

# COVID-19-mRNA-Impfstoffe enthalten exzessive Mengen an bakterieller DNA: Belege und Folgerungen

Dr. med. Michael Palmer und Jonathan Gilthorpe, PhD

4. April 2023

## Zusammenfassung

Kürzlich erschienene Studien von Kevin McKernan, einem führenden Experten für Methoden zur Sequenzierung von DNA und RNA, haben ergeben, dass zumindest einige Chargen der modifizierten mRNA-Impfstoffe, die von Pfizer und von Moderna hergestellt wurden, einen hohen Anteil an kontaminierender bakterieller DNA enthalten. In einzelnen Chargen macht die DNA bis zu 20-35% der gesamten Nukleinsäuren aus. Diese alarmierend hohen Konzentrationen liegen weit über den Werten, die von der Europäischen Arzneimittelagentur (EMA) als sicher angesehen werden. Dieses Dokument fasst die Beweise für diese DNA-Kontamination zusammen und erörtert die möglichen Gesundheitsrisiken für die Empfänger der Impfstoffe.

## 1 Die Rolle von DNA bei der Herstellung von mRNA-Impfstoffen

**1.1 Allgemeiner Hintergrund.** Den meisten Lesern wird bekannt sein, dass

1. die in den COVID-19-mRNA-Impfstoffen enthaltenen synthetischen RNAs das SARS-CoV-2-Spike-Protein kodieren;
2. in lebenden Säugetierzellen die Anweisungen für den Aufbau eines bestimmten Proteinmoleküls als Gen in der DNA im Zellkern gespeichert sind;
3. um ein bestimmtes Eiweißmolekül zu synthetisieren, die Zelle zunächst das betreffende Gen in RNA transkribiert. Durch bestimmte nachfolgende Modifikationen an beiden Enden wird aus diesem Molekül eine Messenger-RNA (mRNA). Diese mRNA wird dann vom Zellkern ins Zytoplasma transportiert, wo sie die Proteinfabriken der Zelle – die *Ribosomen* – dazu veranlasst, die Nukleotidsequenz der RNA in die entsprechende Aminosäuresequenz zu übersetzen und das Protein zusammenzubauen.

**1.2 Schritte zur Herstellung von mRNA-Impfstoffen.** Das Spike-Protein ist ein großes Molekül, und dies gilt auch die mRNA, die es kodiert. Die chemische Totalsynthese großer mRNA-Moleküle ist im Produktions-Maßstab nicht praktikabel. Daher wird zur Produktion der für das Spike-Protein kodierende mRNA-Molekül der

Prozess, mit dem Zellen ihre eigenen mRNAs produzieren, in vitro nachgeahmt. Dies umfasst die folgenden Schritte:

1. Eine DNA-Kopie des Gens für das Spike-Protein wird in ein bakterielles *Plasmid* eingefügt. Ein Plasmid ist ein ringförmiges, doppelsträngiges DNA-Molekül, welches in einer Bakterienzelle unabhängig von der zelleigenen chromosomalen DNA existieren kann. Weiterhin kann es auch kopiert und an beide Tochterzellen weitergegeben werden, wenn sich die Zelle teilt.
2. Das *rekombinante* (künstliche) Plasmid, welches das Spike-Protein-Gen enthält, wird in eine Zelle der Bakterienart *Escherichia coli* (*E. coli*) eingeführt. Da sich *E. coli*-Zellen sehr schnell teilen, kann diese eine Zelle innerhalb kurzer Zeit zu einer sehr großen Anzahl von Zellen heranwachsen. Jede dieser Nachkommenschaftszellen enthält ihre eigenen vererbten Kopien des Plasmids und damit auch des Spike-Protein-Gens.

Es besteht prinzipiell die Möglichkeit, dass das Plasmid bei aufeinanderfolgenden Zellteilungen aus einigen der neu entstehenden Zellen verloren geht. Wir können aber seine Persistenz erzwingen, indem wir es mit einem selektierbaren Marker versehen, welcher nur diejenigen Zellen überleben lässt, die das Plasmid behalten haben. Sowohl bei Pfizer's wie auch bei Moderna's Plasmiden ist dieser Selektionsmarker ein Gen, welches die Wirtszellen gegen das Antibiotikum Kanamycin resistent macht. Um diese Selektion anzuwenden, lässt man die Bakterien dann einfach in Gegenwart von Kanamycin wachsen.

3. Nachdem eine ausreichende Anzahl von Bakterienzellen in einer Kanamycin-haltigen Nährlösung herangewachsen ist, werden diese Zellen aufgebrochen, und die dadurch freigesetzte Plasmid-DNA wird von den anderen bakteriellen Zellbestandteilen gereinigt.
4. Die ringförmigen Plasmidmoleküle werden mit Hilfe eines *Restriktionsenzym*s in eine lineare Form umgewandelt. Dieses Enzym spaltet beide Stränge des DNA-Moleküls an einer einzigen, spezifischen Stelle, welche sich stromabwärts des Spike-Protein-Gens befindet. Dieser Schritt ist notwendig, um die Bildung von RNA-Molekülen zu verhindern, die zu lang sind und in vivo unerwünschte Wirkungen haben könnten.

Die linearisierten DNA-Moleküle können im Prinzip von den verbleibenden ringförmigen Molekülen gereinigt werden; aber auf welche Weise und wie effizient dies bei der Herstellung der Impfstoffe von Pfizer und Moderna erfolgt, ist der Öffentlichkeit nicht bekannt.

5. Eine *RNA-Polymerase* wird verwendet, um das Spike-Protein-Gen von der DNA-Version auf dem linearisierten Plasmid in die mRNA-Version zu kopieren; dies geschieht in Gegenwart der erforderlichen Nukleosidbausteine und Cofaktoren. Sowohl Pfizer als auch Moderna verwenden die T7-RNA-Polymerase, die von dem gleichnamigen Bakteriophagen abgeleitet ist. Dieses Enzym erkennt und bindet an eine spezifische *Promotorsequenz*, die ebenfalls vom T7-Phagen

stammt und in das Plasmid stromaufwärts des Gens für das Spike-Protein eingebaut wurde. Diese Wechselwirkung zwischen Promotor und Polymerase setzt dann die Transkription in Gang.

In diesem Stadium wird auch das synthetische Nukleosid *N-Methyl-Pseudouridin* (m $\psi$ U) anstelle des natürlichen Nukleosids Uridin in die künstliche RNA eingebaut. Wenn eine solche m $\psi$ U-modifizierte RNA als Impfstoff eingesetzt wird, dann wirkt sie weniger stimulierend auf das angeborene Immunsystem als die entsprechende unmodifizierte mRNA. Außerdem wird sie effizienter in Protein übersetzt und ist unter bestimmten Bedingungen resistenter gegen Abbau [1]. Sowohl die mRNA-Impfstoffe von Pfizer als auch die von Moderna enthalten m $\psi$ U anstelle von Uridin.

6. Die beiden Enden jedes mRNA-Moleküls werden enzymatisch an bestimmte molekulare Gruppen gekoppelt, die auch in natürlichen menschlichen mRNAs an diesen Stellen zu finden sind und die ihre biologische Aktivität und Stabilität *in vivo* erhöhen.

Diese Schritte liefern unsere gewünschte mRNA. In diesem Stadium ist das Produkt jedoch noch nicht rein – die aus Bakterien gewonnene DNA-Vorlage ist immer noch vorhanden. Diese sollte nicht in das endgültige Arzneimittelprodukt gelangen, da sie für die Empfänger ein Gesundheitsrisiko darstellt (siehe Abschnitt 4). Um diese DNA zu beseitigen, wird ein weiteres Enzym namens *DNase* hinzugefügt. Dieses soll die DNA in kleinere Fragmente zerlegen, welche dann durch Filtration und andere Reinigungstechniken von den viel größeren RNA-Molekülen getrennt werden können. Im letzten Schritt wird die mRNA mit einer Mischung von Lipiden (fettähnlichen Stoffen) kombiniert, um sie in Lipid-Nanopartikel (LNPs) zu verpacken. Diese LNPs vermitteln die Aufnahme der mRNA in unsere Körperzellen und ermöglichen damit die nachfolgende Synthese des Spike-Proteins.

## 2 Was wussten wir bisher über das Problem der DNA-Kontamination?

Kurz gesagt, sehr wenig. In den Gutachten der FDA zu beiden Impfstoffen [2, 3] wird das Thema mit keinem Wort erwähnt. Im Bericht der Europäischen Arzneimittelagentur (EMA) über den Impfstoff von Pfizer wird gesagt, dass die Wirksamkeit der DNase-Behandlung nicht ausreichend nachgewiesen wurde [4]. Eine ähnliche Aussage findet sich im EMA-Bericht zu Modernas Impfstoff [5]. Auf der Grundlage dieser spärlichen Informationen ist es jedoch unmöglich zu sagen, ob das Problem als schwerwiegend angesehen wurde und welche Abhilfemaßnahmen von der Aufsichtsbehörde gegebenenfalls gefordert wurden.

## 3 Unabhängige Beweise für die DNA-Kontamination von mRNA-Produkten

Kevin McKernan hat seine jüngsten Ergebnisse in drei Artikeln auf seiner Substack-Website beschrieben [6-8]. Seine ersten beiden Berichte beziehen sich auf Proben

von neu eingeführten „bivalenten“ Impfstoffen von Pfizer und Moderna. Diese Präparate ähneln in ihrer chemischen Zusammensetzung den bisherigen „monovalenten“ Impfstoffen, d.h. sie sollten hochreine mRNA enthalten, die mit Lipidmischung zu mRNA/Lipid-Nanopartikeln komplexiert ist. Der einzige Unterschied sollte sein, dass die bivalenten Impfstoffe eine Mischung zweier verschiedener mRNAs enthalten, welche für zwei antigene Varianten des Spike-Proteins kodieren. Dies hat keinen Einfluss auf das technische Problem der DNA-Kontamination als solches. Wir weisen jedoch darauf hin, dass das Ausmaß der DNA-Kontamination zwischen den Produktionschargen variieren kann und dass bisher nur eine kleine Anzahl von Chargen in dieser Hinsicht charakterisiert wurde.

**3.1 Der erste Bericht von McKernan.** In einer ersten Studie [6] charakterisierte McKernan sowohl die RNA als auch die DNA, die in den mRNA-Impfstoffen enthalten sind.

**3.1.1 Extraktion von Nukleinsäuren aus den Impfstoffen und ihre direkte Charakterisierung.** Der erste Schritt bestand darin, die Lipide zu entfernen, um die reinen Nukleinsäuren zu erhalten. Die hierbei verwendete lösungsmittelbasierte Methode unterscheidet nicht zwischen DNA und RNA - wenn beide vorhanden sind, werden auch beide extrahiert. Die so erhaltenen Nukleinsäuren wurden nach ihrer Größe getrennt. Dabei wurden nicht nur die erwarteten regulären Spike-mRNA-Moleküle voller Länge gefunden, sondern auch kleinere Fragmente. Solche Fragmente waren schon früher von den Aufsichtsbehörden festgestellt worden, sowie auch in einer von einem der Hersteller veröffentlichten Arbeit [9]. Überraschenderweise fanden sich aber auch RNA-Spezies, welche größer sind als die mRNA voller Länge. Diese wurden bisher noch nicht genauer untersucht.

**3.1.2 Amplifikation der extrahierten Nukleinsäuren.** In Vorbereitung für die Bestimmung der genauen Nukleotidsequenzen der extrahierten Nukleinsäuren wurden diese zunächst durch PCR-Methoden amplifiziert. Im Falle der RNA ging der PCR eine reverse Transkription in DNA voraus; diese erfolgte mithilfe eines speziellen Enzyms (reverse Transkriptase). Da in dieser Studie in erster Linie die RNA und nicht die DNA untersucht werden sollte, wurde bei diesem Vervielfältigungsschritt Actinomycin D zugesetzt, welches unter den gegebenen Versuchsbedingungen die DNA-Synthese selektiv hemmt. Dementsprechend enthielten die amplifizierten Proben relativ geringe Mengen an DNA. Im Falle des Pfizer-Impfstoffs überstieg dennoch selbst unter diesen Bedingungen der nachgewiesene DNA-Gehalt bereits den von der EMA willkürlich festgelegten Grenzwert für das maximal zulässige Verhältnis von DNA zu RNA.

**3.1.3 Ergebnisse der DNA-Sequenzierung.** Sowohl mit den Produkten von Pfizer als auch mit denen von Moderna wurden DNA-Sequenzen kompletter Plasmide erhalten, aber im Falle der Moderna-Plasmide blieben gewisse Unklarheiten bestehen. Die Merkmale der Plasmidsequenzen werden daher im Zusammenhang mit

der zweiten Studie von McKernan erörtert, bei der mehr und reinere DNA für die Sequenzierung verwendet wurde, und welche daher zuverlässigere Ergebnisse lieferte.

**3.2 Der zweite Bericht von McKernan.** Die zweite Studie [7] konzentrierte sich auf die Quantifizierung und Charakterisierung der DNA-Kontamination, welche in der ersten Studie qualitativ festgestellt worden war.

**3.2.1 Die in den mRNA-Impfstoffen enthaltene Plasmid-DNA kann sich in Bakterienzellen vermehren.** Im ersten Experiment wurde untersucht, ob die Plasmid-DNA, deren Vorhandensein aus den vorherigen Sequenzierungsergebnissen abgeleitet wurde, tatsächlich biologisch aktiv ist, so dass sie in Bakterienzellen eingeschleust werden und sich dort halten und vermehren kann. Zu diesem Zweck wurden erneut Nukleinsäuren aus den Impfstoffproben extrahiert. Diese Nukleinsäuren wurden mit einer Suspension von *E. coli*-Zellen gemischt, welche für die DNA-Aufnahme *kompetent* gemacht worden waren.

Nachdem man diese Zellen zur Aufnahme der DNA veranlasst und ihnen etwas Zeit gegeben hatte, sich zu erholen, wurden sie auf Petrischalen ausgestrichen, die mit verfestigtem, Kanamycin enthaltendem Wachstumsmedium (Agar) gefüllt waren. Wie bereits erwähnt, tötet Kanamycin alle *E. coli*-Zellen ab, die kein entsprechendes Resistenzgen enthalten. Daher bestätigte das beobachtete Wachstum von Bakterienkolonien auf diesen Agar-Medien, dass einige Zellen tatsächlich eine Resistenz gegen Kanamycin erworben hatten, indem sie die Plasmide aufgenommen und vermehrt hatten. Dies wurde bei allen Impfstoffproben sowohl von Pfizer als auch von Moderna beobachtet.

In diesem Zusammenhang ist zu beachten, dass nur ringförmige Plasmidmoleküle, nicht aber linearisierte, effizient in Bakterienzellen eingebracht werden können. Der Erfolg dieses Experiments lässt daher vermuten, dass einige der Plasmidmoleküle dem Linearisierungsschritt (Schritt 4 in Abschnitt 1.2) entgangen waren und den gesamten Produktionsprozess in Ringform durchlaufen hatten, welche in Bakterienzellen existiert. Da jedoch andererseits die Zahl der in diesem Experiment beobachteten Bakterienkolonien nicht hoch war, ist es wahrscheinlich, dass der Großteil der DNA doch linearisiert worden war. Die biologischen Risiken von Fremd-DNA in unserem eigenen Körper könnten bei linearer oder ringförmiger DNA verschieden sein, so dass das wahrscheinliche Vorhandensein beider Formen in den Impfstoffen erwähnenswert ist. Die genauen Anteile von ringförmiger und linearer DNA in den Mischungen müssen allerdings noch ermittelt werden.

**3.2.2 Die Menge der kontaminierenden DNA.** Das zweite wichtige Ergebnis dieser Studie ist die Quantifizierung der in den Impfstoffproben enthaltenen DNA und mRNA mittels PCR. Wie Sie vielleicht wissen, wird bei einer PCR-Reaktion ein ausgewählter Abschnitt einer Nukleinsäuresequenz durch enzymatische Synthese in mehreren aufeinanderfolgenden Reaktionszyklen vervielfältigt. Aus der Anzahl der Zyklen (oder Verdoppelungen), die erforderlich sind, um eine bestimmte Schwel-

lenkonzentration zu erreichen, lässt sich die Menge berechnen, die zu Beginn der Reaktion vorhanden war.

Bei diesen Experimenten wurde als Versuchsformat die *Multiplex-PCR* gewählt, d. h. zwei Zielsequenzen wurden in einer einzigen Reaktionsmischung amplifiziert. Eine Zielsequenz befand sich innerhalb des Spike-Protein-Gens und sollte daher sowohl auf den Plasmid-DNA-Molekülen als auch auf den davon transkribierten Spike-mRNA-Molekülen vorhanden sein. Um die mRNA-Moleküle in diese Amplifikation miteinzubeziehen, wurde der PCR wiederum eine reverse Transkription vorgeschaltet.

Die andere Zielsequenz befand sich innerhalb des Kanamycin-Resistenzgens, das nur auf der Plasmid-DNA vorhanden sein sollte. Die Anzahl der Zyklen, die für jedes der beiden Ziele erforderlich waren, um den Schwellenwert zu überschreiten, wurde verglichen. Daraus ergab sich, dass bis zu 20-35% der gesamten in den Impfstoffen enthaltenen Nukleinsäure tatsächlich DNA ist. Zum Vergleich: Die EMA hat festgelegt, dass der Anteil der DNA an den gesamten Nukleinsäuren nicht mehr als 0,033 % betragen darf.

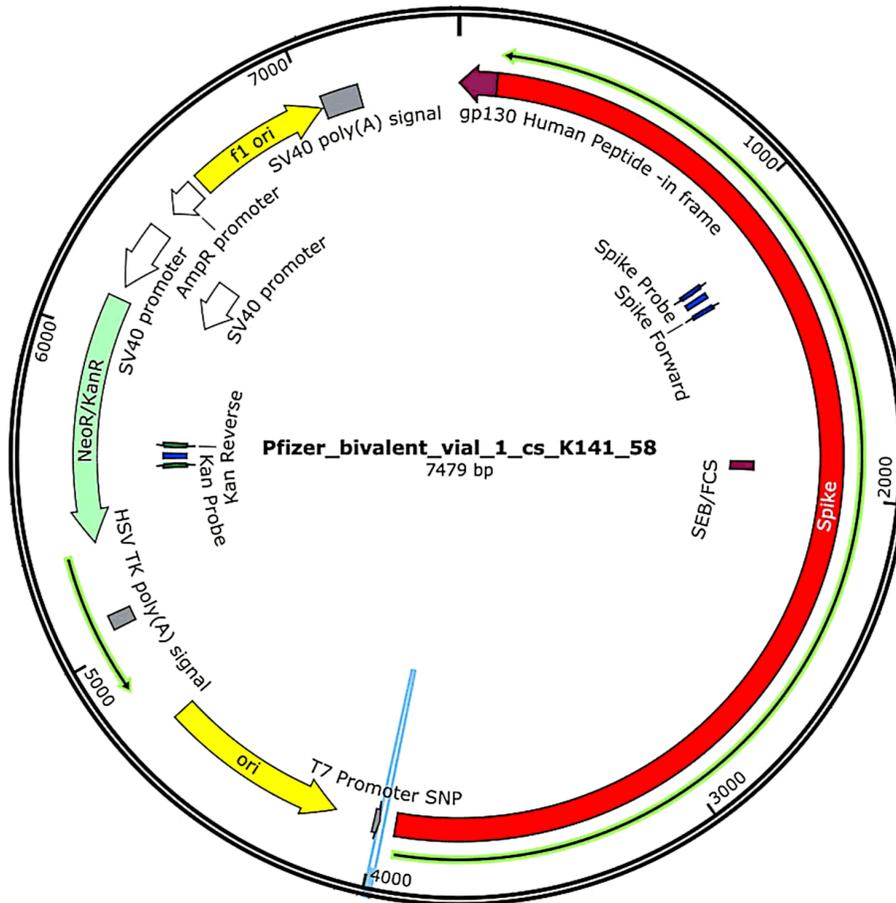
**3.2.3 Bestimmung der Plasmid-DNA-Sequenzen.** Die Plasmide, die ursprünglich in den Impfstoffen enthalten waren und dann in Bakterienzellen eingebracht wurden (siehe Abschnitt 3.2.1), wurden erneut aus diesen Bakterienkulturen isoliert, und ihre vollständigen DNA-Sequenzen wurden bestimmt. Diese Sequenzen wurden in der ersten Studie von McKernan [6] vollständig angegeben, aber er hat darauf hingewiesen, dass er noch an der Bestätigung und Verfeinerung der Sequenzierungsdaten arbeitet. Die derzeit bekannten funktionellen Merkmale der Plasmid-DNA, die in den Impfstoffproben von Pfizer gefunden wurden, sind in Abbildung 1 dargestellt. Sie werden im Zusammenhang mit der Risikobewertung erörtert.

**3.3 Der dritte Bericht von McKernan.** In seinem bisher letzten Bericht untersuchte McKernan acht Fläschchen einer älteren Charge des monovalenten Pfizer-Impfstoffs mit der oben beschriebenen quantitativen PCR-Methode. Der Gehalt an DNA war in diesem Fall deutlich niedriger als bei den bivalenten Impfstoffproben, überschritt aber dennoch den oben genannten EMA-Grenzwert um das 18 bis 70-fache [8].

## 4 Risikobewertung

Wir müssen davon ausgehen, dass die in den mRNA-Impfstoffen enthaltene rekombinante DNA in die Zellen unseres Körpers eingeschleust werden kann und dass dies durch die Lipid-Nanopartikel erleichtert wird, genau wie es bei der mRNA selbst der Fall ist. Dies birgt verschiedene Gesundheitsrisiken.

**4.1 Verlängerte Dauer der Spike-Protein-Expression.** Ein Hauptargument, das regelmäßig angeführt wird, um die angebliche Sicherheit der mRNA-Impfstoffe zu belegen, ist, dass mRNA in vivo kurzlebig sei und dass die Expression des kodierten Antigens daher ebenfalls von kurzer Dauer sein sollte. So heißt es beispielsweise im



**Abbildung 1** Karte der Plasmid-DNA, die in einem der bivalenten Impfstofffläschchen von Pfizer enthalten war. Die funktionellen Merkmale wurden aus der experimentell bestimmten DNA-Sequenz abgeleitet. Das für das Spike-Protein kodierende Gen (rot), dessen Transkription durch den T7-Promotor angetrieben wird, macht etwa die Hälfte der gesamten DNA-Sequenz aus. Das „NeoR/KanR“-Gen (hellgrün) kodiert ein Protein, welches Bakterienzellen resistent gegen Kanamycin oder Neomycin macht, und menschliche Zellen gegen das Antibiotikum G418. Die gelb markierte Sequenz mit der Bezeichnung „ori“ ist der bakterielle Replikationsursprung; sie bewirkt, dass Kopien des Plasmids in der Bakterienzelle entstehen. Die vom SV40-Virus abgeleiteten Elemente oben links können die Expression von G418-Resistenz in menschlichen Zellen verursachen, und sie enthalten auch einen Replikationsursprung, der die Vermehrung des Plasmids in menschlichen Zellen bewirken könnte. Sie fehlen in den Plasmiden von Moderna, die ansonsten denen von Pfizer ähnlich sind. Siehe Text für weitere Einzelheiten. Abbildung übernommen (mit Retuschen) aus [7].

EMA-Bewertungsbericht zum Pfizer-Impfstoff, in Bezug auf Tierversuche mit einem Modellimpfstoff, welche von der EMA anstelle von den eigentlich erforderlichen Studien mit dem echten COVID-19-Impfstoff akzeptiert wurden [4]:

*Wie bei einem mRNA-Produkt zu erwarten, war die Luziferase-Expression vorübergehend ... Das Signal nahm in den ersten 72 Stunden langsam ab, und nach 6 und 9 Tagen waren die Signale weiter abgeschwächt und betrogen*

*ungefähr das 18- bzw. 7-fache der Signale von Tieren, denen eine Pufferkontrolle injiziert worden war.*

Diese Ergebnisse scheinen mit zwei In-vitro-Studien übereinzustimmen, welche die Höhe und die Dauer der Proteinexpression zwischen mRNA-Spezies verglichen, welche in ihrer Sequenz identisch waren, aber Uridin bzw. m $\psi$ U enthielten; letzteres ist, wie oben erwähnt, auch in den mRNA-Impfstoffen von Pfizer und Moderna enthalten. In beiden Studien [1, 10] induzierten die m $\psi$ U-modifizierten RNA-Spezies eine signifikant höhere Proteinexpression. Nichtsdestoweniger nahm diese erhöhte Expression mit einer ähnlichen Halbwertszeit ab wie bei der unmodifizierten RNA; sie dauerte also nicht oder nur unwesentlich länger. Keine der Halbwertszeiten, welche aus den Daten der beiden Studien abgeleitet werden können, überschreitet 4,5 Tage.

Aus mehreren Studien an geimpften Personen geht jedoch hervor, dass sowohl das Spike-Protein selbst als auch die dafür kodierenden Nukleinsäuren über Wochen und sogar Monate nach der Injektion im Blutkreislauf und in verschiedenen Organen nachgewiesen werden können [11–15]. Diese Diskrepanz zwischen In-vitro- und In-vivo-Studien war bisher schwer zu verstehen. Die von McKernan festgestellten hohen Restmengen an Plasmid-DNA in den Impfstoffen legen nun eine plausible Erklärung nahe.

Damit die bakterielle Plasmid-DNA eine langfristige Expression des Spike-Proteins aufrechterhalten kann, müssen zwei Bedingungen erfüllt sein:

1. die Plasmid-DNA muss in unsere Körperzellen aufgenommen werden und dort verbleiben, und
2. das Spike-Protein-Gen auf diesem Plasmid muss von unserer eigenen zellulären RNA-Polymerase II in mRNA transkribiert werden.

Zwar liegen uns noch keine direkten experimentellen Daten zu den Spike-Expressionsplasmiden von Pfizer und Moderna vor, doch deuten Präzedenzfälle darauf hin, dass beide Anforderungen erfüllt sind. Es wurde festgestellt, dass rekombinante Plasmide, die den Gerinnungsfaktor IX exprimieren, bis zu 1,5 Jahre lang in den Leberzellen von Versuchstieren verbleiben [16, 17]; diese Zeitspanne entsprach der gesamten Dauer des Versuchs. Man könnte hier einwenden, dass die in diesen Studien verwendeten Plasmide ringförmig waren, während der Großteil der in den mRNA-Impfstoffen enthaltenen Plasmid-DNA wahrscheinlich in linearer Form vorliegt (siehe Abschnitt 1.2). Dem ist zu entgegnen, dass erstens wahrscheinlich ein Teil der kontaminierenden Plasmid-DNA in Ringform vorliegt (siehe Abschnitt 3.2.1), und zweitens rekombinante virale DNA nachweislich in linearer Form über ebenso lange Zeiträume in Tieren verbleibt [18], was vermuten lässt, dass dies auch bei Plasmid-DNA der Fall sein kann.

In den beiden zitierten Studien [16, 17] stand das Gen, welches für das interessierende Protein (Faktor IX) kodiert, unter der Kontrolle eines Säugetierpromotors, und das Faktor-IX-Protein wurde tatsächlich langfristig in gleichbleibender Men-

ge exprimiert. Im Gegensatz dazu steht das Spike-Protein-Gen in den Expressionsplasmiden von Pfizer und Moderna unter der Kontrolle eines T7-Bakteriophagen-Promotors. Wir können zwar nicht *a priori* davon ausgehen, dass dieser Promotor in Abwesenheit der ihm entsprechenden T7-RNA-Polymerase funktionieren wird, aber es wurde schon experimentell gezeigt, dass dieser T7-Promotor auch die zelluläre RNA-Polymerase II von Säugetierzellen bindet und in solchen Zellen die Proteinexpression bewirkt [19].

Zusammenfassend stellen wir fest: Die Möglichkeit, dass die beobachtete lang anhaltende Expression von Spike-Protein durch die in den mRNA-Impfstoffen enthaltene Plasmid-DNA verursacht wird, muss ernst genommen werden. Die in Biopsien und Autopsien von geimpften Personen nachgewiesene langfristige Persistenz von Spike-Protein-mRNA und ihre Expression wurde eindeutig mit schweren Schäden in Verbindung gebracht [13, 20]. Diese Schäden wurden höchstwahrscheinlich durch einen Immunangriff auf die Zellen, welche dieses fremde Antigen exprimierten, vermittelt. Das Fehlen entsprechender experimenteller Studien in der präklinischen Versuchsphase, in Verbindung mit dem Ausmaß dieser Kontamination, stellt ein völlig inakzeptables Sicherheitsrisiko dar.

**4.2 Risiken im Zusammenhang mit von SV40 abgeleiteten regulatorischen DNA-Sequenzen.** Ein Merkmal, das McKernan auf den Expressionsplasmiden von Pfizer, nicht aber auf denen von Moderna identifiziert hat [6], ist ein vom SV40-Virus abgeleiteter Promotor, der zur Polyoma-Familie gehört (siehe Abschnitt 4.2). Dieser Promotor befindet sich stromaufwärts des Kanamycin-Resistenzgens; und da er in Säugetierzellen aktiv ist, wird das von diesem Resistenzgen kodierte Protein in jeder Zelle, die diese DNA enthält, exprimiert werden. Wie das Spike-Protein ist auch dieses Protein ein fremdes Antigen und kann daher ebenfalls einen Immunangriff auf die es exprimierenden Zellen auslösen.

Der SV40-Promotor enthält darüber hinaus auch einen internen Replikationsursprung [21], welcher in Säugetierzellen die Bildung von Kopien des Plasmids verursachen kann. Dazu muss das *große T-Antigen* vorhanden sein, ein virales Protein, welches diesen Replikationsursprung erkennt und dann die Verdopplung des DNA-Moleküls einleitet. Dieses Protein wird weder vom Plasmid kodiert, noch ist es normalerweise in unseren Körperzellen vorhanden, aber es könnte entweder vom SV40-Virus selbst oder von einem verwandten Polyoma-Virus geliefert werden. Eine Minderheit der menschlichen Bevölkerung ist latent mit SV40 infiziert, und eine solche latente Infektion wird mit verschiedenen Krankheiten in Verbindung gebracht, einige davon bösartig [22]. Sollte eine Kopie des Pfizer-Plasmids in eine Zelle aufgenommen werden, die SV40 beherbergt, könnten in der Tat zusätzliche Kopien des Plasmids gebildet werden.

Zwei verwandte Polyoma-Viren, die in der menschlichen Bevölkerung viel weiter verbreitet sind als SV40, sind das BK- und das JC-Virus [23, 24]. Das Groß-T-Antigen von JC-Virus ist in Verbindung mit dem SV40-Ursprung offenbar weniger wirksam

als das SV40-eigene Protein [25], aber die Replikation des Pfizer-Plasmids in Zellen, die latent mit JC- oder BK-Viren infiziert sind, kann dennoch nicht ausgeschlossen werden. Zusätzliche Kopien des auf diese Weise erzeugten Plasmids würden alle anderen in diesem Abschnitt behandelten Risiken verstärken, mit der möglichen Ausnahme einer unspezifischen Entzündung (siehe Abschnitt 4.4).

**4.3 Einfügung der Plasmid-DNA ins zelluläre Genom.** Bei den bisher diskutierten Szenarien ging es um eine selbständige, *episomale* Persistenz der Plasmid-DNA, die zwar in der Nähe der Chromosomen (im Zellkern) vorhanden ist, aber nicht in irgendeines der Chromosomen eingebaut worden ist. Solche unabhängigen, sich nicht replizierenden Plasmidmoleküle gehen bei aufeinanderfolgenden Zellteilungen rasch verloren [26]. Wie wir noch sehen werden, kann ein Plasmidmolekül jedoch in einigen Fällen tatsächlich in eines der Chromosomen seiner Wirtszelle integriert werden. In der Folge wird es dann an alle Nachkommen dieser Zelle vererbt.

Die chromosomale Integration ist eine Form der „Genotoxizität“, d. h. von Toxizität, welche genetische Schäden verursacht. In Bezug auf die Möglichkeit solcher Wirkungen stellt der EMA-Bewertungsbericht über den mRNA-Impfstoff von Pfizer lapidar fest [4, p. 50]:

*Es wurden keine Studien zur Genotoxizität vorgelegt. Dies ist akzeptabel, da es sich bei den Bestandteilen der Impfstoffformulierung um Lipide und RNA handelt, bei denen kein genotoxisches Potenzial zu erwarten ist.*

Offensichtlich gingen die EMA-Experten davon aus, dass RNA im Allgemeinen die Integrität des Genoms der Wirtszelle nicht beeinträchtigen würde. Diese Ansicht ist falsch, und der erste Beweis dafür hat vor kurzem sein fünfzigjähriges Jubiläum gefeiert [27]. Der Nachweis erheblicher Mengen von Plasmid-DNA in den Impfstoffen beider Hersteller macht eine detaillierte Diskussion nun jedoch überflüssig. Sicherlich ist auch den Wissenschaftlern der EMA bewusst, dass fremde DNA in das Genom der menschlichen Wirtszellen integriert werden kann. Für eine solche Integration sind keine spezifischen Sequenzmerkmale erforderlich, und dementsprechend wurde sie auch bei DNA sehr verschiedenen Ursprungs – Säugetierviren, Bakteriophagen und bakterielle Plasmide – beobachtet [28]. Es ist erwähnenswert, dass solche Einfügungen an beliebigen Stellen des Genoms erfolgen können, dass aber Gene, die von der Zelle aktiv exprimiert werden, häufiger betroffen sind [29].

Die stabile chromosomale Integration eines bakteriellen Plasmids in die chromosomale DNA von Säugetierzellen wurde bereits 1982 nachgewiesen [30]. Das betreffende Plasmid weist zahlreiche Gemeinsamkeiten mit den Plasmiden auf, die bei der Herstellung der mRNA-Impfstoffe von Moderna und Pfizer verwendet werden. Das Einschleusen von fremden oder veränderten Genen in Säugetierzellen mit Hilfe dieser und ähnlicher Techniken ist in der experimentellen Forschung und in der Biotechnologie inzwischen gang und gäbe. Die Methode wird als *Transfektion* bezeichnet, und die auf diese Weise veränderten Organismen nennt man *transgen*.

Es ist bekannt, dass stabile Integration sowohl mit ringförmiger als auch mit linearer Plasmid-DNA möglich ist [31].

In diesem Zusammenhang sollten wir auch die zuvor von Aldén u. a. [32] veröffentlichte Studie besprechen. In dieser Studie wurden DNA-Kopien des Spike-Protein-Gens in einer menschlichen Leberzelllinie nachgewiesen, nachdem diese Zellen dem Pfizer-mRNA-Impfstoff ausgesetzt worden waren. Ausgehend von der Annahme, dass der Impfstoff im Wesentlichen reine mRNA, aber keine DNA enthielt, werteten die Autoren diese Beobachtung als Beweis dafür, dass die synthetische mRNA in diesen Zellen eine reverse Transkription durchlaufen hatte. Ihre Interpretation ist plausibel, da eine solche reverse Transkription von RNA prinzipiell möglich ist und bereits in Zellen von Patienten, die mit dem SARS-CoV-2-Virus infiziert waren, beobachtet wurde [33]. Angesichts der Entdeckung von McKernan, dass Impfstoffampullen von Pfizer beträchtliche Mengen an DNA enthalten können, ist es jedoch auch möglich, dass die Beobachtungen von Aldén u.a. einfach die zelluläre Aufnahme dieser DNA anzeigten. So oder so deuten ihre Ergebnisse jedoch auf das Vorhandensein von Spike-kodierender DNA in diesen Zellen hin, und daher auf das Risiko einer genomischen Insertion.

**4.3.1 Genomische Insertion in der Gentherapie mit retroviralen Vektoren.** In der eigentlichen Gentherapie ist die chromosomale Integration häufig erwünscht, da sie den betreffenden Gendefekt dauerhaft korrigieren kann. Zu diesem Zweck wurden spezielle DNA-Vektoren entwickelt, die eine stark erhöhte Neigung zu einer solchen Integration haben. Diese Vektoren sind von *Retroviren* abgeleitet, deren gesamte Überlebensstrategie auf der genomischen Integration beruht. Es hat sich jedoch herausgestellt, dass die Integration, wenn sie an der falschen Stelle im Genom stattfindet, häufig bösartige Krankheiten auslöst, insbesondere Leukämie [34]. Dieser Effekt ist so häufig, dass sie die breite Anwendung der Gentherapie bisher verhindert hat, selbst bei Krankheiten, bei denen alle anderen therapeutischen Optionen ebenfalls mit sehr großen Risiken behaftet sind. Ein gutes Beispiel dafür ist der Adenosin-Deaminase-Mangel, eine Stoffwechselkrankheit, welche die Lymphozyten auslöscht und so eine schwere kombinierte Immunschwäche (SCID) verursacht, die ohne Behandlung schon im Kindesalter immer tödlich ist. Diese Krankheit ist im Prinzip ein sehr geeignetes Ziel für die Gentherapie. Dennoch bleibt eine Knochenmarktransplantation von einem passenden und verwandten Spender die bevorzugte therapeutische Option; dies aufgrund des großen Risikos von durch die Gentherapie induzierten bösartigen Erkrankungen [35].

**4.3.2 Auf welche Weise verursacht die genomische Insertion von DNA bösartige Erkrankungen?** Unser Genom enthält eine Vielzahl von Genen, die Krebs auslösen können, wenn ihre Expressionsrate – d. h. die Rate, mit der mRNA und Proteinmoleküle aus ihnen synthetisiert werden – entweder zu niedrig ist oder zu hoch. Ein fremdes DNA-Molekül kann sich möglicherweise direkt in ein solches Gen einfügen und es ganz ausschalten, oder es kann sich daneben einfügen, und ein starker

Promotor auf dieser fremden DNA kann eine übermäßige Expression des fraglichen Gens verursachen. Darüber hinaus wurde beobachtet, dass Insertionsereignisse auch genomweite Veränderungen der DNA-Methylierung bewirken können, die sich auf die Expressionswerte vieler Gene auswirken. Einige dieser Veränderungen könnten durchaus zur Auslösung von Malignität beitragen. Wichtig ist, dass dieser Effekt bei der Insertion nicht nur von viraler DNA, sondern auch von bakteriellen Plasmiden beobachtet wurde [36].

Wenn Zellen aus einem gesunden menschlichen oder tierischen Organ isoliert und in einer Zellkultur gezüchtet werden, teilen sie sich für eine begrenzte Anzahl von Generationen und sterben dann ab. Im Gegensatz dazu können Zellen aus bösartigen Tumoren und Leukämien unbegrenzt vermehrt werden. Eine ähnliche Veränderung kann auch bei Zellkulturen eintreten, die dadurch unsterblich werden und zumeist auch einige der Merkmale verlieren, welche für ihr Ursprungsgewebe charakteristisch sind. Diese *Transformation* kann z. B. durch Infektion der Zellen mit dem bereits erwähnten SV40-Virus ausgelöst werden. Ganz analog kann man Zellen auch durch Transfektion mit einem von SV40 abgeleiteten Plasmid transformieren, welches die entscheidenden Teile des viralen Genoms enthält, insbesondere das Gen für das große T-Antigen. Wenn dieses fehlt, dann kommt es in der Regel nicht zur Transformation [30]. Es wurden jedoch auch einige Ausnahmen berichtet [37, 38]. Diese Fälle müssen durch die Ausschaltung oder die Dysregulation von zellulären Genen entstanden sein, die an der Kontrolle der Zell-Proliferation beteiligt sind.

**4.3.3 Genomische Integration in Keimbahnzellen.** Eizellen können in bestimmten Reifestadien *in vivo* transfiziert werden [39], ebenso wie spermienproduzierende Zellen in den Hoden [40]. In letzterem Fall erwiesen sich die Nachkommen der so behandelten Tiere als transgen. Es ist daher nicht auszuschließen, dass Personen, die mit mRNA-Impfstoffen geimpft werden, welche auch DNA enthalten, anschließend transgene Kinder zur Welt bringen. Der DNA-Eintrag in Keimbahnzellen könnte auch die frühe intrauterine Entwicklung stören und dadurch Fehlgeburten oder Missbildungen hervorrufen.

**4.3.4 Wie ist das Risiko einer genomischen Insertion zu bewerten?** Es ist sicherlich richtig, dass bakterielle Plasmide eine geringere Neigung haben, sich in unsere chromosomale DNA einzufügen, als Gentherapievektoren, die speziell für eine effiziente Integration entwickelt wurden. Doch wie groß ist das Risiko im Falle der in den mRNA-Impfstoffen enthaltenen Plasmide genau? Die einfache Antwort lautet: Niemand weiß es. Das liegt nicht daran, dass man es prinzipiell nicht wissen kann. Der Grund ist vielmehr, dass die entsprechenden experimentellen Studien an Tieren und nachfolgend am Menschen nicht durchgeführt wurden; oder wenn doch, dann wurden die Ergebnisse der Öffentlichkeit und offenbar auch den Aufsichtsbehörden vorenthalten.

Wie würde man solche Risiken in ordnungsgemäß durchgeführten Zulassungsverfahren erfassen? In den aktuellen FDA-Leitlinien für die Prüfung und Zulassung von Gentherapien [41] wird empfohlen, die Patienten während der klinischen Studien 15 Jahre lang nach der Verabreichung zu überwachen, wobei in den ersten fünf Jahren jährliche Kontrolluntersuchungen durchgeführt werden sollten. Dies gilt für Vektoren, bei denen eine chromosomale Insertion beabsichtigt ist. In den Leitlinien wird außerdem eine falsche Dichotomie konstruiert zwischen Vektoren, die sich ins Genom der Zelle integrieren und solchen, die dies angeblich nicht tun; aber die Trennlinie zwischen beiden bleibt unscharf. Einerseits sagt dieses Dokument:

*GT [Gentherapie]-Produkte, die auf Vektoren wie Plasmiden basieren ... neigen nicht dazu, sich zu integrieren oder nach einer Latenzzeit zu reaktivieren, und bergen im Allgemeinen ein geringeres Risiko für verzögerte unerwünschte Ereignisse,*

aber andererseits heißt es auch:

*Änderungen bei den Methoden zur Einführung von Plasmid-DNA-Vektoren in Zellen ... führen zu höheren Integrationsfrequenzen (Ref. 27).*

Bei der im letzteren Zitat angeführten Referenz handelt es sich um eine Studie von Wang u. a. [42], die nach intramuskulärer Injektion und anschließender Elektroporation eindeutig eine DNA-Insertion von Plasmid-DNA in vivo nachweisen konnten. Die Elektroporation erhöhte zwar die zelluläre Aufnahme der injizierten DNA im Vergleich zur Injektion von „nackter“ DNA allein; sie war aber in dieser Hinsicht wahrscheinlich weit weniger wirksam als die in den mRNA-Impfstoffen enthaltenen Lipid-Nanopartikel. Dementsprechend müssen wir damit rechnen, dass es in vivo in einem gewissen Ausmaß zur Integration der kontaminierenden Plasmid-DNA in die Chromosomen unserer Zellen kommt.

**4.4 Entzündungsfördernde Wirkung von bakterieller DNA.** Das angeborene Immunsystem des Menschen reagiert mit Entzündung auf verschiedene bakterielle Makromoleküle, darunter auch DNA. Es ist davon auszugehen, dass die in den Impfstoffen enthaltenen großen Mengen an DNA zu Entzündungen in der Nähe der Injektionsstelle und möglicherweise auch an anderen Stellen im Körper beitragen.

## 5 Schlussfolgerung

Das Vorhandensein von kontaminierender Plasmid-DNA in den mRNA-Impfstoffen von Pfizer und Moderna birgt schwerwiegende Gesundheitsrisiken, die zu den bereits bekannten und verstandenen Risiken hinzukommen. Zu diesen Risiken gehören vor allem die verlängerte Expression des Spike-Proteins, die zu einer entsprechend verlängerten und zerstörerischen autoimmunartigen Entzündung führen kann, sowie die Induktion bösartiger Erkrankungen nach chromosomaler Integration der Plasmid-DNA. Darüber hinaus beweist das schiere Ausmaß der Kontamination eindeutig, dass die Hersteller die vorgesehenen Produktionsverfahren

nicht beherrschen oder nicht ordnungsgemäß umgesetzt haben. Jeder dieser Punkte allein wäre Grund genug, die sofortige Rücknahme dieser Impfstoffe zu fordern.

## Danksagung

Wir danken Kevin McKernan und Ulrike Kämmerer für Korrekturen und Diskussion.

## Urheberrecht

Dieser Text ist unter den Bedingungen der Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0) lizenziert. Dies bedeutet, dass Sie den Inhalt frei kopieren und wiederverwenden können, solange dabei die ursprünglichen Autoren genannt werden. Wenn Sie Änderungen am Text vornehmen, müssen Sie dies ausdrücklich angeben. Weitere Einzelheiten finden Sie auf der Creative-Commons-Website [43].

## Literatur

- [1] O. Andries u. a.: N<sup>1</sup>-methylpseudouridine-incorporated mRNA outperforms pseudouridine-incorporated mRNA by providing enhanced protein expression and reduced immunogenicity in mammalian cell lines and mice. *J. Control. Release* 217 (2015), 337-344. PMID: 26342664.
- [2] Anonymous: *FDA briefing document: Pfizer-BioNTech COVID-19 Vaccine*. 2020. URL: <https://www.fda.gov/media/144245/download>.
- [3] Anonymous: *FDA briefing document: Moderna MRNA-1273*. 2020. URL: <https://www.fda.gov/media/144452/download>.
- [4] Anonymous: *EMA Assessment report: Comirnaty*. 2021. URL: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/comirnaty-epar-public-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/comirnaty-epar-public-assessment-report_en.pdf).
- [5] Anonymous: *EMA Assessment report: COVID-19 Vaccine Moderna*. 2021. URL: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/spikevax-previously-covid-19-vaccine-moderna-epar-public-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/spikevax-previously-covid-19-vaccine-moderna-epar-public-assessment-report_en.pdf).
- [6] K. McKernan: *Deep sequencing of the Moderna and Pfizer bivalent vaccines identifies contamination of expression vectors designed for plasmid amplification in bacteria*. 2023. URL: <https://anandamide.substack.com/p/curious-kittens>.
- [7] K. McKernan: *Pfizer and Moderna bivalent vaccines contain 20-35expression vector and are transformation competent in E.coli*. 2023. URL: <https://anandamide.substack.com/p/pfizer-and-moderna-bivalent-vaccines>.
- [8] K. McKernan: *DNA contamination in 8 vials of Pfizer monovalent mRNA vaccines*. 2023. URL: <https://anandamide.substack.com/p/dna-contamination-in-8-vials-of-pfizer>.
- [9] H. K. Patel u. a.: Characterization of BNT162b2 mRNA to Evaluate Risk of Off-Target Antigen Translation. *J. Pharm. Sci.* (2023). PMID: 36642376.

- [10] N. Pardi u. a.: Nucleoside-modified mRNA vaccines induce potent T follicular helper and germinal center B cell responses. *J. Exp. Med.* 215 (2018), 1571–1588. PMID: [29739835](#).
- [11] S. Bansal u. a.: Cutting Edge: Circulating Exosomes with COVID Spike Protein Are Induced by BNT162b2 (Pfizer-BioNTech) Vaccination prior to Development of Antibodies: A Novel Mechanism for Immune Activation by mRNA Vaccines. *J. Immunol.* 207 (2021), 2405–2410. PMID: [34654691](#).
- [12] T. E. Fertig u. a.: Vaccine mRNA Can Be Detected in Blood at 15 Days Post-Vaccination. *Biomedicines* 10 (2022), 1538. PMID: [35884842](#).
- [13] E. Magen u. a.: Clinical and Molecular Characterization of a Rare Case of BNT162b2 mRNA COVID-19 Vaccine-Associated Myositis. *Vaccines* 10 (2022). PMID: [35891299](#).
- [14] K. Röltgen u. a.: Immune imprinting, breadth of variant recognition and germinal center response in human SARS-CoV-2 infection and vaccination. *Cell* (2022). PMID: [35148837](#).
- [15] J. A. S. Castruita u. a.: SARS-CoV-2 spike RNA vaccine sequences circulate in blood up to 28 days after COVID-19 vaccination. *APMIS* 131 (2023), 128–132. PMID: [36647776](#).
- [16] C. H. Miao u. a.: Long-term and therapeutic-level hepatic gene expression of human factor IX after naked plasmid transfer in vivo. *Mol. Ther.* 3 (2001), 947–57. PMID: [11407909](#).
- [17] X. Ye u. a.: Complete and sustained phenotypic correction of hemophilia B in mice following hepatic gene transfer of a high-expressing human factor IX plasmid. *J. Thromb. Haemost.* 1 (2003), 103–11. PMID: [12871546](#).
- [18] L. Jager und A. Ehrhardt: Persistence of high-capacity adenoviral vectors as replication-defective monomeric genomes in vitro and in murine liver. *Hum. Gene Ther.* 20 (2009), 883–96. PMID: [19364285](#).
- [19] Y. Q. Li u. a.: [The function of T7 promoter as cis-acting elements for polymerase II in eukaryotic cell]. *Yi Chuan Xue Bao* 27 (2000), 455–61. PMID: [10979193](#).
- [20] M. Mörz: A Case Report: Multifocal Necrotizing Encephalitis and Myocarditis after BNT162b2 mRNA Vaccination against Covid-19. *Vaccines* 10 (2022), 2022060308. DOI: [10.3390/vaccines10101651](#).
- [21] B. J. Byrne u. a.: Definition of the simian virus 40 early promoter region and demonstration of a host range bias in the enhancement effect of the simian virus 40 72-base-pair repeat. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 80 (1983), 721–5. PMID: [6298771](#).
- [22] J. C. Rotondo u. a.: Association Between Simian Virus 40 and Human Tumors. *Front. Oncol.* 9 (2019), 670. PMID: [31403031](#).
- [23] J. A. DeCaprio und R. L. Garcea: A cornucopia of human polyomaviruses. *Nat. Rev. Microbiol.* 11 (2013), 264–76. PMID: [23474680](#).
- [24] I. Hussain u. a.: Human BK and JC polyomaviruses: Molecular insights and prevalence in Asia. *Virus Res.* 278 (2020), 197860. PMID: [31911182](#).
- [25] F. La Bella und H. L. Ozer: Differential replication of SV40 and polyoma DNAs in Chinese hamster ovary cells. *Virus Res.* 2 (1985), 329–44. PMID: [2994312](#).
- [26] A. Ehrhardt u. a.: Episomal persistence of recombinant adenoviral vector genomes during the cell cycle in vivo. *J. Virol.* 77 (2003), 7689–95. PMID: [12805471](#).

- [27] D. Baltimore: RNA-dependent DNA polymerase in virions of RNA tumour viruses. *Nature* 226 (1970), 1209–11. PMID: [4316300](#).
- [28] W. Doerfler: Beware of manipulations on the genome: epigenetic destabilization through (foreign) DNA insertions. *Epigenomics* 8 (2016), 587–91. PMID: [26997469](#).
- [29] W. Doerfler: A new concept in (adenoviral) oncogenesis: integration of foreign DNA and its consequences. *Biochim. Biophys. Acta* 1288 (1996), F79–99. PMID: [8876634](#).
- [30] P. J. Southern und P. Berg: Transformation of mammalian cells to antibiotic resistance with a bacterial gene under control of the SV40 early region promoter. *J. Mol. Appl. Genet.* 1 (1982), 327–41. PMID: [6286831](#).
- [31] G. Stuchbury und G. Münch: Optimizing the generation of stable neuronal cell lines via pre-transfection restriction enzyme digestion of plasmid DNA. *Cytotechnology* 62 (2010), 189–94. PMID: [20424915](#).
- [32] M. Aldén u. a.: Intracellular Reverse Transcription of Pfizer BioNTech COVID-19 mRNA Vaccine BNT162b2 In Vitro in Human Liver Cell Line. *Curr. Issues Mol. Biol.* 44 (2022), 1115–1126. PMID: [35723296](#).
- [33] L. Zhang u. a.: SARS-CoV-2 RNA reverse-transcribed and integrated into the human genome. *bioRxiv* (2020). DOI: [10.1101/2020.12.12.422516](#).
- [34] F. J. T. Staal u. a.: Sola dosis facit venenum. Leukemia in gene therapy trials: a question of vectors, inserts and dosage? *Leukemia* 22 (2008), 1849–1852. PMID: [18769449](#).
- [35] D. B. Kohn und H. B. Gaspar: How We Manage Adenosine Deaminase-Deficient Severe Combined Immune Deficiency (ADA SCID). *J. Clin. Immunol.* - (2017), n/a.
- [36] W. Doerfler u. a.: Inheritable epigenetic response towards foreign DNA entry by mammalian host cells: a guardian of genomic stability. *Epigenetics* 13 (2018), 1141–1153. PMID: [30458693](#).
- [37] R. Sipehia und G. Martucci: High-efficiency transformation of human endothelial cells by Apo E-mediated transfection with plasmid DNA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 214 (1995), 206–11. PMID: [7669041](#).
- [38] M. Takahashi u. a.: Transformation of MC3T3-E1 cells following stress and transfection with pSV2neo plasmid. *Anticancer Res.* 22 (2002), 585–98. PMID: [12014626](#).
- [39] A. Laurema u. a.: Transfection of oocytes and other types of ovarian cells in rabbits after direct injection into uterine arteries of adenoviruses and plasmid/liposomes. *Gene Ther.* 10 (2003), 580–4. PMID: [12646863](#).
- [40] S. Dhup und S. S. Majumdar: Transgenesis via permanent integration of genes in repopulating spermatogonial cells in vivo. *Nat. Methods* 5 (2008), 601–3. PMID: [18552853](#).
- [41] Anonymous: *Long Term Follow-Up After Administration of Human Gene Therapy Products: Guidance for Industry*. 2020. URL: <https://www.fda.gov/media/113768/download>.
- [42] Z. Wang u. a.: Detection of integration of plasmid DNA into host genomic DNA following intramuscular injection and electroporation. *Gene Ther.* 11 (2004), 711–21. PMID: [14724672](#).
- [43] Anonymous: *Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)*. 2023. URL: <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.