három ismertebb változat a transzfer vagy tRNS, a riboszomális rRNS és a messengerek. Mindegyikről (ma már) tudjuk, hogy szintézisük után azonnal módosításokon esnek át. Az rRNS-hez már szintézise közben hozzákapcsolódnak a riboszomális fehérjék, a tRNS darabokra vágódik, és intenzív kémiai módosításokon megy keresztül. A pre-mRNS érése során kivágódnak belőle a fehérjét nem kódoló intronok, az elején egy „sapkát” (fordított irányítású, módosított nukleotidot) kap, a végén pedig kialakul egy adeninek sorozatából álló poliA-„farok”. Kati figyelmét a tRNS ragadta meg, ez könnyen előállítható nagy mennyiségben is, és stabil. Az érett tRNS-ben egy sor módosított nukleotid van, például metilált bázisok és pszeudouridin. Lehet, hogy ezért nem vált ki gyulladási reakciót? Láss csodát: ha az uridinek egy részét kicserélte a szintetikus mRNS-ben módosított uridinre, sokkal több fehérjét termeltek a sejtek, és elmaradt az immunrendszer aktiválódása! Ezt 2005-ben közölték, és a felfedezés meglepő módon elég csekély visszhangot váltott ki. Weissmannal több pályázatukat elutasították és a cikket is csak nehezen fogadták el közlésre. A szabadalmukat a University of Pennsylvania nevetséges összegért adta el.

Kiderült, hogy a sejtek rendelkeznek olyan mintázatfelismerő receptorokkal, amelyek az idegen (például virális) RNS-ekkel szemben védenek bennünket. A mi mRNS-eink módosított nukleotidokat tartalmaznak, szintézis után „saját jelek” kerülnek rájuk, ilyeneket viszont a vírus vagy a többi kórokozó nem tud csinálni. Ha a szintetikus mRNS-t bejuttatjuk a szervezetbe, az immunrendszer aktiválódik, mert vírus RNS-ként érzékeli azt. Ha módosítjuk az mRNS-t, a szervezet sajátjának tekinti, elfogadja és megtermeli az általa kódolt fehérjét. Ha fehérjepótló terápia a cél, vagy a dendritikus sejtekben akarunk fehérjét termeltetni, a pszeudouridin-tartalmú mRNS tűnt a legalkalmasabbnak. 2008-ban és 2012-ben újabb cikkek bizonyították a módosított mRNS alkalmasságát, majmokban az eritropoetin mRNS hiába fokozta a vörösvértestek termelődését, a tudományos közvélemény még mindig elég visszafogott érdeklődést tanúsított. Az egyik kivétel Derrick Rossi, egy kitűnő őssejtbiológus, a Moderna cég egyik megalapítója volt. Ő felismerte a lehetőséget: az mRNS nem integrálódik, nem vált ki maradandó genetikai változást, de az általa kiváltott változás maradandó, akár differenciálódásról, akár immunválaszról van szó. A Moderna megvásárolta a módosított mRNS-szabadalmat.

Igen, az immunválasz volt a következő kulcsszó. Egy másik Szegeden végzett, korábban a Szegedi Biológiai Kutatóközpontban (SZBK) dolgozó kutatóval, Pardi Norberttel Karikóék elkezdtek kutatni a védőoltások kifejlesztésének lehetőségét. Rövidesen sikeres kísérletek bizonyították az eljárás használhatóságát, az influenza, az emberi citomegalovírus, a Zika-vírus elleni vakcinák előrehaladott állapotban voltak. A szabadalom révén felfigyelt Karikóra, és le is

szerződtette őt a német BioNTech két török származású vezetője, hogy dagantos betegségek ellen használható vakcinát fejlesszenek a tumorsejtekre jellemző neoantigének ellen.

Ekkor, 2019 utolsó negyedében bukkant fel egy korábban ismeretlen kórokozó, amely azonosításában meghatározó szerepe volt egy jó szemű kínai radiológus csoportnak. A betegek tüdő-CT-képein megjelenő, szokatlan, maratott üvegre emlékeztető opak foltok új kórokozóra utaltak, amelynek genomját heteken belül sikerült meghatározni. A gyorsan terjedő kór jelentőségét felismerve, az RNS-szekvencia ismeretében szerte a világon megindult a védőoltások fejlesztése. A genom szerkezete bizonyította, hogy egy új típusú koronavírusról van szó, a korábbi járványok (2002–2003, illetve 2012) alapján lehetett tudni, hogy a vírus ún. tüskefehérjéjét (S-protein) kell hatástalanítani. A hagyományos, inaktivált kórokozót tartalmazó vakcinával már márciusban (!) beoltották az oltást kifejlesztő kínai kutatókat, majd a katonákat... Hónapokon belül elkészültek a vektorvakcinák is, hiszen például az oxfordi kutatók (akik termékét később az Astra/Zeneca cég hozta forgalomba) már készen álltak a Zika- és az Ebola-vírus elleni vakcinákkal: csak az antigén kódját kellett kicserélni. Gyorsan haladt a módosított mRNS-alapú védőoltások kifejlesztése is a Moderna és a BioNTech laboratóriumaiban. Persze soha korábban senkinek nem kellett mRNS-t gram vagy kilogram mennyiségekben előállítani, a léptéknövelés minden biotech cégnek komoly fejfájást szokott okozni: még a nyersanyagok, például nukleotid trifoszfátok, polimerázok sem álltak rendelkezésre ekkora mennyiségben.

A vakcinák tömeges termelése ott tudott leggyorsabban felfutni, ahol a hagyományos eljárás mellett döntöttek, és ahol nem volt szokatlan, hogy több száz millió adagot állítanak elő: Kínában és Indiában. Érdemes megjegyezni, hogy a leghatásosabb vakcinákat szinte kivétel nélkül kis *startup*ok, induló cégek, laboratóriumok tudták kifejleszteni: a Modernának ez volt az első piacra kerülő terméke, az oxfordiak és a BioNTech is csak úgy tudta értékesíteni a készítményét, hogy összeálltak nagy gyógyszergyárakkal (utóbbi a Pfizerrel), és a Szputnyik V-t kifejlesztő Gamaléja Intézet feladata is kutatás, nem ipari termelés volt. A világ egyik legnagyobb vakcinagyártója, a Sanofi viszont nem tudott időben hatásos termékkel előállni. A CureVac cég mRNS-alapú vakcina fejlesztésébe fogott, de nem tartotta fontosnak az mRNS módosítását. Hiba volt, bukás lett belőle.

A módosított mRNS-alapú védőoltások kifejlesztésében meghatározó szerepe volt azoknak, akik a lipid komponensek kifejlesztését végezték (szerintem megérdemelték volna a Nobel-díj harmadik, ki nem osztott helyét). Ezek a lipidek többértékes feladatot látnak el: a pozitív töltésű lipidek komplexet alkotnak a negatív töltésű RNS-molekulákkal. Ezáltal védik az RNS-t a degradációval szemben. Ezek apoláris részéhez kapcsolódnak a külső réteget alkotó lipidek, amelyek polietilénlikol oldalláncokat (is) hordoznak. A külső réteg felelős a sejtekkel való kölcsönhatásért, meg az adjuváns funkcióért.

A védőoltásokban jelen levő (vagy az mRNS-alapú vakcinák miatt termelő-dő) antigén nem feltétlenül vált ki jelentős immunitást, mert az immunrendszer mintázatfelismerő receptorait nem nagyon aktiválják maguk a fehérjék. Ilyenkor használnak adjuvánsként olyan anyagokat, amelyek e receptoroknak az agonistái. A Sinopharm- és SinoVac-készítményekben ezt a szerepet az alumínium-hidroxid kolloid (alum) játszotta, amely elsősorban humorális válasz kiváltására alkalmas. Az indiai változatban az alumra receptor agonista molekulákat is adszorbeáltattak, így hatásosabb T-sejtes immunitást tudott kiváltani. A vektorvakcinák esetében maguk a vírusrészeszekék működnek roppant hatásos adjuvánsként. Hasonló hatást váltanak ki az mRNS-alapú védőoltásokban a nanorészeszekék is, hiszen mérettartományuk nagyon hasonló egyes vírusokéhoz. Ehhez adódik hozzá egyes lipidek adjuváns hatása. (A fejlesztések egyik iránya épp ez utóbbinak csökkentése, hogy a mellékhatások előfordulását redukálni lehessen.)

A módosított mRNS-alapú védőoltásokról ma már megállapíthatjuk, hogy minden korábbinál jelentősen hatásosabb védelmet biztosítanak a populáció egésze számára. A kor előrehaladtával az ember immunrendszere egyre kevésbé reagál a kórokozókra. A hagyományos védőoltások idősebbeknél egyre gyengébb immunválaszt provokálnak, hatásuk gyakran elenyésző 70–80 éves kor felett. Nagyon nehéz immunizálni a sugár- vagy kemoterápiás kezelés alatt állókat, az egyéb oknál fogva immunhiányosokat vagy a szervátültetésen átesetteket. Érdekes módon, ezeknél a csoportoknál is meglepően jól teljesít az mRNS-alapú vakcina. Ráadásul, kiemelkedően jó a hatás/mellékhatás aránya! A módosított mRNS-védőoltás beadása után pár órával már nincs jelen a szervezetben sem RNS, sem a nanorészeszke: mind alkotórészeire bomlik, semmi nem marad belőlük, csak a kiváltott immunitás.

A közösségi médiában felvetett veszedelmek, például, hogy az mRNS-ről készülő cDNS (kiegészítő vagy komplementer DNS, angolul *copy* vagy *complementary DNA*) megváltoztatva genetikánkat beépül a genomba, vagy a virális gén fennmaradása a sejtjeinkben, teljes képtelenség. A védőoltás nyomán kialakuló T-sejtes immunitás ugyanis elpusztít minden olyan sejtet, amelyben a vírus vagy annak antigénje kifejeződik. Ilyenek azok a dendritikus sejtek is, amelyek az immunválaszt elindítják az S-fehérje termelésével. Ezek sorsa pár nappal az oltás után megpecsételődik, akkor is elpusztulnának, ha valóban keletkezne cDNS, és valóban beépülne a genomba.

A koronavírus számos gonosz trükknek van a birtokában. Ezek közül a fertőzést túlélők számára a legveszedelmesebb a molekuláris mimikri. Ez alatt azt a jelenséget értjük, amikor a kórokozó olyan peptidszekvenciákat (immun epitópokat) hordoz, amelyekkel megegyező vagy nagyon hasonló található az emberi szervezetben. Ezeket elvben tolerálja az immunrendszer, de súlyos fertőzés esetén (ha az immunsejtek receptorai sok „veszélyjelet” érzékelnek) immunválasz alakul ki ellenük, ami autoimmun folyamatokat indíthat be. A „hosszú Covid”,

a „brain fog”, a szívizomgyulladás vagy a gyermekeknél előforduló sokszervi érgyulladás (multisystem inflammatory syndrome in children, MIS-C) tüneteinek kialakulásában a mimikri kiváltotta autoimmunitás fontos szerepet játszik.

A védőoltások fejlesztése során szempont, hogy minél több kórokozó-szekvenencia van a vakcinában, annál több mimikri peptid fordul elő, annál több emberben alakulhat ki autoimmun folyamat. (Ezért előnyösebb az inaktivált kórokozó alapú vakcinánál a split-, vektor- vagy mRNS-alapú védőoltás.) Sajnos, a koronavírus S-fehérjéje számos olyan epitópot tartalmaz, amelyek mimikrire képesek. Ezekről két-három éve még semmit sem tudtunk. Mivel kénytelenek voltunk az S-fehérjét használni immunizálásra, a vakcináltak egy részében (az illetők HLA-fehérjéinek minőségétől függően) ezek is kiválthattak autoimmun folyamatokat. A jövődő védőoltások fejlesztése során természetesen az ilyen jelenségekre is figyelemmel lesznek.

Karikó Katalin Nobel-díja egy különleges karriert koronáz meg. Ez a század nem a magányos kutatókról szól. A nagy eredményeket jól finanszírozott, nagy csoportokat irányító, évtizedeken keresztül elismert vezető tudósok érik el, közülük kerülnek ki a díjazottak. Talán Barbara McClintockhoz lehetne őt hasonlítani, aki szintén a tudomány mostohája volt évtizedeken keresztül, mert ellent mert mondani a tudományos közvélekedésnek. Mindkettőjük Nobel-díja a kitartás, a szívós eltökéltség, a fáradhatatlan munka elismerése.