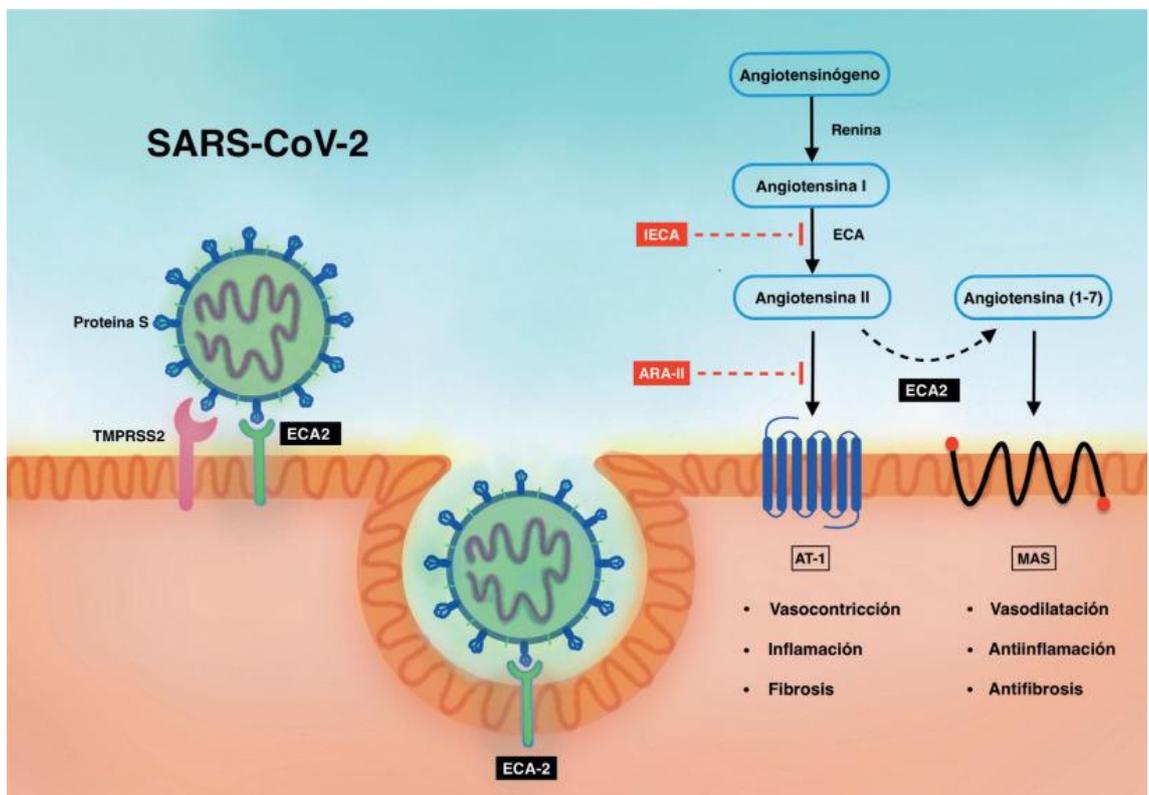


Analisis de la presencia de RNA mensajero codificante para la proteína Spike en viales de vacuna Moderna y Pfizer para la producción de inmunidad contra nCoVid 2019

Dado que los estudios científicos demostraron que el SARS-CoV-2 entran a las células a través de la unión de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2), presente en la membrana celular, con la proteína viral Spike (ver Fig1) las nuevas vacunas se construyen con secuencias genéticas que codifican para la producción de la misma dentro de las células humanas con el fin que ellas actúen como antígenos generadores de inmunidad.

Figura 1



Como se muestra en el Figura 1 la presencia de la proteína Spike al unirse a la ACE2 soluble interfiere con la producción de angiotensina 1-7 que contraresta los procesos inflamatorios, coagulatorios, de vaso constricción, de retención de líquidos y sodio, etc, de la angiotensina 2. Es por ello que es crítico desde la perspectiva sanitaria conocer la presencia de estas secuencias genéticas y su concentración en las vacunas que según los fabricantes las contienen Fig 2.

Conociendo la secuencia genética que codifica la proteína Spike se diseñó cebadores (primers) que mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) posterior a la transcripción del material ARN a ADN mediante la transcriptasa reversa permiten amplificar tales secuencias y luego observarlas mediante el sistema de electroforesis de agarosa.

Figura 2

What Ingredients are in the COVID-19 Vaccine?

ct.gov/covidvaccine



Pfizer-BioNTech Vaccine

- **95% effective**
- Number of shots: **2 shots, 21 days apart**
- Approved for use in people aged **16 years and older**
- **Ingredients:** messenger ribonucleic acid (mRNA), lipids (((4-hydroxybutyl)azanediyl)bis(hexane-6,1-diyl)bis(2-hexyldecanoate), 2 [(polyethylene glycol)-2000]-N,N-ditetradecylacetamide, 1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine, and cholesterol), potassium chloride, monobasic potassium phosphate, sodium chloride, dibasic sodium phosphate dihydrate, and sucrose
- **Explanation of ingredients:**
 - Lipids: Nanolipids, or tiny fat molecules, protect the mRNA and provide a "greasy" exterior that helps the mRNA slide inside cells. Nanolipid components in the Pfizer-BioNTech vaccine include: ((4-hydroxybutyl)azanediyl)bis(hexane-6,1-diyl)bis(2-hexyldecanoate), 2 [(polyethylene glycol)-2000]-N,N-ditetradecylacetamide, 1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine, and cholesterol
 - Salts: Helping to balance the acidity in your body, the following salts are included in the Pfizer-BioNTech vaccine: potassium chloride, monobasic potassium phosphate, sodium chloride

Moderna Vaccine

- **94% effective**
- Number of shots: **2 shots, 28 days apart**
- Approved for use in people aged **18 years and older**
- **Ingredients:** messenger ribonucleic acid (mRNA), lipids (SM-102, polyethylene glycol [PEG] 2000 dimyristoyl glycerol [DMG], cholesterol, and 1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine [DSPC]), tromethamine, tromethamine hydrochloride, acetic acid, sodium acetate, and sucrose
- **Explanation of ingredients:**
 - mRNA: Like the Pfizer BioNTech vaccine, Moderna's also uses mRNA technology to build antibodies against COVID-19.
 - Lipids: Nanolipids help deliver the mRNA to the vaccine recipient's cells. Nanolipid components of the Moderna vaccine include: (SM-102, 1,2-dimyristoyl-rac-glycero-3-methoxypolyethylene glycol-2000 [PEG2000-DMG], cholesterol, and 1,2-distearoyl-snglycero-3-phosphocholine [DSPC])
 - The remaining ingredients, including acids (acetic acid), acid stabilizers (tromethamine and tromethamine hydrochloride), salt (sodium acetate), and sugar (sucrose) all work together to maintain the stability of the vaccine after it's produced.

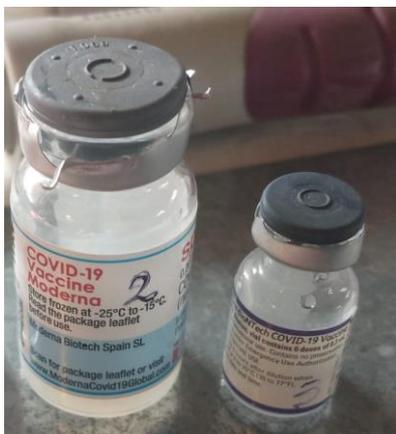
Metodología:

Viales de vacunas analizados (Fig.3):

1- Moderna (Spike vax) 0,20 mg/ml - mRNA Biontech lote 940-915 - Venc 08/06/2022

2- Pfizer Biontech - Lote PAA173452 - NDC 59267-1000-1 - FN167207/2022

Figura 3: viales a analizados



Extracción de material genéticos y amplificación:

Los viales estudiados fueron provistos por el Dr. Martin Monteverde, a fin de analizar en ellos la presencia de secuencias nucleotídicas asociadas a la proteína Spike del SARSCoV2.

El ARN de los viales fueron aislados mediante la técnica descrita por Chomczynski, 1993 y transcrito a ADN mediante M-MLV Reverse Transcriptase Promega.

Posteriormente se produce la amplificación mediante polimerasa GoTaq® G2 DNA Polymerase Promega y los primers mostrados en la Fig. 4 que amplifica un fragmento de 410 bp. El análisis de la presencia de los fragmentos se realizó mediante electroforesis en gel de agarosa 1,5 % y tinción con bromuro de ethidium.

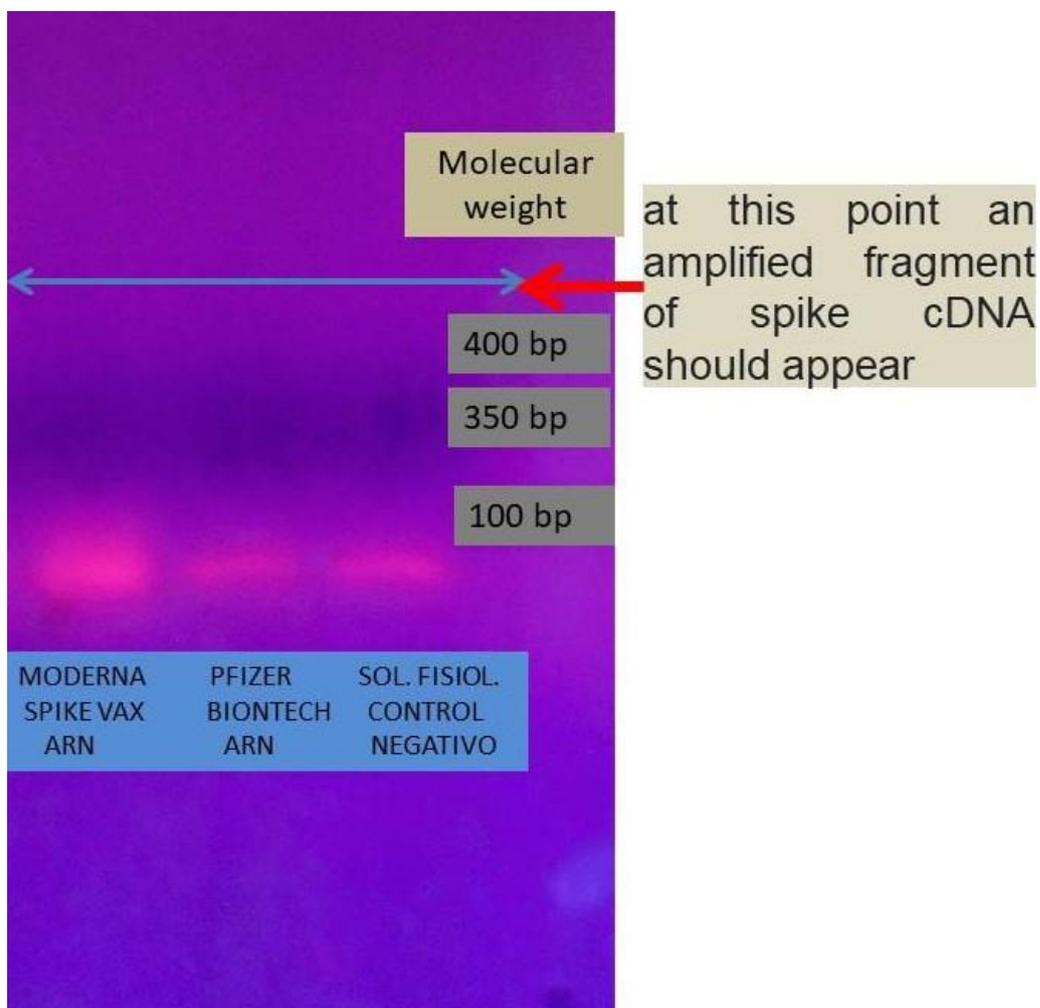
Figura 4: secuencia nucleotídica proteína spike SARSCoV2

```
gtttaagaatattgatggttatTTTAAATatattctaagcacacgcctattaattta  
gtgcgtgatctccctcagggTTTTcggctttagaaccattggtagatttgccaata  
ggtaataacatcactaggtttcaaactttacttgctttacatagaagtatttgactc  
ctggtgattcttctcaggttgacagctggctgcagcttattatgtgggttatct  
tcaacctaggacttttctattaaaatataatgaaaatggaaccattacagatgctg  
tagactgtgcacttgaccctctctcagaaacaaagtgtacgttgaaatccttcact  
gtagaaaaaggaatctatcaaacttctaactttagagtccaaccaacagaatcta  
ttgtagatttcctaataattacaaacttgcccttttggtgaagttttaacgccac  
cagatttgcatctgtttatgcttggacaggaagagaatcagcaactgtgttgctg  
attattctgtcctatataattccgcatcatttccactttaagtgttatggagtgctc  
ctactaaattaaatgatctctgcttactaatgtctatgcagattcatttgaattag  
aggtgatgaagtcagacaaatcgctccagggcaaactggaaagattgctgatta  
taattataaattaccagatgattttacaggctgcggtatagcttgaattctaaca  
tcttgattctaaggttggtggaattataattacctgtatagattgtttaggaagtct  
aatctcaaaccctttgagagagatatttcaactgaaatctatcaggccgtagcac  
accttetaatggtttgaagg ttttaattttactttcctttacaatcatatggttcc
```

Resultados:

En la Figura 5 se puede observar los resultados obtenidos en la electroforesis de agarosa 1,5 % del material extraído de los viales (Fig. 3) amplificados con las secuencias de primers que corresponden a un fragmento de 410 bp de la proteína Spike. Este fragmento no se observa en la electroforesis de los productos amplificados. **NO** se han podido obtener resultados positivos que evidencien en estos viales presencia de material genómico correspondiente a la proteína Spike.

Figura 5: Electroforesis en gel de agarosa 1,5 % de material amplificado a partir de extracción de ARN de los viales Moderna y Pfizer Biontech



CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos no evidencian en los **viales analizados** la presencia de material genómico correspondiente a la secuencia nucleotídica de la proteína Spike. Este resultado **NO** habilita a extraer una conclusión definitiva, dado el número de viales analizados y **NO** debe ser interpretado como ausencia de RNA mensajero en las vacunas de las marcas mencionadas. Si sugiere la necesidad de realizar un estudio amplio, científico y público sobre el contenido de las mismas en un número estadísticamente significativo de viales y de lotes a estudiar.

BIBLIOGRAFIA

- 1- Chomczynski, P. 1993 A reagent for the single-step simultaneous isolation of RNA, DNA and proteins from cell and tissue samples. *Biotechniques* 15: 532–537.

Juan Carlos Garberi

Dr. En Ciencias Químicas

Biologo e Inmunologo Molecular