

L'ANALISI DI MC KENNAN IN ITALIANO

Testo tradotto dall'inglese senza revisione

Questo è il quinto articolo in cui si riscontrano sequenze di DNA plasmidico in pazienti o topi dopo la vaccinazione con vaccini a mRNA C19. Questo articolo in particolare è una miniera d'oro e svolge un lavoro approfondito nell'analizzare la biologia cellulare non ancora compresa dopo la trasfezione. Inoltre, approfondisce la sua ipotesi con modelli knock-out e sequenziamento con Nanopore per analizzare il problema. È stato impiegato un lavoro impressionante per questo articolo.

Molti anni fa, quando fu pubblicata per la prima volta la versione preprint, si svolse un dibattito attivo e una discussione produttiva con il suo autore principale.

La Nepetalactone Newsletter è una pubblicazione finanziata dai lettori. Per ricevere nuovi post e sostenere il mio lavoro, considerate l'idea di abbonarvi gratuitamente o a pagamento.

Perché...

C'è stata una preoccupazione persistente riguardo alle implicazioni dei bassi punteggi RIN sul modRNA nei vaccini (Blotgate). Questo è un parametro che è cambiato radicalmente quando si è passati dai vaccini prodotti tramite PCR ai vaccini prodotti per E. coli. L'EMA ha osservato che i punteggi RIN sono scesi dal 75% al 50%. Il punteggio RIN è un numero di integrità

dell'RNA, che misura il grado di degradazione dell'RNA. Punteggi più alti indicano lotti di mRNA a lunghezza intera più puri. Punteggi più bassi indicano frammentazione, degradazione o sintesi fuori bersaglio.

Si tratta di prodotti di estensione bloccati della RNA polimerasi T7? Sono frammentati a causa di contaminazione da metalli? Sono prodotti della polimerasi T7 con template switching? Quali sono le loro implicazioni cliniche con un profarmaco così impuro?

Si tratta di profarmaci, poiché l'mRNA viene tradotto in una proteina spike teorica e tale processo di traduzione varia probabilmente in ogni cellula e persona iniettata. È noto che questa biodistribuzione è più estesa rispetto al virus.

Il titolo dell'articolo è cambiato da PrePrint a Nature Publication

Noterete che è cambiato da "migliora la produzione di antigeni e la risposta immunitaria" a "migliora l'efficacia". Personalmente avrei lasciato il titolo precedente, dato che questi vaccini non hanno nulla di efficace. Se la vostra misura di riferimento è la produzione di anticorpi, potreste giungere a questa conclusione, ma la maggior parte degli anticorpi generati dopo l'iniezione non raggiunge mai la mucosa, dove il virus entra nell'organismo.

Il coro di vaxofili e seguaci di "montoni" su Twitter si è nuovamente schierato a difesa di tale scarto di produzione, perché gli mRNA troncati privi di coda polyA

non vengono tradotti... almeno secondo la loro conoscenza del processo di traduzione, acquisita al liceo in biologia, e la loro scarsa conoscenza dell'RNAi (interferenza dell'RNA). Hanno ipotizzato che i trascritti più piccoli osservati su Agilent fossero semplicemente privi di coda polyA. Mai dare per scontato quando si ha un sequenziatore.

La discussione con l'autore verteva sulla possibilità che i suoi metodi individuassero mRNA troncati privi di coda polyA. C'è stata un po' di confusione su questo punto, poiché la sua sezione sui metodi faceva riferimento a un articolo che non riusciva a rilevarli, ma questi autori li hanno modificati in modo da credere di poterli vedere.

Il problema che ho riscontrato nei loro metodi citati era che avevano prima catturato l'mRNA che volevano sequenziare usando una biglia PolyT, quindi qualsiasi elemento senza una coda PolyA non sarebbe mai finito nella loro libreria, portandoli a concludere erroneamente che non esistessero.

Krawczyk ha chiarito un dettaglio nei loro metodi. Questa è stata una modifica intelligente che hanno usato. L'inosina è una base semi-universale. L'abbiamo usata in sesta posizione nei nostri oligonucleotidi utilizzati per il sequenziamento SOLiD. La DNA ligasi T4 ha un controllo molto limitato sulla fedeltà dell'appaiamento delle basi a 6 basi di distanza dalla giunzione di ligazione, quindi si poteva usare una base approssimativa e l'enzima non se ne curava.

Ma quando questa base approssimativa si trova alla giunzione di ligazione dell'enzima, mostra una forte preferenza per alcune basi. Non lega G, quindi i primer PolyC vengono spesso aggiunti per completare la sua affinità per C, T e A. Questi metodi non sono perfetti quando si chiede a una polimerasi di estendersi su PolyI e PolyC, ma dovrebbero rilevare alcuni trascritti troncati.

Ancora una volta, sebbene utilizzino TURBO DNasi prima di creare queste librerie, questo dovrebbe cancellare la maggior parte del DNA presente, rendendo il DNA plasmidico nei vaccini Moderna più difficile da rilevare.

Ciononostante, possiamo ancora trovare DNA plasmidico Moderna nei dati di sequenziamento Illumina di Krawczyk et al. In assenza di questo trattamento con DNasi, i livelli di DNA sarebbero a livelli di copertura ancora più elevati. Questo è un argomento importante, dato che si presume che la longevità dell'mRNA sia l'unica causa della ri-adenilazione. È noto che il DNA persiste per settimane o mesi. L'RNA per ore o giorni. RNA modificato? Non lo sappiamo e lo stiamo scoprendo in tempo reale dopo aver vaccinato la popolazione umana.

Quindi, se vogliamo trovare prove che le estremità 3' di questi vaccini presentino sequenze inaspettate, dobbiamo guardare l'estremità 3' del modRNA o il lato sinistro di quello Spike_ORF in rosso (~790 bp). Ricordiamo che la trascrizione va dal promotore T7

(~4500 bp) fino all'estremità dello Spike a sinistra. Le letture su quel confine dell'estremità 3' che sono delineate in rosso sono letture a estremità accoppiate interrotte.

Ciò significa che una lettura di 101 bp mappa parzialmente o completamente lo Spike e l'altra lettura no. Spesso queste letture dello Spike sono "soft-clipped", ovvero una parte della lettura di 101 bp mappa lo Spike e l'altra parte della lettura è qualcos'altro. Cosa vediamo?

Ecco una lettura in cui le 61 basi a sinistra non mappano lo Spike, ma 40 bp sì. Quindi, eseguiamo il soft-clipping di 61 bp e vediamo cos'altro c'è qui.

Il lato destro di questo diagramma BLAST sta raggiungendo un picco (verde) e il lato sinistro qualcosa di completamente inaspettato (rosa). Il verde è il picco BLAST più alto e il rosa è il secondo picco BLAST.

Cliccando su [MZ362874.1](#) si accede a un brevetto per il vaccino Moderna contro l'HIV depositato il 13 marzo 2020, di cui Anthony Fauci è autore. Il brevetto è stato pubblicato con il numero Patent: US (PCT/US2020/022710)-A 13-MAR-2020.

Il NIH lo segnala sul proprio sito web.

Questo è supportato da più di una lettura con punti di partenza diversi.

Questo è supportato da più di una lettura con punti di

partenza diversi.

In effetti, è supportato da un'infinità di letture. Noterete che le sequenze in cui le letture non sono in linea con il riferimento sono sovrapposte nel testo alle letture rosa e blu e non corrispondono alla sequenza del vaccino Moderna mRNA1273 nella traccia inferiore.

Le letture soft-clipped non corrispondenti sono trascrizioni chimeriche e vengono inviate a BUON MERCATO a questo documento.

Queste letture soft-clipped non corrispondenti sono trascrizioni chimeriche e sono apparse su questo articolo.

Articolo di Fauci

Quindi, come diavolo è finito in questo vaccino contro il SARS-CoV-2 e a cosa serve gp145 legata covalentemente alla proteina spike?

Non ha senso a meno che non ci sia un elemento IRES tra di loro?

IRES = Siti di Ingresso Ribosomiale Interni. Questi consentono la traduzione parallela di sequenze policistroniche da due promotori. Pensate a IRES come a un promotore interno che recluta il proprio ribosoma per la traduzione parallela di proteine da un singolo lungo mRNA. Questi non hanno una sequenza di consenso che possiamo cercare. Gli

elementi IRES sono difficili da prevedere solo dalla sequenza e richiedono una validazione biologica.

C'è un'altra ipotesi più probabile, dato che questa sequenza inaspettata proviene da un brevetto Moderna. Potrebbe essere un plasmide contaminante nella reazione IVT di Moderna, il cui stampo cambia e produce trascrizioni chimeriche con due diversi bersagli vaccinali? Il cambio di stampo si verifica quando la T7 Polimerasi trascrive uno stampo e poi salta su un altro stampo producendo RNA chimerico. Questo può accadere in cis o in trans. Il cambio di stampo in cis è spesso chiamato cambio di stampo a loopback e si verifica più spesso in presenza di sequenze palindromiche sull'RNA (Figura 1A). Il cambio di stampo in trans si verifica quando due DNA diversi presentano sequenze corte simili, per cui l'estremità terminale di un RNA può decidere di riattivare due stampi diversi (Figura 1B).

Moderna, con il più alto contenuto di GC nella sua ottimizzazione dei codoni spike, era nota per il cambio di stampo. Nel 2023 hanno pubblicato un articolo che mostrava la loro polimerasi T7 mutata, progettata per eliminare questo artefatto. In questo modo, hanno svelato quanto di questo cambio di stampo fosse generato dal loro normale processo IVT. Si veda la Figura 4 sottostante. Questi strisci di tipo selvatico (WT) sono tutti cambi di stampo. La polimerasi mutata elimina questo problema. Questa è la fonte del disordine in BlotGate. I numeri RIN

bassi e i gel smeary; sono artefatti da cambio di template. Non mi sarei mai aspettato di vedere un'altra sequenza HIV di Moderna con il nome di Anthony Fauci, nei vaccini C19!

Ricordo che alcune persone affermavano di essere risultate positive al test HIV dopo la vaccinazione C19. Non conosco i dettagli di quei test per sapere se questo abbia un ruolo, ma non ha alcun senso in questa sequenza di vaccino. Si noti che gli autori di Kawczyk non hanno alcuna sovrapposizione di nome, istituzione o finanziamento con l'articolo di Fauci. In appendice, ho cercato di esaminare attentamente ogni reagente menzionato in Krawczyk et al per vedere se questo potesse essere un artefatto di qualche altro oligo da loro elencato. Usando Blastn -task blastn-short non ho ancora trovato uno degli oligo elencati nella loro tabella supplementare che potesse spiegarlo. Conclusioni Gli esperimenti di RNA-Seq che esplorano la fedeltà delle estremità 3' del vaccino Moderna ci hanno fornito un'interessante panoramica su un possibile meccanismo di persistenza dell'RNA: la riadenilazione dei messaggi in vivo. Inavvertitamente, i dati dimostrano anche la contaminazione del DNA plasmidico nonostante i metodi che dovrebbero ridurre notevolmente il numero di copie di DNA con DNasil. I dati fanno luce anche su un'altra forma di contaminazione nei vaccini C19; altri vaccini a mRNA attualmente in fase di sviluppo da parte di Moderna. Data l'ampia capacità di sequenziamento del DNA disponibile per

sequenziare oltre 9 milioni di genomi di SARS-CoV-2, sembra irresponsabile che i vaccini tollerino RNA di dimensioni errate. Se questi vaccini fossero stati sequenziati prima dell'approvazione, questi bassi punteggi RIN sarebbero stati molto più chiari prima della loro somministrazione alla popolazione globale.