

Maren Aksdal Åsvang
Nora Synnøve Løvgren Woxholth

Vaksineteknologi

Hvordan vaksiner utvikles og hvilken vaksineteknologi som anvendes i ulike vaksiner sett ut ifra en global pandemi, herunder ny vaksineteknologi og hvordan de eventuelt kan være egnet til bruk mot globale epidemier, pandemier eller smittsomme sykdommer

Bacheloroppgave i Bioingeniørfag

Veileder: Ann-Kristin Tveten

Mai 2021

Maren Aksdal Åsvang
Nora Synnøve Løvgren Woxholth

Vaksinetechnologi

Hvordan vaksiner utvikles og hvilken vaksinateknologi som anvendes i ulike vaksiner sett ut ifra en global pandemi, herunder ny vaksinateknologi og hvordan de eventuelt kan være egnet til bruk mot globale epidemier, pandemier eller smittsomme sykdommer

Bacheloroppgave i Bioingeniørfag
Veileder: Ann-Kristin Tveten
Mai 2021

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet
Fakultet for naturvitenskap
Institutt for biologiske fag Ålesund



NTNU

Kunnskap for en bedre verden

Forord

Bacheloroppgaven er en avsluttende oppgave for vår 3-årige utdanning innen Bioingeniørfaget ved NTNU i Ålesund. I løpet av de siste tre årene har vi tilegnet oss nyttig kunnskap og erfaring, noe som har gjort oss rustet til å lykkes i bioingeniøryrket. Under skriveprosessen av denne oppgaven har vi anvendt mye av den faglige kompetansen vi har opparbeidet oss gjennom studietiden, og vi har lært mye nytt underveis. Problemstillingen til denne oppgaven er svært aktuell for den pandemiske situasjonen vi globalt befinner oss i per dags dato, og interessen for å skrive om den har dermed vært stor. Prosessen av litteratursøk, kildekritikk og anvendelse av faglig litteratur har vært krevende, men også svært lærerik og spennende. Vi står igjen med en følelse av mestring og stolthet når vi leverer inn dette arbeidet, og håper det kan gjenspeiles i oppgaven.

Vi vil rette en stor takk til vår veileder Ann-Kristin for gode råd, støtte og veiledning underveis i skriveprosessen.

Sammendrag

En vaksine er et preparat som brukes for å stimulere en immunrespons slik at den som vaksineres blir immun uten selv å behøve og gå gjennom sykdommen. Vaksiner deles inn i ulike kategorier, som forteller noe om hvilken teknologi vaksinen baseres på. Det finnes fem kategorier med vaksineteknologier, der de fire første kategoriene defineres som tradisjonelle vaksiner, og den siste kategorien er genetiske vaksiner. Genetiske vaksiner fikk for første gang lisens til menneskelig bruk i 2020 etter utbruddet av SARS-CoV-2. Genetiske vaksiner har oppnådd enorm oppmerksomhet det siste året da de gir et håp om å kunne brukes mot sykdommer en tidligere ikke har lyktes i å lage en vaksine mot.

Det er anvendt et systematisk litteratursøk som metode. Oppgaven er bygd opp gjennom litteratursøk med en kombinasjon av spesifikke søkeord i ulike databaser, og det er blitt brukt tolv forskningsartikler for å svare på problemstillingen.

I oppgaven sammenlignes de genetiske vaksinene med de tradisjonelle vaksinene, sett i lys av en pandemisk situasjon. Sammenligningen av vaksineteknologiene baserer seg blant annet på vaksinens evne til å aktivere en immunrespons, egnetheten til utvikling og produksjon under en eventuell pandemi, samt stabiliteten av vaksinene. Genetiske vaksiner representerer et lovende alternativ til tradisjonelle vaksiner på grunn av deres evne til å aktivere både humoral- og cellulær immunrespons og kapasitet for rask utvikling. Imidlertid begrenses deres anvendelse på grunn av ustabilitet *in vivo*, en svakere immunrespons enn ønskelig og behovet for en «cold chain».

Oppgaven tar også for seg en vaksines godkjenningssprosess, da alle vaksiner må evalueres før de tas i bruk i samfunnet. Det er viktig at vaksinene er demonstrert for å være trygge og effektive før de godkjennes, og nytte og risiko av vaksinen vurderes alltid opp mot risikoen for alvorlig sykdom og død. Normalt tar godkjenningssprosessen rundt ti år. På grunn av SARS-CoV-2-utbruddet ble det et pressende behov for å utvikle en vaksine raskt, og de genetiske vaksinene ble dermed godkjent via «fast-track» og tatt i bruk allerede ett år senere. Til tross for at «fast-track» er en forkortet godkjenningssprosess, går vaksinene gjennom de samme fasene som ved normal godkjenning, og det er en forutsetning at det foreligger tilstrekkelig dokumentasjon på effekt, sikkerhet og kvalitet før de godkjennes.

Abstract

A vaccine is a preparation that is used to stimulate an immune response in order to develop immunity without needing to get infected. Vaccines are divided into several categories, which says something about the technology the vaccines are based on. There are five categories of vaccine technologies, where the first four are defined as traditional vaccines, and the last category is genetic vaccines. Genetic vaccines were first licensed for human use in 2020 after the outbreak of SARS-CoV-2. Genetic vaccines have achieved an enormous attention after they were licensed, in hope that they can be used to prevent several diseases after former attempts has not been successful.

A systematic literature search has been used as method for this assignment. The assignment is built up through literature search with a combination of specific search words in several databases, and twelve research articles was used to answer the aim of the thesis.

In this assignment there will be a comparison of genetic vaccines and traditional vaccines, seen in a light of a pandemic situation. The comparison of the vaccine technologies is based on the vaccines ability to activate an immune response, the suitability for development and production under a pandemic, as well as the stability of the vaccines. Genetic vaccines represent a promising alternative to traditional vaccines, thus their ability to activate both humoral- and cellular immune responses, and their capacity for quick development. However, the utilisation of the vaccines is limited, because of their instability *in vivo*, a weaker immune response than wanted and the need for a “cold chain”.

The assignment also addresses process of approval, since all vaccines must be evaluated before they can be put to use. It is important that the vaccines are demonstrated as effective and safe before they get approved, and that the benefits of the vaccine always gets evaluated against the risk of serious illness and death. Normally it takes around ten years for a vaccine to be approved. Due to the pandemic caused by SARS-CoV-2, the need for a vaccine was urgent, and the genetic vaccines were approved via a «fast-track» method and put to use just a year later. Despite using «fast-track», which is a shortened approval process, the vaccines go through the same phases as a normal approval, and there is a prerequisite that adequate documentation on the effect, safety and quality is by hand before they can be approved.

Innholdsfortegnelse

1. Introduksjon	5
1.1 Problemstilling	5
1.2 Ordliste	6
2. Teori	7
2.1 Humoral respons	8
2.2 Cellulær respons	9
2.3 Vaksineutvikling	10
2.4 «Cold chain»	12
2.5 Vaksineteknologier	13
2.6 Genetiske vaksiner	14
2.7 mRNA-vaksiner	15
2.8 DNA-vaksiner	17
3. Metode	19
4. Resultat	21
5. Diskusjon	24
5.1 Konklusjon	31
6. Referanser	32

1. Introduksjon

Drøyt et år har gått siden SARS-CoV-2-pandemien brøt ut etter et smittetilfelle i Wuhan (Kina) desember 2019. I mars 2020 hadde viruset spredt seg globalt, og det ble et pressende behov for å utvikle en vaksine så raskt som mulig. På grunn av en effektivisert godkjenningsprosess ble første vaksine godkjent i Norge allerede 21. desember 2020. De neste ukene godkjennes flere vaksiner, og vaksinasjonsprosessen blir satt i gang i Norge for fullt. De godkjente vaksinene bruker en teknologi som er ulik fra hva de tradisjonelle vaksinene baserer seg på. Vaksinene har også blitt godkjent raskere enn hva som er normalt, men kravene til kvalitet, sikkerhet og effekt er akkurat de samme som for andre vaksiner og legemidler (1).

Siden starten av 2020 har de fleste fulgt med på godkjenningsprosessen av de ulike vaksinene, og navn på selskap som har klart å utvikle vaksiner mot SARS-CoV-2. Likevel er det få som vet hvilken teknologi som ligger bak de ulike vaksinene, og hva som egentlig er forskjellen på teknologien til de nye vaksinene versus de tradisjonelle. Denne oppgaven tar for seg teknologien bak dagens godkjente vaksiner, sammenlignet med andre tradisjonelle vaksiner. I tillegg sammenlignes immunresponsen som oppstår ved injeksjon og egnetheten til utvikling og produksjon under en eventuell pandemi.

Oppgaven er delt inn i seks kapitler og benytter tradisjonell oppbygging i henhold til IMRoD-modellen. Denne oppbygningen innebærer en innledning med en teoridel bestående av relevant litteratur, metoden som er blitt brukt for å kunne svare på problemstillingen, resultat med fremstilling av de vitenskapelige artiklene og avslutningsvis en diskusjon og konklusjon.

1.1 Problemstilling

Denne oppgaven tar utgangspunkt i hvordan ulike vaksiner utvikles, hvilken vaksineteknologi vaksinene baseres på sett i lys av en pandemisk situasjon, og hvordan det eventuelt kan bidra til å løse andre globale epidemier, pandemier og smittsomme sykdommer.

1.2 Orddliste

Virkestoff: Et virkestoff i denne teksten innebærer noe i en vaksine som induserer en immunrespons. For eksempel blir ordet virkestoff brukt for mRNA og DNA i sammenheng med genetisk vaksineteknologi.

Genetisk vaksine: En vaksine som baserer seg på å bruke genetisk materiale for å inducere en immunrespons. Vaksiner som bruker mRNA eller DNA som virkestoff er genetiske vaksiner.

DNA: Deoksyribonukleinsyre er en dobbeltrådet nukleinsyre. DNA er en organismes genom og består av gener som bestemmer funksjon og utseende til organismen. I denne teksten brukes DNA for å forklare virkestoffet i DNA-vaksiner, der man fokuserer på spesifikke gener i DNA-et og hvordan disse utnyttes.

mRNA: *messenger* ribonukleinsyre. En enkelttrådet nukleinsyre som inneholder oppskriften til et protein. I denne teksten brukes mRNA for å forklare virkestoffet i mRNA-vaksiner, der man fokuserer på hvilket protein mRNA koder for.

Antigen: Fremmedstoffer som aktiverer immunsystemet. Proteiner er de kraftigste antigenene, men lipider eller store suktermolekyler som finnes på overflaten av invaderende, sykdomsfremkallende organismer virker også som antigener. I teksten brukes antigen om antigen-proteiner.

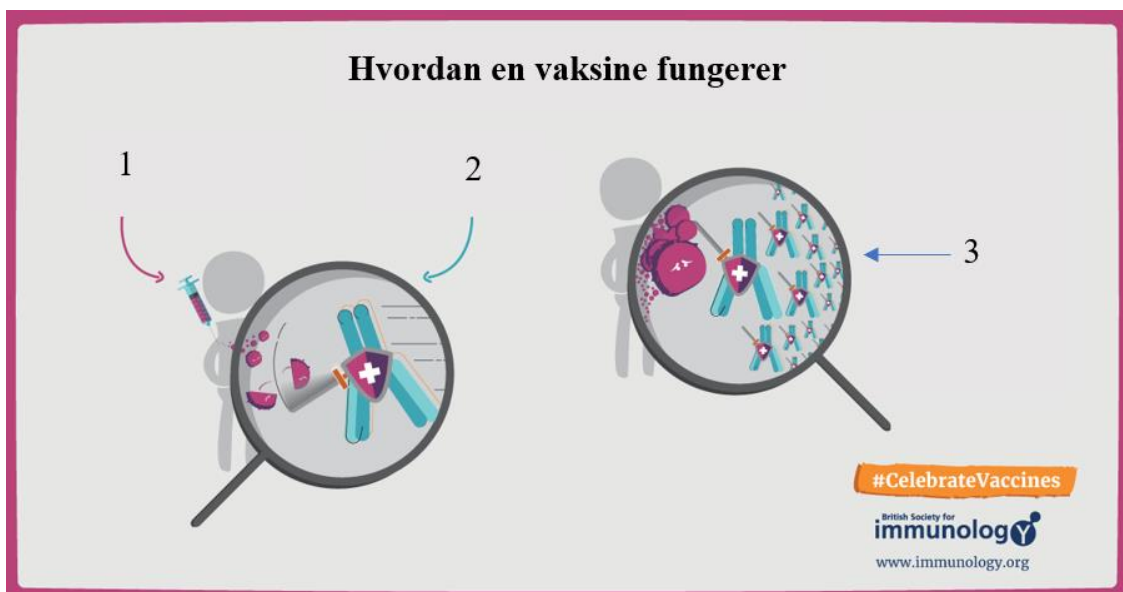
Proliferasjon: Begrepet brukes om vekst grunnet økt antall celler. Proliferasjon brukes i teksten for å beskrive økt antall celler i sammenheng med humoral- og cellulær immunrespons.

SARS-CoV-2-pandemi: Pandemien som er forårsaket av viruset SARS-CoV-2, og viruset fører til sykdommen Covid-19.

Vektorbaserte vaksiner: Tradisjonelle vaksiner baseres på en teknologi der det benyttes vektorer i vaksinen for å oppnå ønskelig immunrespons. De tradisjonelle vaksinene blir derfor referert som vektorbaserte vaksiner i denne oppgaven.

2. Teori

En vaksine har i dag ofte hovedrollen i å kontrollere og utrydde sykdommer hos både mennesker og dyr over hele verden. En vaksine er et preparat som brukes for å stimulere en immunrespons slik at den som vaksineres blir immun uten selv å behøve og gå gjennom sykdommen. En god vaksine gir langvarig og gjerne livslang beskyttelse mot sykdommen det vaksineres mot. Noen vaksiner har et behov for oppfriskningsdoser for å opprettholde immuniteten. Vaksiner blir klassifisert innenfor fem kategorier basert på teknologien bak vaksinen. De fire første kategoriene er de tradisjonelle vaksinene som defineres som vektorbaserte vaksiner, og den siste kategorien av vaksiner kalles genetiske vaksiner.



Figur 1: Figuren er en forenklet illustrasjon av hvordan en vaksine fungerer. 1) Mottaker av vaksinen blir gitt en liten mengde virkestoff fra mikroben man vil skape beskyttelse mot. I hvilken form mikroben opptrer, avhenger av hvilken vaksinteknologi som benyttes. 2) Immunforsvaret oppdager virkestoffet i vaksinen og starter en immunrespons. 3) Dersom mottakeren av vaksinen blir smittet av mikroben man har vaksinert seg mot, vil vedkommende allerede ha bygget opp et forsvar slik at man ikke blir syk (2).

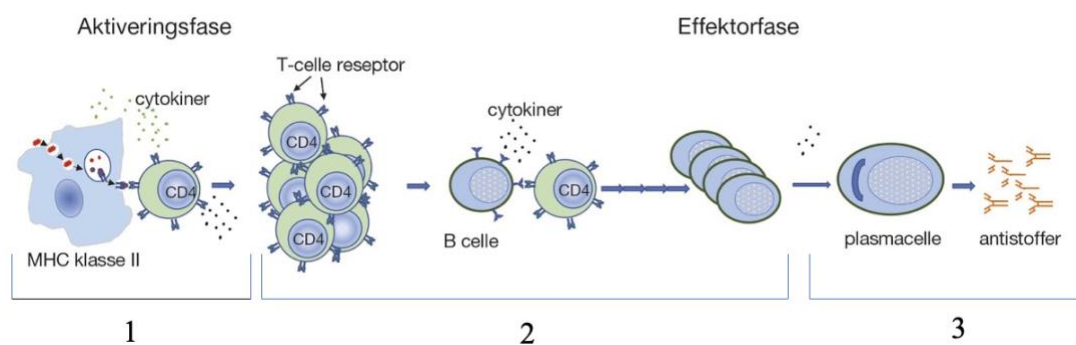
Når virkestoffet i en vaksine blir injisert, vil det aktiveres en adaptiv immunrespons i kroppen (Figur 1). En adaptiv immunrespons aktiverer kroppens B-celler og T-celler, og omfatter de to hovedtypene responser kalt humoral respons og cellulær respons. Noen vaksiner vil aktivere begge responsene, mens andre vaksiner aktiverer kun en av dem. Den humorale responsen innebærer hovedsakelig antistoffproduksjon, mens den cellulære responsen fører til destruksjon

av infiserte celler. Immuniteten som oppstår etter en satt vaksine vil være spesifikk, som betyr at man kun er immun mot akkurat den sykdommen som man vaksinerer seg mot. Når den vaksinerte blir utsatt for mikroben som vedkommende er vaksinert mot, vil immunforsvaret oppnå en rask immunrespons som forhindrer sykdom (3-7).

2.1 Humoral respons

En humoral respons oppstår når et antigen presenteres via *major histocompatibility complex-II* (MHC klasse II) på en celle (Figur 2). MHC klasse II finnes kun på antigenpresenterende celler (APC), som omfatter B-lymfocytter, dendrittiske celler og makrofager. Ved eksponering av antigen via MHC klasse II tiltrekkes såkalte T-hjelpeceller som man normalt har i kroppen. T-hjelpecellene har to ulike proteiner på sin celleoverflate som begge bidrar til aktivering av immunresponsen. Det ene proteinet kalles T-cellerreseptor (TCR), og vil binde seg til antigenet som eksponeres. Det andre proteinet på T-hjelpecellen kalles CD4, og dette proteinet bindes til selve MHC klasse II. På grunn av at denne typen T-celler har CD4-proteiner på sin celleoverflate, kalles cellene også CD4-positive celler. Når CD4-positive celler reagerer med komplekset, aktiveres cellen og den begynner å frigjøre cytokiner. Dette kalles aktiveringsfase. Cytokinene fungerer som signalstoff og vil blant annet signalisere at B-celler skal proliferere. Når B-cellen proliferer, vil de i tillegg differensieres til plasmaceller som vil danne antistoff mot nettopp antigenet som er presentert på MHC klasse II. Dette kalles effektorfase (8, 9).

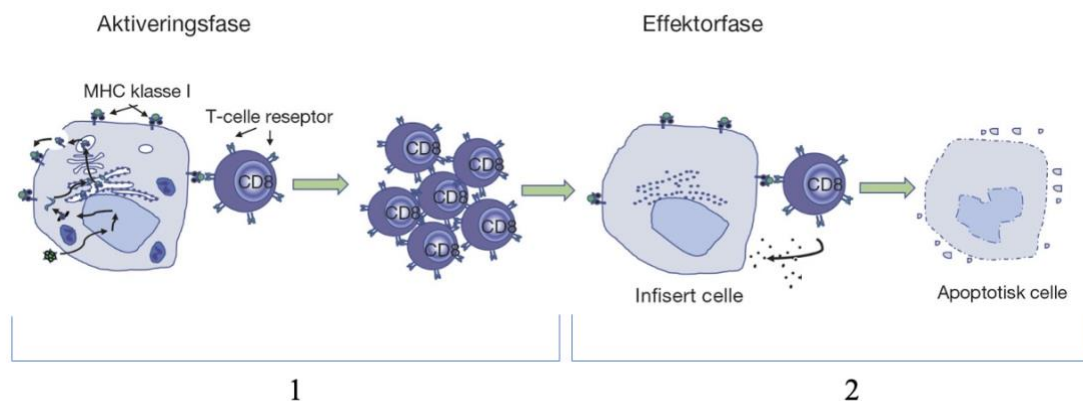
I tillegg til å aktivere B-cellene til å proliferere og differensiere, vil cytokinene også stimulere de CD4-positive-cellene til å proliferere. Det blir altså dannet mange nye spesifikke immunceller som vil gjøre responsen raskere ved senere interaksjon med antigenet (8-10).



Figur 2: Figuren illustrerer en humoral respons. 1) Det fremmede antigenet blir presentert på MHC klasse II og CD4-positive celler tiltrekkes. De CD4-positive cellene bindes til komplekset via to ulike proteiner som cellen normalt har på sin celleoverflate, og bindingen fører til aktivering av immunresponsen, som igjen fører til frigjøring av cytokiner. 2) Cytokinene signaliserer at de CD4-positive cellene skal proliferere, og at B-celler skal proliferere og differensieres. 3) B-cellen differensieres til plasmaceller som produserer antistoff mot antigenet som er presentert på MHC klasse II (11).

2.2 Cellulær respons

En cellulær respons oppstår når et antigen presenteres via *major histocompatibility complex-I* (MHC klasse I) på en celle. MHC klasse I finnes i utgangspunktet på alle celler som har kjerne. MHC klasse I vil tiltrekke seg såkalte cytotoksiske T-celler. På samme måte som CD4-positive celler bindes til MHC klasse II, vil cytotoksiske T-celler bindes til MHC klasse I ved hjelp av to proteiner som finnes på cellens overflate. Det ene proteinet vil binde seg til det eksponerte antigenet, og det andre proteinet vil binde seg til selve komplekset. Proteinene som binder seg til komplekset kalles CD8, og cellene kalles derfor CD8 positive celler. Når CD8-positive celler bindes til MHC klasse I, vil cellen proliferere og dette kalles aktiveringsfase (Figur 3). Deretter frigjør cellene spesifikke cytotoksiske molekyler som induserer apoptose av fremtidige celler som er infisert med antigenet. Dette kalles effektorfase.



Figur 3: Figuren illustrerer en cellulær respons. 1) Det fremmede antigenet presenteres via MHC klasse I, og CD8-positive celler tiltrekkes. De CD8-positive cellene bindes til komplekset via to ulike proteiner som cellen normalt har på sin celleoverflate, og immunresponsen aktiveres. De CD8-positive cellene prolifererer. 2) De CD8-positive cellene produserer cytotoksiske molekyler som går til angrep og induserer apoptose på infiserte celler (11).

2.3 Vaksineutvikling

Vaksiner gis årlig til millioner av barn, unge og voksne, og det er viktig at de er demonstrert for å være trygge og effektive før de godkjennes. Ettersom vaksiner settes på friske mennesker, er terskelen lav for bivirkninger, og den skal være tilnærmet risikofri. Vaksiner, som alle andre legemidler, gjennomgår derfor omfattende testing før godkjenning. Utviklingen av vaksiner tar i gjennomsnitt 10 til 15 år, og er en lang og komplisert prosess som krever mange steg (12).

Utviklingen av en vaksine deles inn i ulike faser, og alle vaksiner som godkjennes har vært gjennom alle fasene. Kort beskrevet må vaksinen gjennom grunnleggende forskning, preklinisk utvikling, klinisk utvikling, samt test og godkjenning. I tillegg består den kliniske utviklingen av tre faser med ulikt antall testpersoner. De fleste vaksiner som lages vil ikke utvikle seg utover i pre-klinisk eller tidlig klinisk fase. Faktisk vil færre enn 10% av legemidler eller vaksiner som går inn i kliniske studier, utvikles til å bli tilgjengelige for menneskelig bruk. Dersom vaksinen har kommet seg gjennom alle fasene, vil Europeisk Legemiddelkontor (EMA) vurdere om vaksinen er trygg og at nytten er større enn risikoen, og først da kan vaksinen godkjennes. Etter endt godkjenningsfase vil fortsatt data om virkning og bivirkninger dokumenteres for å kartlegge hvordan vaksinen fungerer i samfunnet. For at en vaksine skal bli tatt i bruk i Norge, vil Legemiddelverket, Folkehelseinstituttet og Helse- og Omsorgsdepartementet involveres i avgjørelsen (13, 14).

I sammenheng med den pågående SARS-CoV-2-pandemien, er det relevant å påpeke at det finnes godkjenningemetode som heter “fast-track”. Dette er en evalueringsprosess som benyttes ved alvorlige og akutte situasjoner som for eksempel ved en epidemi eller pandemi. Formålet med den effektiviserte prosessen er å kunne godkjenne en vaksine eller et legemiddel raskere enn normalt, men med samme krav til sikkerhet og dokumentasjon av vaksinens funksjonalitet eller bivirkninger. En vaksine som skal “fast-track”-godkjennes må gjennom de samme fasene som en standard vaksine, men forskjellen er at disse fasene blir kortet ned, samt flere ressurser blir bundet til utvikling og testing, slik at den totale tidsbruken kan minimeres fra rundt ti år og ned til omlag ett år (12). I tabell 1 fremstilles den normale vaksine-godkjenningssprosessen, sammenlignet med “fast-track”-godkjenning, og hva som skjer i de ulike fasene.

Tabell 1: Vaksinegodkjenningssprosess. Tabellen under gir en oversikt over fasene til en vaksinegodkjenningssprosess der normal tidsbruk og «fast track» sammenlignes. Det er en oversikt over hvor lang tid fasene tar, hvor mange testpersoner som er involvert i de kliniske fasene, og hva fasene består av (12, 14, 15).

		Normal vaksinegodkjenningssprosessen	Fast-track-godkjenning
Grunnleggende forskning Forskning på molekylært nivå på laboratorier.		Varighet på 2-5 år.	Et par måneder.
Preklinisk fase Begynner testing på dyr for å evaluere sikkerhet og egnethet.		Varighet opp mot 2 år.	Et par måneder eller droppes helt.
Klinisk fase	Klinisk fase I Denne fasen fokuserer på sikkerhet og dosering.	Varighet på 2 år. Innebærer en testgruppe på 10-50 friske personer.	3 måneder. Innebærer en testgruppe på få personer, gjerne under 100.

	Klinisk fase II Denne fasen fokuserer på å forstå immunresponsen, samt trygghet og estimere dosering.	Varighet på 2-3 år. Innebærer en testgruppe på et tretalls antall mennesker, inklusiv en placebogruppe for kontroll. Testgruppen skal inkludere mennesker med ulik helsetilstand, alder, kjønn	Klinisk fase II og III slås sammen og bruker til sammen ca 8 måneder. Innebærer en testgruppe på så mange som mulig, inklusiv en placebogruppe.
	Klinisk fase III Denne fasen fokuserer på å evaluere om vaksinen gir beskyttelse mot sykdommen og samler informasjon om bivirkninger.	Varighet på 5-10 år. Innebærer tusenvis av frivillige testpersoner inklusiv en placebogruppe for kontroll.	
Test og godkjenning Blir vaksinen evaluert som trygg og effektiv kan den bli godkjent.	Varighet opp mot 2 år. Innebærer presentasjon av innsamlet data gjennom studietiden for å presentere vaksinens effektivitet og sikkerhet.	3 måneder.	

2.4 «Cold chain»

I utviklingen av en vaksine blir faktorene som immunrespons, trygghet av produkt og estimering av dosering for å få ønskelig immunrespons, prioritert før vaksinen kan godkjennes. Det finnes likevel mange andre faktorer som er relevant for å få en så brukervennlig vaksine som mulig, og en vaksine vil derfor alltid være under utvikling. En av faktorene som blant annet er relevant under en eventuell pandemi, er termostabiliteten til vaksinen. En vaksine er et biologisk produkt og krever derfor oppbevaring i en spesifikk temperatur for at ikke de aktive ingrediensene skal degraderes og bli mindre effektive. Alle produsenter som utvikler vaksiner tester produktet deres i varierende temperaturer for å detektere termostabiliteten, og dokumenterer dette i etterkant for å forsvare deres valg av lagringstemperatur. Etter at en vaksine har blitt produsert, må den bli transportert dit den behøves. Ved en pandemi må en vaksine kunne bli fraktet til alle verdens land, og vaksinen er derfor avhengig av å kunne

oppbevares i en temperatur som er overkommelig under frakting. En «cold chain» er et globalt nettverk av kalde rom, fryseri, kjøleskap og kalde bokser for å opprettholde den nødvendige temperaturen til vaksinen. For å kunne lagre vaksinen i alle verdensdeler, er det fordelaktig å ha en lagringstemperatur som tilfredsstillende alle områders kapasitet (16).

2.5 Vaksineteknologier

De vektorbaserte vaksiner deles inn i fire kategorier; vaksiner av inaktiverede/drepte mikrober, vaksiner av levende og attenuerte mikrober, toksoid vaksiner og subenhetsvaksiner. I utviklingen av vaksiner som benytter inaktiverede eller drepte mikrober, behandles mikrobene med kjemikalier eller gammastråling slik at de mister sine virulensegenskaper, og kan dermed ikke skape sykdom hos verten. Mikroben som skal brukes dyrkes først i cellekulturer for å kvantiteres, for deretter å inaktiveres eller drepes. Denne formen for vaksiner gir korte beskyttelsesperioder, og det trengs derfor ofte flere doser for å oppnå langvarig effekt. Denne vaksineteknologien stimulerer en humoral respons, og et eksempel på en vaksine som benytter denne teknologien er tyfoidvaksinen mot tyfoidfeber (5).

Vaksiner som benytter levende, attenuerte mikrober, inneholder virus eller bakterier som har gjennomgått seriell passasje. Dette innebærer at mikroben har blitt langvarig dyrket i forskjellige kulturer, som fører til at mikroben svekkes. Dyrkingen kan foregå i flere år. Vaksiner som bruker levende, attenuerte mikrober gir en sterk og langvarig immunrespons, og stimulerer både humoral og cellulær respons. Et eksempel på bruk av denne vaksineteknologien er BCG-vaksinen mot tuberkulose (5).

Toksoide vaksiner bruker inaktiverede bakterielle toksiner. Disse inaktiverede toksinene har ingen mulighet til å skape sykdom hos verten og har god sikkerhetsprofil. Vaksiner med toksoide vaksiner fører til aktivering av humoral respons. Produksjonen av antistoff er relativt svak, og det trengs dermed flere doser for å få optimal beskyttelse. Et eksempel på en vaksine som benytter denne teknologien er tetanusvaksinen mot stivkrampe (5, 17).

Subenhetsvaksiner er vaksiner som bruker en del av et antigenisk protein fra en mikrobe. Eksempler på dette kan være mikrobens flagelle eller kapsel, og disse delene velges basert på at de skaper en immunrespons hos verten. Subenhetsvaksiner skaper en relativt svak

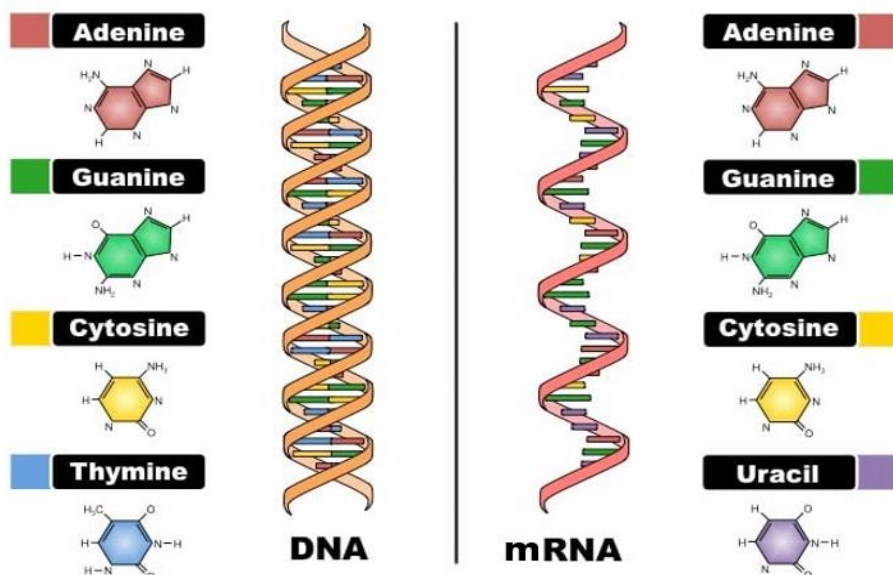
immunrespons, og det trengs dermed påfyllsdoser for å oppnå ønskelig beskyttelse. Et eksempel på en vaksine som bruker denne teknologien er Hib-vaksinen mot Hib-sykdom (5).

I tillegg til virkestoffet i en vaksine, vil de fleste vaksiner også inneholde ett eller flere stoffer som fungerer som adjuvans. Adjuvans er et hjelpemiddel som brukes for å fremheve virkningen til et annet stoff. Adjuvansen vil altså øke vaksinens evne til å gi mottakeren et sterkt og langvarig immunforsvar. Det mest brukte adjuvantia i de vektorbaserte vaksinene, er ulike aluminiumsalter, som bidrar til å stimulere immunforsvaret og øker både styrke og varighet av den spesifikke immunresponsen. Ved bruk av adjuvans kan vaksiner ofte gis i færre doser (18).

2.6 Genetiske vaksiner

Selv om genetiske vaksiner er en nokså ukjent vaksineteknologi til bruk på mennesker, er vitenskapen bak vaksinene utviklet og forsket på helt siden slutten av 1980-tallet. Man visste allerede på starten av 1990-tallet at injeksjon med nakent DNA (plasmid-DNA) eller nakent mRNA direkte i muskler kunne fremkalle humorale og cellulære immunresponser til en rekke patogener i små dyremodeller. Til tross for kunnskapen man hadde om injeksjonseffekten av både DNA og mRNA, ble det imidlertid kun gitt oppmerksomhet til utvikling og bruk av plasmid-DNA i vaksiner i forskningen fremover. Den manglende interessen for videre forskning på mRNA til vaksiner i over et tiår skyldtes angivelig mRNA sin ustabilitet (5, 19, 20).

Prinsippet bak en genetisk vaksine handler om å utnytte menneskets evne til å produsere proteiner, basert på å tilføre kroppen en gensekvens i form av enten DNA eller mRNA (figur 4). Når et virus oppdages, blir det sekvensert. Sekvensering betyr at den genetiske koden blir oversatt til en digital sekvens, og når virussekvensen er kjent kan genene enkelt reproduseres på laboratoriet. Ved å tilføre kroppen gensekvenser som koder for virusets virulens, kan celler i kroppen oversette sekvensen til antigen-proteiner *in vivo* som vil føre til en immunrespons (20, 21).

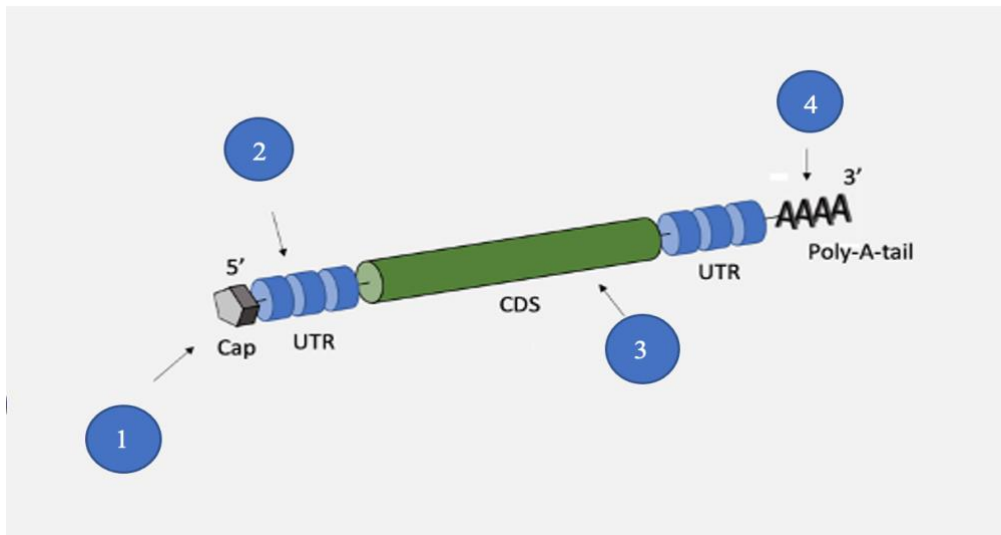


Figur 4: Figuren illustrer strukturen til DNA og strukturen til mRNA (22).

Ettersom de eneste lisensierte DNA- og mRNA-vaksinene til mennesker per dags dato er til bruk mot SARS-CoV-2, blir det tatt utgangspunkt i fremstillingen av vaksinene mot dette viruset. Prinsippet vil likevel være det samme uavhengig av hvilken mikrobe vaksinen lages mot.

2.7 mRNA-vaksiner

Virkestoffet i en mRNA-vaksine er – som navnet indikerer – mRNA. mRNA er molekyler som finnes i alle celler i alle organismer. mRNA-et som brukes i en vaksine er et templat for å produsere antigener som er viktige for virusets virulens. Det mest aktuelle proteinet i sammenheng med SARS-CoV-2, er Spike (S)-proteinet som finnes på SARS-CoV-2 sin celleoverflate. Dagens lisensierte mRNA-vaksiner inneholder altså en gensekvens som koder for S-proteinet. mRNA-et i vaksinene fremstilles ved *in vitro*-transkripsjon med utgangspunkt i en DNA-mal som inneholder sekvensen som koder for det ønskelige proteinet. Det er enkelte grunnleggende strukturelle elementer av mRNA som kreves for å holde mRNA-et funksjonelt og disse er presentert i figur 5. Å holde mRNA-strukturen intakt er gunstig for mRNA-stabilitet og uttrykksevne (8, 9, 20, 21, 23, 24).



Figur 5: Figuren illustrerer virkestoffet som brukes i en mRNA-vaksine, med strukturelle elementer som kreves for at molekylet skal holdes stabilt. 1) Potensialet av en 5'-hette beskytter mot degradering og påvirker begynnelsen til proteinproduksjonen. 2) Ikke-transkribert region (UTR) er viktig i regulering av genuttrykk og transport av mRNA-et. Effektiviteten avhenger av lengde og struktur. 3) Kodende sekvens (CDS) er den delen med selve gensekvensen som koder for virusets virulens. 4) Poly-A-halen er også viktig for oversettelsen og beskyttelse av mRNA-molekylet (25).

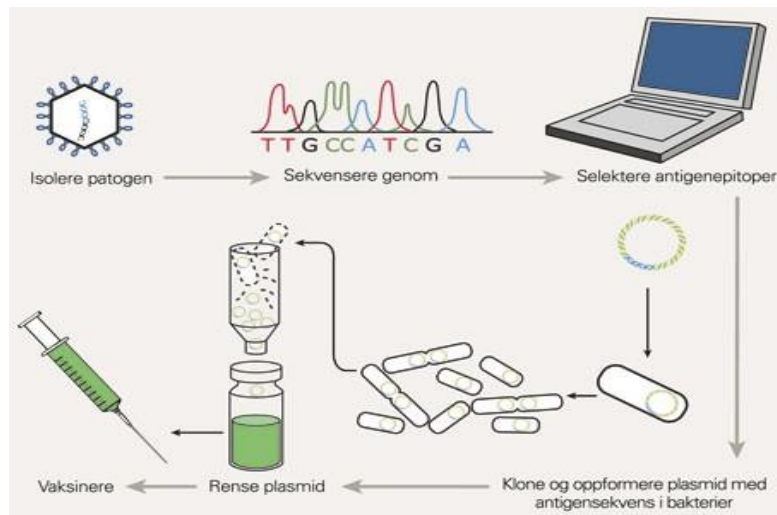
mRNA-molekyler er ustabile i de fleste miljøer. Mekanismer som bryter ned mRNA finnes nesten over alt, også i kroppen. Etersom mRNA er svært ustabil og molekylet er utsatt for nedbrytning, er effektiv beskyttelse, i tillegg til de strukturelle elementene, derfor nødvendig. For å fungere som en vaksine må mRNA-et pakkes inn i en bærer for ikke å bli brutt ned. mRNA-et isoleres og bevares derfor i en lipid nanopartikkel (LNP) som er en tom celle bygget opp med et dobbelt lag av fosfolipider. I tillegg til å holde mRNA stabilt, fungerer også LNP som en adjuvans for mRNA-et ved å hjelpe molekylet inn i cellene. Siden mRNA er relativt ustabil, vil molekylet bli brutt ned ganske raskt etter at det har utført formålet sitt i cellene (4, 9, 24).

mRNA-vaksinene som er godkjent for menneskelig bruk i dag, injiseres intramuskulært. Når vaksinen settes, vil nanopartikkelen med mRNA-et støte på kroppens egne celler. Vaksinepartiklene blir endocyttert av nærliggende celler, og mRNA-et blir sluppet løs i cellens cytoplasma. mRNA-et vil deretter bruke cellens egne ribosomer for translasjon. Ribosomene leser da av koden som mRNA-et inneholder og oversetter dette til antigen-proteiner som blir eksponert på cellens overflate via MHC klasse I og MHC klasse II. Den beskyttende virkningen av mRNA-vaksinen skyldes både en cellulær respons og en humoral respons (4, 8, 9).

2.8 DNA-vaksiner

DNA er organismes genom og inneholder mange sekvenser som koder for ulike proteiner. En sekvens, i sammenheng med DNA, betyr en gitt kombinasjon av nukleotider hvor sammensetningen vil være spesifikk for et gitt protein. Det er de proteinspesifikke sekvensene som utnyttes når man skal utvikle en DNA-vaksine. Vaksinasjon med DNA-vaksine involverer direkte injisering av et plasmid som inneholder DNA-sekvensen som koder for antigenet det er ønskelig med en immunrespons mot (19, 26).

DNA-vaksiner utvikles via rekombinant DNA-teknikk. Virkestoffet i DNA-vaksinen består av et plasmid, ofte anskaffet fra *E.coli*, som inneholder den foretrukne gensekvensen. Det er også blitt utviklet plasmider som er semi-syntetiske eller full-syntetiske. I plasmidet tilsettes en genkassett, og denne inneholder en promotor, et eller flere transgen, og en poly-A-hale. En promotor er området på et DNA-molekyl der enzymet RNA-polymerase festes for å igangsette transkripsjon. En ofte brukt promotor avledes fra cytomegaloviruset (CMV), ettersom denne har vist seg å være en av de sterkeste promotorene basert på høye transkripsjonsnivåer. Gensekvensen som er av interesse kalles transgen. Disse gensekvensene koder for det ønskelige antigenet som skal skape en immunrespons hos verten, eksempelvis S-proteinet til SARS-CoV-2. Det tilsettes også en poly-A hale som bidrar til stabilitet og eksport av molekylet som produseres etter transkripsjon. En poly-A hale består av en lang rekke av nukleotidet adenin, og det blir ofte brukt poly-A haler som er anskaffet fra bovint veksthormon eller kanin beta-globin (5, 21).



Figur 6: Figuren illustrerer prosessen av å lage en DNA-vaksine. Første steget er å isolere mikroben man vil skape beskyttelse mot, og sekvensere genomet. Videre selekteres sekvenser for antigener som settes inn i et plasmid. Deretter oppformes plasmidene i bakteriekulturer, for så å renses slik at de er klare til bruk i en vaksine (27).

På samme måte som mRNA-vaksinene, vil DNA-vaksinene også injiseres intramuskulært. Når vaksinen blir injisert vil nærliggende celler bli transfekterte, og DNA-et migrerer videre inn i cellens kjerne. I nukleus vil DNA-et bli transkribert til mRNA av cellens enzymer, og mRNA-et vil deretter vandre ut igjen av cellekjernen til cellens cytosol. I cytosol vil mRNA-et bli translateret til proteiner ved hjelp av ribosomene som befinner seg i cytoplasmaet, og antigenproteinene vil bli eksponert på cellens overflate via MHC klasse I og MHC klasse II. Antigenekspresjonen vil generere både en humoral respons og cellulær respons (19).

3. Metode

I dette kapittelet blir det beskrevet hvordan det er funnet frem til litteraturen som er brukt i oppgaven. Det blir forklart hvilke krav som ble stilt og hvorfor, samt hvilke databaser som ble benyttet for å finne vitenskapelige artikler. Det har blitt anvendt et systematisk litteratursøk som metode.

For å velge vitenskapelige artikler ble det tatt utgangspunkt i problemstillingen og temaene vaksineteknologi og vaksineutvikling sett i lys av den pågående SARS-CoV-2 pandemien. Nettsidene som ble brukt for å finne frem til artiklene var National Center for Biotechnology Information (NCBI) i PubMed-databasen, og Proquest på Biological Science Collection-databasen. Det ble benyttet en kombinasjon av ulike søkeord i databasene. Kombinasjonen av søkeord bestod av: “vaccine technology”, “DNA”, “mRNA”, “vaccine”, “mRNA-vaccine”, “DNA-vaccine” og “SARS-CoV-2”. Det ble benyttet samme kombinasjon av søkeord i begge databasene for å få så tilsvarende artikler som mulig. For å finne relevante artikler for oppgaven, ble det stilt krav om at minst ett av søkeordene skulle finnes i overskriften på artikkelen. For å sørge for at artiklene inneholdt informasjon som stemte overens med aktuell forskning, var det ønskelig at de var publisert i løpet av de siste ti årene. Dersom det ble valgt artikler eldre enn ti år, ble det kontrollert at innholdet stemte overens med dagsaktuell forskning innen emnet. I tillegg ble det stilt krav om at artiklene skulle være fagfelleurdert. Under søket ble det lagt merke til publiseringsstedet og hvem litteraturen retter seg mot. Artikler med ufullstendig og/eller mangelfull data, samt nettsider med et tydelig markedsbudskap ble ekskludert fra søket. Temaet i oppgaven har vært et stort fokus i ulike nettaviser og tidsskrifter den siste tiden, men disse ble også ekskludert. Artiklene som ble inkludert inneholdt demografiske, kliniske, laboratorie- og bildefunksjoner av teknologien bak ulike vaksiner, vaksineutvikling og vaksineprinsipp.

Det ble benyttet primærlitteratur så langt det lot seg gjøre, slik at man unngår at litteraturen er bearbeidet av andre forfattere. Under søket ble det valgt forsknings- og review artikler fra blant annet USA, England, Sveits og Tyskland. Nevnte land er velutviklede innenfor laboratiefaget, og metodene de bruker kan derfor sammenlignes med de som brukes i Norge. I oppgaven ble det også brukt fagartikler fra internett. Fagartiklene ble ikke søkt opp på samme måte, men det ble brukt nøkkelord på offentlige kilder som Store Medisinske Leksikon, Norges

Helseinformatikk og Folkehelseinstituttet. Nøkkelordene som ble brukt var for eksempel «DNA-vaksine/mRNA-vaksine» eller «vaksiner». Kildene som ble funnet her ble brukt for å danne et oversiktsbilde over temaet og supplere de vitenskapelige artiklene, samt å sammenligne informasjonen den generelle befolkningen får med de vitenskapelige artiklene.

4. Resultat

I dette kapittelet blir resultatene fra litteratursøket presentert, og hvorfor akkurat disse artiklene var relevant for å svare på oppgaven. De utvalgte artiklene utgjør grunnlaget for diskusjonen og er spesielt relevante for å kunne besvare problemstillingen.

Tabell 2: Resultat. Tabellen under viser til de utvalgte vitenskapelige artiklene. Tallet i parentes i første kolonne angir hvilket nummer artikkelen har i referanselisten.

Nr.	Tittel	Forfattere	Publisert	Relevans
1 (4)	Development of mRNA vaccines and their prophylactic and therapeutic applications	Kyuri Lee, Minjeong Kim, Yunmi Seo, Hyukjin Lee	<i>Nano Research</i> Hentet fra Proquest	Artikkelen belyser blant annet mRNA-vaksiner sin rolle for profylaktisk bruk mot sykdommer.
2 (5)	DNA vaccine: the miniature miracle	Karthik Kumaragurubaran, Karathik Kaliaperumal	<i>Veterinary World</i> Hentet fra Proquest	Artikkelen beskriver grundig DNA-vaksinen sin oppbygning og virkemåte.
3 (8)	mRNA Vaccine Era—Mechanisms, Drug Platform and Clinical Prospection	Shuquin Xu, Kunpeng Yang, Rose Li, Lu Zhang	<i>International Journal of Molecular Sciences</i> Hentet fra Proquest	Artikkelen beskriver grundig mRNA-vaksinen sin oppbygning og virkemåte, samt bruk av mRNA-vaksiner i fremtiden.

4 (9)	Development of mRNA Vaccine: Scientific and Regulatory Issues	Ivana Knezevic, Margaret A. Liu, Keith Peden, Tiequn Zhou, Hye-Na Kang	<i>Vaccines; Basel</i> Hentet fra Proquest	Artikkelen tar for seg vaksineteknologien til mRNA-vaksiner, der den blir diskutert og vurdert.
5 (13)	Development of vaccines for SARS-CoV-2	Ng Wern Hann, Xiang Liu, Mahalingman Suresh	<i>F1000 Research</i> Hentet fra Proquest	Artikkelen opplyser om vaksineteknologier som var under utvikling i begynnelsen av utbruddet til SARS-CoV-2.
6 (15)	The clinical development process for a novel preventive vaccine: An overview	Kavita Singh, S Mehta	<i>Journal of postgraduate medicine</i> Hentet fra NCBI	Artikkelen gir en oversikt over den generelle utviklingen av en vaksine basert på retningslinjer fra WHO, EMA og USFDA.
7 (19)	DNA vaccines: developing new strategies to enhance immune responses	David B. Weiner, Shaheed Abdulhaqq	<i>Springer Nature B.V.</i> Hentet fra Proquest	Forskningsartikkelen tar for seg den grunnleggende biologien for å utvikle profylaktiske DNA-vaksiner.

8 (20)	A Comparison of Plasmid DNA and mRNA as Vaccine Technologies	Margaret A. Liu	<i>Vaccines; Basel</i> Hentet fra NCBI	I denne artikkelen blir teknologien bak DNA- og mRNA-vaksiner sammenlignet.
9 (21)	New Vaccine Technologies to Combat Outbreak Situations	Susanne Rauch, Edith Jasny, Kim E. Schmidt, Benjamin Petsch	<i>Frontiers in immunology</i> Hentet fra NCBI	Artikkelen diskuterer ulike vaksineteknologier som kan være egnet til bruk i en pandemi.
10 (24)	mRNA vaccines - a new era in vaccinology	Norbert Pardi, Michael J. Hogan, Frederick W. Porter, Drew Weissman	<i>HHS Public Access</i> Hentet fra NCBI	Review-artikkel som gir en detaljert oversikt over mRNA-vaksiner, samt diskuterer utfordringer ved vaksineplattformen.
11 (37)	Evolutionary and immunological implications of contemporary HIV-1 variation	Korber, B. Gaschen, B. Yusim, K. Thakallapally, R. Kesmir, C. Detours, V.	<i>British Medical Bulletin</i> Hentet fra NCBI	Inneholder relevant informasjon og refleksjon angående mutasjonsvariasjoner innenfor HIV-viruset.
12 (40)	Traditional and New Influenza Vaccines	Sook-San Wong, Richard J. Webby	<i>Clinical Microbiology Reviews</i> Hentet fra NCBI	Inneholder relevant informasjon og refleksjon angående temaet influensavaksiner.

5. Diskusjon

Drøyt et år har gått siden SARS-CoV-2-pandemien spredte seg globalt. SARS-Cov-2 var ikke kjent fra tidligere, og det var dermed liten eller ingen naturlig immunitet i menneskelige populasjoner. Uten adaptiv immunitet i befolkningen ble det et behov for å utvikle en ny vaksine så effektivt som mulig for å bekjempe pandemien. For første gang noensinne fikk de genetiske vaksinene, DNA-vaksiner og mRNA-vaksiner, lisens til menneskelig bruk, og utviklingen av disse vaksinene tok mindre enn et år (13). Genetiske vaksiner har det siste året oppnådd enorm oppmerksomhet for å kunne utligne noen av begrensningene til de vektorbaserte vaksinene. Til tross for en del likheter i teknologien bak de genetiske vaksinene, har de også en del ulikheter, og det finnes fordeler og ulemper ved begge teknologiene sammenlignet med de vektorbaserte vaksinene.

Den mest sentrale forskjellen i vaksineteknologien er selve virkestoffet i de genetiske vaksinene, hvor DNA-vaksinen består av et plasmid-DNA der virkestoffet er DNA, mens virkestoffet i mRNA-vaksinen er mRNA. Når man kjenner den genetiske sekvensen til det ønskelige antigenet, er det i utgangspunktet lett å fremstille både DNA og mRNA på laboratoriet. Dette fører til at det både er en rask og enkel prosess å utvikle virkestoffet i en genetisk vaksine, noe som er viktig om man står ovenfor en pandemi som krever en plattform for hurtig vaksineutvikling. I 2002 var det et utbrudd av et annet coronavirus, nemlig SARS-CoV. Da utbruddet av SARS-CoV oppstod, tok det nesten et år å identifisere den genetiske sammensetningen til viruset. I sammenligning tok det to uker å identifisere den genetiske sammensetningen til SARS-CoV-2. Utvikling av teknologien har dermed bidratt til rask sekvensering av nye virus, noe som følgelig er relevant i sammenheng med en ny oppstått pandemi (4, 20, 21). Til tross for at sekvenseringen er en relativt rask prosess, er det også andre bestanddeler i vaksinen som må lages. I DNA-vaksinen må det blant annet produseres et plasmid hvor de ønskede gensekvensene introduseres. Prosessen med bakteriell fermentering anses som relativt enkel, og DNA-et er såpass stabilt at rensingen er uproblematisk. Produksjonen av mRNA med *in vitro*-transkripsjon er således enda mer tiltalende da det ikke kreves amplifikasjon i bakterier eller cellekulturer. *In vitro*-transkripsjon er en kjemisk prosess uten cellulære komponenter som gjør det lettere å overvåke prosessen. Ulempen med mRNA er imidlertid at molekylet er mye mindre stabilt enn DNA, noe som gjør rensingen litt vanskeligere, og det kreves mer forsiktighet når det arbeides med på laboratoriet.

Kvalitetsegenskaper som dikterer stabilitet for mRNA er fortsatt et intenst utviklingsområde for å gjøre metoden enda mer tiltalende (4, 20, 21).

I tillegg til at selve virkestoffet i de genetiske vaksinene er ulike, er det også en åpenbar forskjell på levering av virkestoffet fra vaksinen til kroppen. mRNA-molekylet i mRNA-vaksinen behøver kun å krysse én membran etter injeksjon, i motsetning til DNA som skal inn i cellekjernen og må dermed krysse to membraner. mRNA-et utfører sin funksjon i cytoplasmaet, noe som eliminerer den potensielle risikoen for genomisk integrasjon som kan oppstå ved bruk av DNA-vaksiner. mRNA-molekylet blir endocytteret til cytoplasmaet og bindes deretter til ribosomet i cytoplasmaet for å lage flere kopier av det ønskelige antigen-proteinet. Denne forsterkningen gir en kvantitativ fordel per molekyl sammenlignet med å tilføre individuelle antigen-proteiner. Imidlertid motsies den kvantitative fordelten med at det antakeligvis bare er 1 av 10 000 mRNA-molekyler som vil unnsnippe endosomene i cytoplasmaet (20). Derfor må forsterkningen ved translasjon overvinne tapene ved nedbryting. Til tross for at DNA-vaksinen har en risiko med genomisk integrasjon, anses DNA som mer stabilt enn mRNA, noe som fører til at flere molekyler unnsnipper nedbryting. I tillegg vil hvert DNA-molekyl resultere i produksjon av flere mRNA-molekyler som igjen fører til større replikasjonskvantitet (20, 21).

Noe de genetiske vaksinene har til felles, er at de ikke inneholder mikroben man vil skape en immunrespons mot. Vektorbaserte vaksiner benytter bakterier eller virus i større eller mindre grad for å indusere en immunrespons. Ved bruk av enkelte vektorbaserte vaksiner forekommer det en potensiell fare for at mikroben kan bli virulent igjen *in vivo*. Dette er spesielt en risiko ved vaksinene som benytter levende, attenuerte mikrober (5, 19, 24). De genetiske vaksinene derimot, inneholder kun noe av det genetiske materialet til viruset man ønsker en immunrespons mot, og det er dermed ikke mulig å bli infisert med viruset fra vaksinen. Man kan derfor anse genetiske vaksiner som tryggere for menneskene som mottar dem, ettersom virkestoffet i vaksinene ikke har mulighet til å skape en patogen infeksjon forårsaket av virusets virulensfaktorer. Det samme gjelder imidlertid også subenhetsvaksiner, som kun inneholder en del av et antigenisk protein og kan dermed ikke skape en patogen infeksjon. Likevel vil produksjonen av subenhetsvaksiner, på lik linje med andre vektorbaserte vaksiner, innebære interaksjon med patogene mikrober på laboratoriet. Derfor kan genetiske vaksiner anses som en mer forsvarlig måte å produsere selve vaksinene på (19).

De genetiske vaksinene genererer både en humoral immunrespons og en cellulær immunrespons. Dette skiller seg fra de vektorbaserte vaksinene, da de kun hovedsakelig genererer en av immunresponsene (med unntak av levende, attenuerte mikrober). De genetiske vaksinene har likevel ikke alltid klart å aktivere immunsystemet vårt i stor nok grad til å danne immunologisk hukommelse. Tidlig i forskningen på genetiske vaksiner viste immunstyrken hos mennesker seg generelt skuffende til tross for at det hadde vært rapportert prekliniske studier som viste god effekt for en rekke sykdomsmodeller. Utfordringen har dermed vært å få like sterk immunrespons hos mennesker som hos mindre dyremodeller. En av grunnene til at de genetiske vaksinene ikke har klart å aktivere immunsystemet vårt i stor nok grad til å danne immunologisk hukommelse, skyldes at DNA-et eller mRNA-et blir degradert på veien inn i cellene. Det er derfor blitt forsket på en rekke tilnæringer som inkluderer ulike adjuvanser og immunstimulerende midler for å oppnå så god effekt som mulig. I dagens lisensierte DNA-vaksiner har det blant annet blitt tilført en vektor som adjuvans. DNA-et blir altså pakket inn i en virusbasert vektor som ikke er patogen for mennesker. Et eksempel på en mye brukt virusbasert vektor, er adenovirus. Fordelen med denne vektoren er at viruset skyter sitt genom inn i vertscellens kjerne, noe som er vesentlig for DNA-vaksinen. Eksempler på andre vektorer som også har vist seg å fungere, kan være adsorpsjon til polymerer, nedbrytbare nanopartikler eller lipid nanopartikler som brukes i mRNA-vaksinen (19, 21). Til tross for at disse tilnærmingene har vist seg svært effektive, trengs fortsatt en påfyllsdose for å danne optimal immunitet. Det samme gjelder ofte toksoide vaksiner, subenhetsvaksiner og vaksiner som bruker inaktiverte/drepte mikrober. Man ønsker i utgangspunktet å få en så sterk immunrespons som mulig når man vaksineres, slik at man opparbeider et motstandsdyktig immunforsvar mot sykdommen man vaksineres mot. Vaksiner som bruker levende, attenuerte mikrober, skaper sterk og stabil immunrespons. Det kreves ingen påfyllsdoser og man er langvarig beskyttet etter vaksineringen.

En god leveringsvei er også viktig for å få en så vellykket vaksineeffekt som mulig. Vaksiner settes ulikt for å oppnå den immunresponsen som er ønskelig. De vanligste metodene for å sette de vektorbaserte vaksinene er intramuskulære injeksjoner, subkutane injeksjoner og intrakutane injeksjoner. Dagens godkjente genetiske vaksiner settes også intramuskulært, ettersom denne leveringsmetoden gir størst immunrespons i forhold til de leveringsmetodene som ble nevnt. Likevel har det vist seg at for å få den aller beste immunresponsen med en genetisk vaksine, bør leveringsanordninger som genpistol eller elektroporering vurderes. Begge metodene gir en

sterk immunrespons via huden. Fordelen med vaksinerings via hud er at huden er lett tilgjengelig og inneholder en stor mengde APC. Ulempen er at det kan være en vondere metode for den som vaksineres og det kreves spesial-opplært helsepersonell som er familiær med metoden. Dette er fortsatt et stort forskningsområde, og det vil trolig bli publisert mye forskning fremover om nye leveringsanordninger av vaksiner for å oppnå sterk immunrespons (5, 20, 28).

For å sikre optimal effekt av vaksiner, må lagring og håndtering følges nøye. Kunnskap om vaksinsens stabilitet, spesielt hastigheten på nedbryting ved en gitt temperatur, er nyttig for å bestemme lagringskravene. Dette er en av de største utfordringene til mRNA-vaksinen. I motsetning til DNA-vaksinen som er stabil og relativt upåvirket av temperatur, er mRNA-vaksinen mer ustabil og blir lett påvirket av temperaturen. I tabell 3 blir tre godkjente genetiske vaksiner presentert, og man kan se at lagringsforskjellene viker med om lag 60 grader mellom mRNA-vaksinen fra Pfizer og DNA-vaksinen fra AstraZeneca. Behovet for å oppbevare mRNA-vaksinen såpass kaldt for at den ikke skal bli ineffektiv, krever at vaksinen må lagres og fraktes via en «cold chain». Nødvendigheten for en «cold chain» er en utfordring for både utviklere og brukere, da det kan være vanskelig å tilfredsstille de lave temperaturene som kreves – da spesielt i utviklingsland der det ikke er tilstrekkelig med elektrisitet. En optimal lagringstemperatur ligger på mellom 2-8 grader, noe både DNA-vaksinen og andre vektorbaserte vaksiner oppfyller (9, 19, 20). Det er likevel verdt å merke seg at de godkjente genetiske vaksiner ble utviklet i sammenheng med en nyoppstått pandemi, og det er derfor mulig at vaksineutviklerne ikke prioriterte å vektlegge lagringstemperaturene da behovet for en vaksine var såpass akutt.

Tabell 3: Lagringstemperatur av vaksiner. Tabellen under gir en oversikt over lagringstemperaturen til godkjente genetiske vaksiner, og hvilken vaksineteknologi disse har (29-31).

Navn på vaksine	Vaksineteknologi	Lagringstemperatur
<i>Moderna</i>	mRNA-vaksine	-25 til -15°C
<i>Pfizer/BioNtech</i>	mRNA-vaksine	-80 til -60°C
<i>AstraZeneca/Oxford</i>	DNA-vaksine	2-8°C

Det forskes stadig på å gjøre mRNA mer stabilt, noe som fører til at vaksinen blir lettere å lagre og håndtere. I tabell 3, kan man se at Moderna har utviklet en metode som gjør mRNA-et mer stabilt, og kan dermed fraktes på høyere temperaturer enn Pfizer. Til tross for at lagringstemperaturen til Moderna fortsatt ikke er helt optimal, gir det et bilde på at vaksineutviklere er på riktig vei. Ved å for eksempel lyofilisere mRNA-vaksinen, vil det genetiske materialet opprettholde sin biologiske funksjon, og vaksinen kan fraktes frysetørket. Det har blitt rapportert om forsøk gjort med frysetørket mRNA i varierende temperaturer, eksempelvis i fase I av den mRNA-baserte rabiesvirusvaksinen CV201 der temperaturer ble variert mellom 5-25° C uten åpenbart tap av aktivitet. Det er også mulig at vesikkelen som brukes kan bidra til stabilitet ved temperaturendring. I 2019 ble det utviklet en poly(laktatsyre)-nanopartikelbasert mRNA-vaksine som viste stabil aktivitet etter lagring ved 4° C i opptil 7 dager (8, 28).

Som nevnt tidligere er den enkle og raske produksjonen av de genetiske vaksinene en stor fordel i henhold til rask vaksineutvikling. Det er likevel nødvendig å forstå at den nedkortede tidsbruken for utvikling av de nye vaksine-teknologiene ikke bare skyldes at selve produksjonen var raskere, men også at de ble utviklet via en “fast-track”-metode. “Fast-track” er som beskrevet i teorien en evalueringsprosess som benyttes ved alvorlige og akutte situasjoner som for eksempel ved en epidemi eller pandemi. Vaksiner som skal “fast-track”-godkjennes må gjennom den samme vaksine-godkjenningssprosessen, men de ulike fasene blir kortet ned slik at den totale tidsbruken kan minimeres. Ved å sammenligne normal vaksineutvikling med “fast-track” som i tabell 1, kan man se hvordan de ulike stegene kraftig kortes ned.

En fordel med en slik godkjenningssprosess for akutte og alvorlige situasjoner, er at det går raskere å utvikle det ønskelige legemiddelet. Dette gjør at man forttere kan få kontroll over en gitt situasjon, og befolkningen får raskere den helsehjelpen som trengs. En slik prosess er spesielt viktig ved en pandemi der rask vaksineutvikling er en hovedprioritet i bekjempelse av utbruddet. Ulempen med “fast-track” er imidlertid at man ikke har like god oversikt over langtidsvirkningene, da disse ikke blir dokumentert i like stor grad, og det gjøres en løpende vurdering av ny data under vaksineringsen (12, 13). Et godt eksempel på dette, var da svineinfluensavaksinen Pandemrix ble godkjent i 2009 via “fast-track”. Basert på kunnskapen man hadde på godkjenningstidspunktet til vaksinen, var Pandemrix ansett som trygg da den var basert på en teknologi som allerede var eksisterende for sesonginfluensavaksiner. I løpet av

vaksinasjonsperioden som varte mellom oktober 2009 til mars 2010 ble det ikke oppdaget alvorlige bivirkninger som endret bruken av vaksinen. Likevel kom det sommeren 2010, etter at vaksineringsen hadde stoppet, de første mistankene om økt antall tilfeller av narkolepsi i sammenheng med vaksineringsen. Sjeldne bivirkninger er vanskelig å oppdage, og med “fast-track” vil de være enda vanskeligere, da det er en kortere utprøvningsperiode. Som følge av oppdagelsen ble det gjort grundige studier for å kartlegge forekomsten av sjeldne sykdommer og symptomer i ulike aldersgrupper rundt vaksineringsen. Dette har vært til stor hjelp for å vurdere mulige årsakssammenhenger mellom vaksineringsen og bivirkninger i fremtidig vaksineutvikling. Det er imidlertid viktig å merke seg at nytte og risiko av vaksinen alltid vurderes opp mot risikoen for alvorlig sykdom og død, og det vil alltid finnes en risiko for bivirkninger i utvikling av vaksiner og legemidler (32).

I tabell 1 kan man se at når en vaksine utvikles, blir vaksinen testet på to ulike testgrupper, der den ene gruppen vil få vaksinen, mens den andre gruppen får en placebo-vaksine. Grunnen til at en vaksine også testes på en placebo-gruppe er for å finne vaksinens effektivitet. Effektiviteten oppgis prosentvis, og skal i utgangspunktet si noe om vaksinens evne til å forebygge en spesifikk sykdom. For eksempel kan man ta utgangspunkt i SARS-CoV-2-vaksinene, der Pfizer-vaksinen er 95% effektiv og Johnson&Johnson-vaksinen (DNA-vaksine mot SARS-CoV-2) har en effektivitet på rundt 60% (33, 34). Likevel er det svært viktig å kjenne til at disse prosentandelene ikke er sammenlignbare. Når begge testgruppene har fått den vaksinen de skal ha (den utviklede vaksinen eller placebo-vaksine), ser man på hvor mange som blir smittet i hver gruppe for å kunne regne ut effektiviteten. Dersom alle som får placebovaksinen blir smittet, men ingen som får den utviklede vaksinen blir smittet, vil vaksinen ha en effektivitet på 100%. Dersom det er like mange som blir smittet i begge gruppene, vil effektiviteten være på 0%. Med andre ord vil vaksinen være mer effektiv, jo færre som blir smittet i den «ordentlig» vaksinerte gruppen. Når vaksiner utvikles, er det mange faktorer som bidrar til vaksinens effektivitet. For eksempel ble Pfizer-vaksinen utviklet i USA på en populasjon tidlig under SARS-CoV-2-pandemien, da det var lite smitte og lite mutasjoner i befolkningen. Det ble altså få smittet under testperioden, og effektiviteten ble svært høy. Johnson&Johnson- vaksinen derimot, ble studert senere i Sør-Afrika da det var mange flere smittede, og store mutasjonsendringer. Det er med andre ord ikke basis for å sammenligne effektiviteten til disse vaksinene, dette grunnet store demografiske forskjeller og utbredelse av

mutasjoner. Dette problemet oppstår gjerne hyppigere når en vaksineutvikling vurderes via «fast-track» der det er færre testpersoner og kortere kliniske faser (35, 36).

Metoden for å utvikle en vaksine ved å bruke en gensekvens som koder for en karakteristisk del av mikroben, har vist seg å være lovende. Etter at det har blitt utviklet genetiske vaksiner mot SARS-CoV-2 har forskere fått øynene opp for å utvikle vaksiner mot andre sykdommer som man tidligere ikke har lyktes i å lage en vaksine mot. Vektorbaserte vaksiner har vist seg å ikke være tilstrekkelige mot tilbakevendende patogene infeksjoner med lang sykdomsvarighet som for eksempel AIDS som er forårsaket av Humant Immunsviktvirus, HIV (8). En av grunnene til det, skyldes sykdommens genetiske mangfold som har oppstått på grunn av virusets konstante muteringer. Det har vist seg at det kan være sekvensforskjeller på opp mot 35% i antigenet (19). For å illustrere denne store variasjonen, kan man sammenligne variabiliteten for HIV med influensa-viruset. I en studie om nettopp dette fra 2001, fant noen forskere fra Storbritannia ut at sekvensforskjellen av HIV i én HIV-positiv pasient, var på samme nivå som hele den globale variasjonen for influensavirus. Ved å benytte den nye vaksineteknologien, kan man utvikle en vaksine som utløser en kryssaktivitet, som kan bidra til å løse tidligere utfordringer ved å utvikle vaksiner mot HIV eller andre lignende sykdommer. Ved å velge de vanligste aminosyrene i flere ulike stammer, kan man utvikle en genetisk vaksine som vil fremkalle en kryssreaktiv cellulær immunitet og muligens også flere kryssaktive humorale responser (21, 37).

I motsetning til HIV, har forskere klart å utvikle en vaksine mot influensaviruset, til tross for at også dette viruset stadig muterer. Basert på de sesongbaserte mutasjonene til influensa-viruset fører dette til at vaksinen mot viruset må tas på nytt hvert år, og den vil ha en effekt på gjennomsnittlige 60%. Influensavaksinen er en subenhetsvaksine som inneholder deler av drepte influensavirus med et utvalg av tre til fire influensavirus (38). Vaksinen inneholder flere influensavirus (derav influensa A og influensa B varianter), avhengig av hvilke virus som mest sannsynlig vil sirkulere under den gitte sesongen. Verdens helseorganisasjon (WHO) har et nettverk av nasjonale influensasentre som overvåker og rapporterer endringer om de sirkulerende influensavirusene, slik at det kan vurderes om en eller flere komponenter i vaksinen må byttes ut for å sikre best overensstemmelse (39). De sesongbaserte influensavaksinene som skapes hvert år har en gjennomsnittlig effekt på 60%, noe som tilsier at effektiviteten kan både være høyere eller lavere enn dette estimatet. Et år kan

vaksineutviklerene ha truffet ganske godt med sammensetningen, mens et annet år kan en “mismatch” forekomme. For å unngå en sesong med “mismatch” ville det vært lettere å vaksinere med en universell vaksine for influensavirusene. I denne sammenhengen kan de genetiske vaksinene vurderes basert på deres allsidighet. Det er eksempelvis mulig å bruke essensielle aminosyrer som er felles for influensavirusene, slik at man kan danne både cellulære- og humorale kryssaktive immunresponser. Flere genetiske vaksiner mot influensa, av både DNA og mRNA, har nådd kliniske faser i dag. Noen av disse tar utgangspunkt i HA (hemagglutinin) som er virale overflateproteiner på influensavirus, og HA fungerer som antigen i den forstand at immuncellene våre gjenkjenner disse proteinene (40). Et annet protein som også har blitt forsket på er NP (nukleoprotein) som er assosiert med nukleinsyrene i viruset. En mRNA-vaksine som ble lagd med utgangspunkt i NP viste kryssbeskyttende resultater i mus (4).

5.1 Konklusjon

Hensikten med oppgaven var å redegjøre for hvordan vaksiner utvikles, hvilke vaksineteknologier som egner seg sett i lys av en pandemisk situasjon, og hvordan de eventuelt kan være egnet til bruk mot globale epidemier, pandemier eller smittsomme sykdommer. Hver vaksineteknologi har sine fordeler og ulemper knyttet til dens utvikling, dens evne til å indusere visse immunresponser og dens anvendelse. Genetiske vaksiner representerer et lovende alternativ til de vektorbaserte vaksinene på grunn av deres evne til å aktivere både humoral- og cellulær immunrespons, samt kapasiteten de har for rask utvikling. Imidlertid begrenses deres anvendelse på grunn av ustabilitet *in vivo*, en svakere immunrespons enn ønskelig og behovet for en «cold chain». Vaksiner utvikles stadig, og optimalisering av de genetiske vaksinene viser at vaksineutviklere er på riktig vei i forhold til å få de genetiske vaksinene så brukervennlig som mulig. Vaksineutviklere er optimistiske til å kunne optimalisere de genetiske vaksinene slik at de muligens kan utvikles mot andre epidemier, pandemier eller sykdommer som man tidligere ikke har lyktes i å lage en vaksine mot.

6. Referanser

1. Folkehelseinstituttet. Koronavirus – fakta og håndtering i Norge [Internett]. <https://www.helsenorge.no/>; Helsenorge; 2020 [updated 07.05.20; cited 2021 22.04]. Available from: <https://www.helsenorge.no/koronavirus/fakta-og-handtering-i-norge/>.
2. British Society for Immunology. How vaccines work: British Society for Immunology; 2017 [updated Februar 2020; cited 2021 22.04]. Available from: <https://www.immunology.org/celebrate-vaccines/public-engagement/guide-childhood-vaccinations/how-vaccines-work>.
3. Børve K, Kristoffersen E, Myrvang B. Vaksine [Internett]. <https://sml.snl.no/>; Store Medisinske Leksikon 2009 [updated 28.06.18; cited 2021 22.04]. Available from: <https://sml.snl.no/vaksine>.
4. Lee K, Kim M, Seo Y, Lee H. Development of mRNA vaccines and their prophylactic and therapeutic applications. Nano Research. 2018;11(10):5173-92.
5. Kumaragurubaran K, Kaliaperumal K. DNA vaccine: the miniature miracle. Veterinary World. 2013;6(4):228.
6. Folkehelseinstituttet. Vaksiner og vaksinebivirkninger [Internett]. <https://www.helsenorge.no/>; Helsenorge; 2018 [updated 20.12.18; cited 2021 22.04]. Available from: <https://www.helsenorge.no/vaksinasjon/vaksiner-og-vaksinebivirkninger/>.
7. Lea T. Immunologi og immunologiske teknikker. 3. utg. ed. Bergen: Fagbokforl.; 2006.
8. Xu S, Yang K, Li R, Zhang L. mRNA Vaccine Era—Mechanisms, Drug Platform and Clinical Prospection. International Journal of Molecular Sciences. 2020;21(18):6582.
9. Knezevic I, Liu MA, Peden K, Zhou T, Kang HN. Development of mRNA Vaccines: Scientific and Regulatory Issues. Vaccines (Basel). 2021;9(2).
10. Stuge TB. RNA-vaksine [Internett]. <https://snl.no/>; Store Norske Leksikon; 2020 [updated 28.02.21; cited 2021 22.04]. Available from: <https://snl.no/RNA-vaksine>.
11. Thommesen L, Berg K. En kort innføring i immunologi [Internett]. <https://www.bioingenioren.no/>; Bioingeniøren; 2019 [updated 17.12.19; cited 2021 22.04]. Available from: <https://www.bioingenioren.no/fag/fag-i-praksis/2019/en-kort-innforing-i-immunologi/>.
12. European Medicines Agency. COVID-19 vaccines: development, evaluation, approval and monitoring [Internett]. <https://www.ema.europa.eu/>; European Medicines Agency; 2020 [cited 2021 22.04]. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/human->

- [regulatory/overview/public-health-threats/coronavirus-disease-covid-19/treatments-vaccines/vaccines-covid-19/covid-19-vaccines-development-evaluation-approval-monitoring](https://www.fhi.no/regulatory/overview/public-health-threats/coronavirus-disease-covid-19/treatments-vaccines/vaccines-covid-19/covid-19-vaccines-development-evaluation-approval-monitoring).
13. Ng Wern H, Liu X, Mahalingam S. Development of vaccines for SARS-CoV-2. *F1000Research*. 2020;9.
 14. Statens Legemiddelverk. Godkjenningprosessen for koronavaksiner [Internett]. <https://legemiddelverket.no/>; Statens Legemiddelverk; 2020 [updated 21.04.2021; cited 2021 22.04].
 15. Singh K, Mehta S. The clinical development process for a novel preventive vaccine: An overview. *J Postgrad Med*. 2016;62(1):4-11.
 16. WHO. The vaccine cold chain [Internett]. <https://www.who.int/>; WHO; 2015 [cited 2021 25.04]. Available from: https://www.who.int/immunization/documents/IIP2015_Module2.pdf.
 17. Folkehelseinstituttet. Tetanusvaksine (stivkrampe) og tetanusimmunglobulin - veileder for helsepersonell [Internett]. <https://www.fhi.no/>; FHI; 2008 [updated 04.04.2019; cited 2021 22.04]. Available from: <https://www.fhi.no/nettpub/vaksinasjonsveilederen-for-helsepersonell/vaksiner-mot-de-enkelte-sykdommene/tetanusvaksinasjon-stivkrampe-og-te/>.
 18. Folkehelseinstituttet. Immunitet og hvordan vaksiner virker [Internett]. <https://www.fhi.no/>; FHI; 2008 [updated 05.03.2021; cited 2021 22.04]. Available from: <https://www.fhi.no/nettpub/vaksinasjonsveilederen-for-helsepersonell/vaksinasjon/immunitet-og-hvordan-vaksiner-virker/>.
 19. Abdulhaqq SA, Weiner DB. DNA vaccines: developing new strategies to enhance immune responses. *Immunologic Research*. 2008;42(1-3):219-32.
 20. Liu MA. A Comparison of Plasmid DNA and mRNA as Vaccine Technologies. *Vaccines (Basel)*. 2019;7(2).
 21. Rauch S, Jasny E, Schmidt KE, Petsch B. New Vaccine Technologies to Combat Outbreak Situations. *Front Immunol*. 2018;9:1963-.
 22. BioChain. What is RNA? [Internett]. <https://www.biochain.com/>; BioChain; [cited 2021 22.04]. Available from: <https://www.biochain.com/general/types-of-rna-and-how-to-extract-or-purchase-it/>.
 23. Martinsen L, Fossum S. mRNA [Internett]. <https://sml.sn�.no/>; Store Norske Leksikon; 2009 [updated 08.01.21; cited 2021 22.04]. Available from: <https://sml.sn�.no/mRNA>.
 24. Pardi N, Hogan MJ, Porter FW, Weissman D. mRNA vaccines - a new era in vaccinology. *Nat Rev Drug Discov*. 2018;17(4):261-79.

25. Smith TRF, Patel A, Ramos S, Elwood D, Zhu X, Yan J, et al. Immunogenicity of a DNA vaccine candidate for COVID-19. *Nat Commun.* 2020;11(1):2601.
26. Martinsen L. DNA [Internett]. <https://snl.no/>: Store Norske Leksikon; 2009 [updated 04.11.20; cited 2021 22.04]. Available from: <https://snl.no/DNA>.
27. Stuge TB. DNA-vaksine [Internett]. <https://snl.no/>: Store Norske Leksikon; 2020 [updated 01.12.20; cited 2021 22.04]. Available from: <https://snl.no/DNA-vaksine>.
28. Folkehelseinstituttet. Praktisk info om vaksinasjon [Internett]. <https://www.fhi.no/>: FHI; 2008 [updated 19.02.2021; cited 2021 22.04]. Available from: <https://www.fhi.no/nettpub/vaksinasjonsveilederen-for-helsepersonell/vaksinasjon/praktisk-vaksinasjon/>.
29. Prevention CfDca. Moderna COVID-19 Vaccine [Internett]. <https://www.cdc.gov/>: CDC; 2021 [updated 22.02.21; cited 2021 22.04]. Available from: <https://www.cdc.gov/vaccines/covid-19/info-by-product/moderna/index.html>.
30. Prevention CfDca. Pfizer-BioNTech COVID-19 Vaccine [Internett]. <https://www.cdc.gov/>: CDC; 2021 [updated 22.02.21; cited 2021 22.04]. Available from: <https://www.cdc.gov/vaccines/covid-19/info-by-product/pfizer/index.html>.
31. COVID-19 Vaccine AstraZeneca [Internett]. <https://www.felleskatalogen.no/>: Felleskatalogen; 2021 [cited 2021 22.04]. Available from: <https://www.felleskatalogen.no/medisin/dokument/covid-19-vaccine-astrazeneca-spc.pdf>.
32. Statens Legemiddelverk. Bivirkninger av vaksiner - hva lærte vi av pandemien i 2009? [Internett]. <https://legemiddelverket.no/>: Reuters 2020 [updated 13.11.20; cited 2021 22.04]. Available from: <https://legemiddelverket.no/nyheter/bivirkninger-av-vaksiner-hva-lerte-vi-av-pandemien-i-2009>.
33. Johannessen T. Johnson & Johnson vaksinen [Internett]. <https://nhi.no/>: NHI; 2021 [updated 14.04.21; cited 2021 14.04]. Available from: <https://nhi.no/for-helsepersonell/fra-vitenskapen/johnson-johnson-vaksinen/>.
34. NTB. Pfizer-test: Vaksinen er 95 prosent effektiv [Internett]. <https://forskning.no/2020> [cited 2021 18.11]. Available from: <https://forskning.no/ntb-sykdommer-virus/pfizer-test-vaksinen-er-95-prosent-effektiv/1772920>.
35. Johannessen T. En singel vaksinedose er effektiv også blant de eldste [Internett]. <https://nhi.no/>: NHI; 2021 [cited 2021 25.04]. Available from: <https://nhi.no/for-helsepersonell/fra-vitenskapen/en-singel-vaksinedose-er-effektiv-ogsaa-blant-de-eldste/?hp=true>.

36. Europeisk Informasjonsportal Om Vaksinasjon. Hvor effektiv er vaksinen? [Internett]. <https://vaccination-info.eu/>: Europeisk Informasjonsportal Om Vaksinasjon; 2021 [cited 2021 25.04]. Available from: <https://vaccination-info.eu/nb/fakta-om-vaksiner/hvor-effektiv-er-vaksinen>.
37. Korber B, Gaschen B, Yusim K, Thakallapally R, Kesmir C, Detours V. Evolutionary and immunological implications of contemporary HIV-1 variation. Br Med Bull. 2001;58:19-42.
38. Folkehelseinstituttet. Influensavaksine [Internett]. <https://www.helsenorge.no/>: Helsenorge; 2020 [updated 27.08.20; cited 2021 22.04]. Available from: <https://www.helsenorge.no/vaksinasjon/influensavaksine/>.
39. Folkehelseinstituttet. Effekt av influensavaksine [Internett]. <https://www.fhi.no/>: FHI; 2017 [updated 18.05.2017; cited 2021 22.04]. Available from: <https://www.fhi.no/nettpub/vaksinasjonsveilederen-for-helsepersonell/kunnskapsgrunnlag/influensa/>.
40. Wong S-S, Webby RJ. Traditional and new influenza vaccines. Clin Microbiol Rev. 2013;26(3):476-92.

