หน่วยกิตการศึกษาต่อเนื่อง
สำหรับผู้ประกอบวิชาชีพเภสัชกรรม

ชื่อเรื่อง รูปแบบของวัคซีนโควิด19 ตอนที่ 2 (COVID-19 vaccine platforms part 2)
รหัส 1003-1-000-007-07-2564
จำนวน 3 หน่วยกิตการศึกษาต่อเนื่อง
วันที่รับรอง 13 กรกฎาคม 2564
วันที่หมดอายุ 12 กรกฎาคม 2565
ชื่อ-นามสกุล ผู้เขียน ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภก.สมจริง รุ่งแจ้ง
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

วัตถุประสงค์

1. ทราบถึงวัคซีนโควิด19 ชนิด กรดนิวคลิอิก
2. ทราบถึงวัคซีนโควิด19 ชนิด viral vector
3. ทราบถึงข้อแตกต่างระหว่างชนิดวัคซีนโควิด 19

บทคัดย่อ

เมื่อมีการระบาดของโรคโควิด 19 ข้อมูลลำดับสารพันธุกรรมของไวรัสโคโรนา 2019 ก็ถูกเผยแพร่อย่างรวดเร็ว ทำให้ทราบถึงส่วนสำคัญของไวรัสโคโรนา 2019 ที่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ คือส่วน spike protein (S protein) ซึ่งเป็นส่วนที่ไวรัสโคโรนา 2019 ไว้ใช้จับกับตัวรับ angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2 receptor) บนผิวเซลล์ของเซลล์เจ้าบ้าน เพื่อพาไวรัสเข้าเซลล์เจ้าบ้าน เพื่อไปจำลองตัว หรือเพิ่มจำนวนนั่นเอง

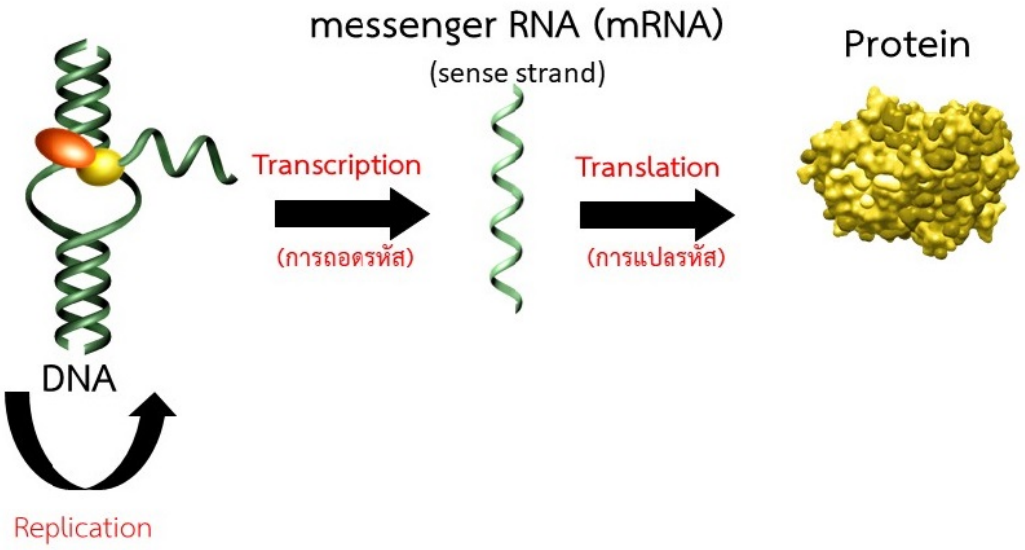
บทความตอนที่ 2 นี้มีเนื้อหาเกี่ยวกับวัคซีนชนิดที่ใช้สารพันธุกรรมที่สามารถถอดรหัส และแปลรหัสออกมาเป็น S protein ในเซลล์เจ้าบ้านได้ เพื่อสามารถกระตุ้นให้เจ้าบ้านสร้างภูมิคุ้มกันได้ ได้แก่วัคซีนชนิดกรดนิวคลิอิก ทั้งวัคซีน mRNA และ วัคซีน DNA และวัคซีน viral vector ทั้งชนิด non-replicating viral vector และ replicating viral vector ซึ่งสามารถผลิตได้ง่าย และรวดเร็ว แต่เนื่องจากเป็นวัคซีนชนิดที่ยังไม่เคยมีการใช้มาก่อน จึงยังมีข้อจำกัด และข้อสงสัยที่จะต้องศึกษาและเรียนรู้ต่อไป แต่วัคซีนทั้ง 2 ชนิดได้อยู่ในบัญชีรายชื่อขององค์การอนามัยโลกที่อนุมัติให้ใช้ในกรณีฉุกเฉินเรียบร้อยแล้ว

คำสำคัญ

วัคซีน, โควิด 19, วัคซีนชนิดกรดนิวคลิอิก,วัคซีนชนิด mRNA, วัคซีนชนิด DNA, nucleic acid vaccine, mRNA vaccine, DNA vaccine, viral vector vaccine, non-replicating viral vector vaccine, replicating viral vector vaccine

บทนำ

เนื่องจากปัจจุบันเทคโนโลยีชีวภาพพัฒนาไปมาก การตรวจสอบสารพันธุกรรม หรือแสดงลำดับสารพันธุกรรม (หรือลำดับเบสบนสายพันธุกรรม) ของสิ่งมีชีวิตใช้เวลาไม่นาน เมื่อเริ่มมีการระบาดของไวรัสโคโรนา 2019 ในเมืองอู่ฮั่น ประเทศจีน ก็สามารถถอดรหัสพันธุกรรมของไวรัสโคโรนา 2019 ได้ทั้งหมด ซึ่งประกอบด้วยลำดับนิวคลิโอไทด์ประมาณ 30,000 นิวคลิโอไทด์ และจากการศึกษาพบว่าส่วนสำคัญที่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดี คือส่วน S protein โดยเฉพาะในส่วน receptor binding domain (RBD) ซึ่งเป็นโปรตีนที่ไวรัสใช้จับกับตัวรับบนผิวเซลล์ของเซลล์เจ้าบ้าน (ACE2 receptor) จากกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน หรือกระบวนการ central dogma ซึ่งเริ่มจาก DNA สายคู่ในนิวเคลียสเกิดกระบวนการถอดรหัส (transcription) ได้เป็น messenger RNA ในไซโตพลาสซึม แล้วหลังจากนั้นไรโบโซม (ribosome) จะทำหน้าที่แปลรหัส (translation) ได้เป็นกรดอะมิโนต่อกันจนได้เป็นโปรตีน (ดังแสดงในรูปที่ 1)



รูปที่ 1 กระบวนการสังเคราะห์โปรตีน (central dogma)

วัคซีนชนิดที่ใช้สารพันธุกรรม

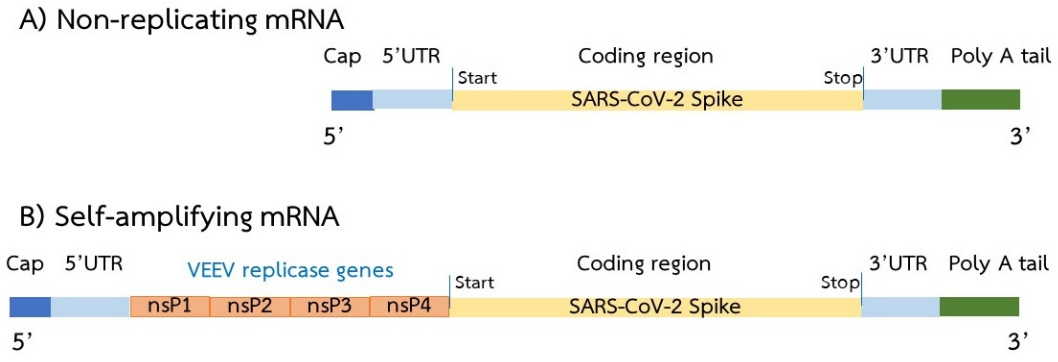
1. วัคซีนชนิดกรดนิวคลิอิก (nucleic acid vaccine)

จากแนวคิดที่ได้กล่าวมาข้างต้น ปัจจุบันสามารถสังเคราะห์ RNA และ DNA โดยใช้กระบวนการทางเคมี หรืออาศัยการเกิดกระบวนการถอดรหัสนอกเซลล์ได้ (*in vitro*) และเริ่มมีการอนุมัติให้ใช้ยาที่เป็น RNA และ DNA สายสั้น ๆ เพื่อไปยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนในการรักษาโรคที่เกิดจากความผิดปกติทางพันธุกรรม หรือโรคเรื้อรัง เช่น ยาที่เป็น antisense oligonucleotide (ASO; oligonucleotide สายสั้น ๆ ความยาวประมาณ 20-25 เบส เป้าหมายอยู่ที่ mRNA เพื่อยับยั้งกระบวนการแปลรหัสโปรตีน) ยาที่เป็น small interfering RNA

(siRNA; ซึ่งเป็น oligonucleotide สายคู่สายสั้น ๆ เช่นเดียวกัน โดยกระตุ้นให้เกิด RNA induced silencing complex (RISC) ไปตัดทำลาย mRNA เป้าหมาย)[1, 2] รวมทั้งมีการศึกษาถึงการพัฒนาวัคซีนสำหรับรักษาโรคมะเร็ง และป้องกันโรคติดเชื้ออื่น ๆ เช่น ไข้หวัดใหญ่ (influenza virus) ไข้ซิกา (zika fever)[3]

1.1 วัคซีนชนิด mRNA (mRNA vaccine) ปัจจุบันมีการพัฒนาวัคซีนในรูปแบบ RNA หรือ mRNA โดยวัคซีนชนิดนี้จะต้อง a) เมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้ว mRNA เหล่านี้จะถูกไรโบโซมแปลรหัสได้เป็นโปรตีนในไซโตพลาสซึมและโปรตีนที่สร้างขึ้นจะกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ จากการศึกษาพบว่าขึ้นอยู่กับการออกแบบและ mRNA ที่ใช้เป็น immunogen ส่วนใหญ่ออกแบบเพื่อให้แปลรหัสออกมาเป็น S protein เพราะเป็นส่วนที่กระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดีที่สุด (ทั้งชนิด full-length และ RBD) b) วัคซีนชนิดนี้จะต้องทนการถูกทำลายจากเอนไซม์ในร่างกายโดยเฉพาะ nucleases และกระบวนการที่ไม่ใช่เอนไซม์ (ปฏิกิริยาเคมีต่าง ๆ เช่น ออกซิเดชัน ดีอะมิเดชัน เป็นต้น) มีค่าครึ่งชีวิตในเลือดที่นาน c) ผ่านเข้าไปภายในเซลล์ได้ (cellular uptake) สำหรับข้อ b) และ c) นั้นสามารถแก้ปัญหาโดยการกักเก็บ mRNA ไว้ในรูปแบบอนุภาคไขมัน หรือ lipid nanoparticle (LNP)

การออกแบบวัคซีนอาจแบ่งวัคซีนได้ 2 ชนิด คือ non-replicating mRNA (NRM) และ self-amplifying mRNA[4] ดังแสดงในรูปที่ 2 โดยชนิด non-replicating mRNA อาจแบ่งได้เป็น ชนิดที่ใช้ RNA ธรรมชาติ (natural RNA หรือ unmodified RNA) และชนิดที่มีการดัดแปร RNA (modified RNA)[5, 6] โดยการออกแบบในส่วนของปลายด้าน 5’ จะมีการปิด (capping) ด้วย 7-methyl guanosine (m^7G) ที่กลับด้านเกิดพันธะ phosphodiester ที่ตำแหน่ง 5’-5’ triphosphate แล้วตามด้วย 5’-UTR (untranslated region) และส่วนที่จะแปลรหัสเป็นส่วนกระตุ้นภูมิคุ้มกัน หรือ S protein ตามด้วย 3’-UTR และปิดท้ายด้วย poly A tail สำหรับ self-amplifying mRNA (SAM) ระหว่าง 5’-UTR กับส่วนที่จะแปลรหัส จะมีส่วนที่สามารถแปลรหัสเป็นเอนไซม์ RNA-dependent RNA polymerase หรือ replicase ได้ ซึ่งเป็น non-structural protein (nsp หรือ nsP) ของ alphavirus เช่น Venezuelan equine encephalitis (VEE) replicon] เพื่อให้เกิดการเพิ่มจำนวน mRNA ให้มากขึ้นนั่นเอง[5, 7]



รูปที่ 2 การออกแบบวัคซีนชนิด mRNA; A) non-replicating mRNA (NRM) B) self-amplifying mRNA [4]

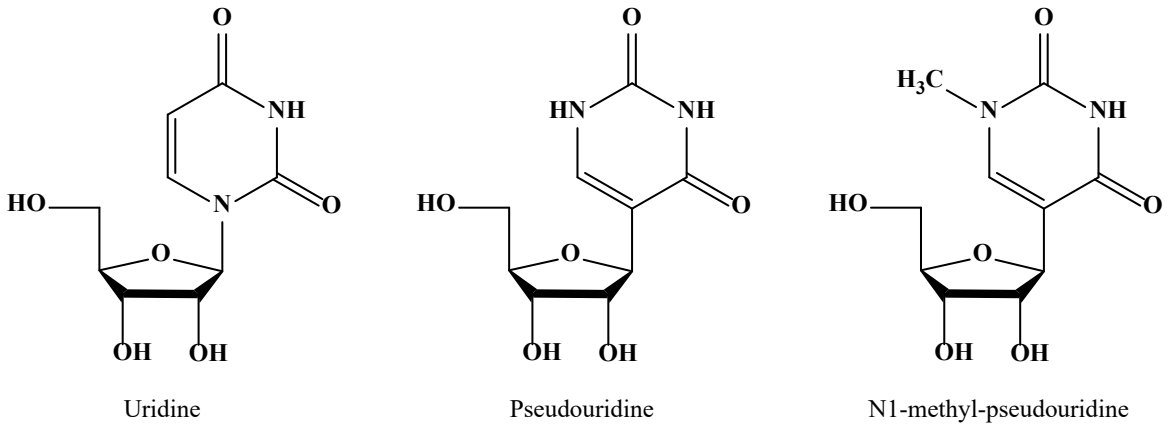
วัคซีน mRNA จะอยู่เพียงชั่วคราว และไม่เข้าไปสอดแทรกในสายพันธุกรรมของมนุษย์ ปัจจุบันมีวัคซีนที่ได้รับการอนุมัติให้ใช้ในกรณีฉุกเฉิน (emergency use authorization) ในหลายประเทศ ได้แก่ ***BNT162b2*** (Tozinameran หรือ Comirnaty) พัฒนาโดยบริษัท Pfizer และ BioNTech ซึ่งเป็นวัคซีนตัวแรกที่อนุญาตให้ใช้ในมนุษย์ และ ***mRNA-1273*** พัฒนาโดยบริษัท Moderna และ National Institute of Allergy and Infectious Disease (NIAID) โดยวัคซีนทั้ง 2 บริหารด้วยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ ***BNT162b2*** ฉีดครั้งแรกและซ้ำครั้งที่ 2 ห่างกัน 21 วัน ในขณะที่ ***mRNA-1273*** ฉีดครั้งแรกและซ้ำครั้งที่ 2 ห่างกัน 28 วัน วัคซีนทั้งคู่ใช้วิธีเก็บ mRNA ไว้ภายใน LNP เนื่องจาก mRNA มีความคงตัวต่ำ ถูกทำลายได้ง่ายจากทั้งเอนไซม์และกระบวนการที่ไม่ใช้เอนไซม์ และเป็นการนำส่ง mRNA เข้าสู่เซลล์ด้วย

จากการศึกษาพบว่าถ้ากักเก็บ mRNA ไว้ภายใน LNP จะถูกทำลายจากเอนไซม์ได้ยากขึ้น นำส่งไปยังเซลล์เป้าหมายได้ดีขึ้น และสามารถแปลรหัสได้มากกว่า mRNA ที่ไม่ได้ถูกกักเก็บไว้ (naked mRNA) ถึง 1,000 เท่าในสัตว์ทดลอง นอกจากนี้ LNP ยังช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้เพิ่มขึ้น หรือทำหน้าที่คล้ายเป็นสารเสริมการออกฤทธิ์ (adjuvant) ได้อีกด้วย[8, 9] โดย LNP ของทั้ง 2 วัคซีนนี้ประกอบด้วย distearoylphosphatidylcholine (DSPC) เป็นไขมันช่วย (helper lipid), คอเลสเตอรอล (cholesterol), polyethylene glycol[10] ที่ต่อกับไขมัน (PEG-lipid) และ ionizable lipid เช่น ALC-0135, SM-102 เป็นส่วนประกอบด้วยเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการนำส่งวัคซีน (ดังแสดงในตารางที่ 1)[11] โดย LNP จะกักเก็บ mRNA ไว้ภายใน helper lipid และคอเลสเตอรอล จะช่วยคงสภาพของ LNP ไว้โดยจะมีลักษณะเป็น phospholipid bilayer และเพื่อช่วยนำLNP ผ่านเข้าไปในเซลล์ได้โดยอาศัยกลไก endocytosis PEG-lipid นั้นจะช่วยให้ขนาดของอนุภาคอยู่ในขนาดนาโนเมตรขณะเตรียม และจะหันด้าน PEG ไว้ภายนอก LNP ทำให้มีความเป็น hydrophilic หรือสภาพที่มีขั้วทำให้ LNP อยู่ในระบบไหลเวียนโลหิตได้นานขึ้น (circulation time) ionizable lipid ซึ่งส่วนใหญ่จะมีประจุบวกจะช่วยกักเก็บ mRNA ที่มีประจุลบไว้ภายใน LNP และพา mRNA ออกจาก endosome เพื่อเข้าไปในไซโตพลาสซึม สำหรับการเตรียม LNP นั้นทำได้โดยจะละลายไขมันในเอทานอล และละลาย mRNA ในน้ำ แล้วนำ 2 ส่วนมาผสมกัน โดยใช้เครื่องไมโครฟลูอิดไดเซอร์ (microfluidizer)

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของ lipid nanoparticle ที่ใช้กักเก็บวัคซีน mRNA: BNT162b2 และ mRNA-1273[11]

หัวข้อ	**BNT162b2**	**mRNA-1273**
บริษัท	Pfizer และ BioNTech	Moderna
ส่วนประกอบของ LNP	ALC-0315 = (4-hydroxybutyl) azanediyl) bis (hexane-6,1-diyl) bis (2-hexyldecanoate) ALC-0159 = 2-[(polyethylene glycol)-2000]-*N,N*-ditetradecylacetamide 1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine Cholesterol	SM-102 = Heptadecan-9-yl 8-((2-hydroxyethyl) (6-oxo-6-(undecyloxy) hexyl) amino) octanoate PEG2000-DMG = 1,2-dimyristoylrac-glycero-3-methoxypolyethylene glycol-2000 1,2-Distearoyl-sn-glycero-3 phosphocholine Cholesterol
บัฟเฟอร์	Phosphate	Tris (tromethamine)
ส่วนประกอบอื่น ๆ	Potassium chloride, sodium chloride Sucrose Water for injection	Sodium acetate Sucrose Water for injection

ทั้ง 2 วัคซีนได้ออกแบบให้เป็น S-protein ชนิด full-length โดยเปลี่ยนจากเบส uridine ปกติให้เป็น 1-methylpseudouridine (ดังแสดงในรูปที่ 3) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการแปลรหัสได้ดีขึ้น รวมทั้งเปลี่ยนกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 986 และ 987 ให้เป็นกรดอะมิโนชนิดโปรลีน (proline) เพื่อให้โครงสร้างของ S-protein ที่ได้ยังสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดี หรือคงสภาพเป็นลักษณะ prefusion shape นั่นเอง (S-2P) ซึ่งทั้ง 2 วัคซีนจัดเป็น non-replicating mRNA ชนิดที่มี modified RNA เป็นส่วนประกอบ[12, 13]



รูปที่ 3 โครงสร้างของ uridine nucleoside และ N1-methyl-pseudouridine nucleoside

นอกจากนี้ยังมีวัคซีน ***CVnCoV*** ที่พัฒนาโดยบริษัท CureVac Ag ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับ 2 วัคซีนที่ได้กล่าวถึงไปแล้วแต่ใช้เบสตามธรรมชาติทั้งหมดไม่มีการดัดแปร (non-modified) ซึ่งกำลังศึกษาทางคลินิกระยะที่ 3 จัดเป็น non-replicating mRNA ชนิดที่ใช้ natural RNA เป็นส่วนประกอบ และมีวัคซีนของบริษัทอื่น ๆ อีกที่กำลังศึกษาในขั้นคลินิก รวมทั้ง ***ChulaCov19*** ที่พัฒนาโดยศูนย์วิจัยวัคซีน คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประเทศไทยด้วย (คาดว่าจะได้เริ่มทดลองในเดือนเมษายน พ.ศ.2564), ***PTX-COVID19-B*** พัฒนาโดย Providence Therapeutics ประเทศแคนาดา, ***DS-5670a*** พัฒนาโดย Daiichi Sankyo Co., Ltd. ประเทศญี่ปุ่น, ***MRT5500*** พัฒนาโดย Sanofi Pasteur และ Translate Bio ซึ่งออกแบบ mRNA ให้มีการเปลี่ยนแปลง S protein ให้มีลักษณะเป็น prefusion mutant หรือ double proline mutations (2P) และ furin cleavage site mutant [ที่ตำแหน่ง 682 ถึง 685 จากโปรตีน RRAR (arginine-arginine-alanine-arginine) เป็น GSAS (glycine-serine-alanine-serine) ซึ่งทำให้ทนต่อการถูกตัดทำลายด้วยเอนไซม์ furin] นอกจากนี้ ได้ลองพัฒนาใช้ 6P หรือ Hexapro ด้วย แต่พบว่าการกระตุ้นภูมิคุ้มกันไม่แตกต่างกับ 2P [14]

ในจำนวนนี้มีวัคซีนชนิดที่สามารถเกิดการเพิ่มจำนวนได้เอง หรือชนิด SAM[4] ได้แก่ ***ARCT-021*** (LUNAR®-COV19) ซึ่งพัฒนาโดยบริษัท Arcturus therapeutics ซึ่งใช้ LUNAR® nanoparticle (ประกอบด้วย Arcturus therapeutics proprietary ionizable lipid, DSPC, cholesterol, PEG2000- DMG) [15], ***LNP-CoVsaRNA*** พัฒนาโดย Imperial Collage London ซึ่งกำลังศึกษาทางคลินิก บริหารวัคซีนโดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อเช่นเดียวกัน (กักเก็บไว้ใน LNP), ***ARCoV*** ซึ่งพัฒนาโดย Academy of Military Science [16], Walvax Biotechnology Co., Ltd. และ Suzhou Abogen Biosciences โดย mRNA ที่ออกแบบเพื่อแปลรหัสได้เป็น RBD (กักเก็บไว้ใน LNP)[17], ***CoV2SAM*** ที่พัฒนาโดยบริษัท GSK (GlaxoSmithKline), ***HDT-301*** ที่พัฒนาโดยบริษัท SENAI CIMATEC โดยวัคซีนจะถูกกักเก็บอยู่ใน Lipid-Inorganic Nanoparticle (LION™) และเนื่องจากพบการกลายพันธุ์ของไวรัสโคโรนา 2019 บริษัท Moderna และ NIAID จึงพัฒนา ***mRNA-1273.351*** ซึ่งพัฒนาจาก S protein ของไวรัสโคโรนา 2019 สายพันธุ์ B.1.351 หรือสายพันธุ์แอฟริกาใต้ (มีตำแหน่งที่กลายพันธุ์จากเดิม หรือสายพันธุ์ B.1 บริเวณ S protein ได้แก่ K417N, E484K และN501Y) เพราะจากการศึกษาถึงวัคซีน mRNA-1273 ต่อสายพันธุ์ B.1.351 พบว่าประสิทธิภาพในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันลดลง[18] จึงพัฒนาวัคซีนที่น่าจะป้องกันสายพันธุ์แอฟริกาได้ดีกว่า โดยจะทำการศึกษาดังนี้ a) การให้ mRNA-1273.351 หลังจากได้ mRNA-1273 ครบ 2 ครั้งแล้ว หรือเป็นการ boost ในเข็มที่ 3 b) การให้ mRNA-1273.351 อย่างเดียว 2 ครั้ง c) การให้ mRNA-1273 ครั้งแรก แล้วตามด้วย mRNA-1273.351 ครั้งที่ 2 d) การให้วัคซีนทั้ง 2 ชนิดร่วมกันในครั้งแรกและครั้งที่ 2 (mRNA-1273 + mRNA-1273.351) และศึกษาถึงขนาดที่ให้แตกต่างกันด้วย รวมทั้งกำลังพัฒนาวัคซีน ***mRNA-1283*** ที่มีขนาดสั้นกว่า ***mRNA-1273*** สามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิในตู้เย็นได้ (refrigerator stable vaccine) อาจใช้เป็น booster หลังจากได้รับวัคซีน ***mRNA-1273*** แล้ว บริษัท Elixirgen Therapeutics Inc. ได้พัฒนาวัคซีน ที่สามารถเพิ่มจำนวนได้ภายในอุณหภูมิใต้ผิวหนัง

(33 องศาเซลเซียส) หรือ temperature sensitive, self-replicating mRNA (srRNAts) ชื่อวัคซีน ***EXG-5003*** ซึ่งคาดว่าจะให้ทางใต้ผิวหนัง (intradermal; ID) ครั้งเดียว สังเคราะห์ได้โปรตีน RBD และนอกจากนี้อีกกว่า 20 วัคซีนที่กำลังศึกษาในขั้นก่อนคลินิก (pre-clinical phase) และส่วนใหญ่พัฒนาให้อยู่ในรูปแบบที่ถูกกักเก็บอยู่ใน LNP เช่นกัน

จากที่ได้กล่าวมาแล้วข้อดีของวัคซีนชนิด RNA สามารถสรุปได้ดังนี้คือ

1. สามารถสังเคราะห์ได้ภายนอกเซลล์ หรือ *in vitro* ผลิตได้จำนวนมาก
2. ขั้นตอนการผลิตไม่ซับซ้อนเท่าวิธีการผลิตหรือเพิ่มจำนวนเชื้อภายในเซลล์
3. ไม่ก่อให้เกิดการติดเชื้อ หรือก่อโรค
4. ไม่รวมเข้ากับพันธุกรรมของมนุษย์
5. สามารถกำจัดได้ภายในเซลล์

แต่ข้อจำกัดของวัคซีนชนิดนี้คือ การเก็บรักษาและการขนส่ง โดยปกติวัคซีนที่มีใช้อยู่ในปัจจุบันจะใช้ระบบการขนส่งที่เรียกว่า “ระบบลูกโซ่ความเย็น”(cold chain system) ซึ่งจะควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วง 2-8 องศาเซลเซียสตลอดการขนส่ง ตั้งแต่ถูกส่งออกจากโรงงานผลิตจนถึงผู้รับบริการวัคซีน แต่วัคซีนชนิด mRNA นี้จะต้องเก็บรักษา หรือขนส่งที่ความเย็นต่ำกว่าระบบลูกโซ่ความเย็นที่ใช้อยู่ (ข้อมูลดังตารางที่ 2) ซึ่งอาจทำให้เกิดข้อจำกัดขึ้นได้ รวมทั้งเป็นวัคซีนที่ยังไม่เคยมีการใช้มาก่อน ข้อมูลด้านความปลอดภัยในระยะยาวจึงต้องศึกษาต่อไป

ตารางที่ 2 สภาวะและระยะเวลาการเก็บรักษาวัคซีน mRNA ชนิดต่าง ๆ [11]

วัคซีน	**สภาวะการเก็บรักษา**	**ความคงตัวที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส**	**ความคงตัวที่อุณหภูมิห้อง***
BNT162b2	-90 ถึง -60 องศาเซลเซียส เก็บได้นาน 6 เดือน	1 เดือน	มากกว่า 2 ชั่วโมง (เมื่อผสมแล้ว มากกว่า 6 ชั่วโมง)
mRNA-1273	-20 องศาเซลเซียส เก็บได้นาน 6 เดือน	30 วัน	มากกว่า 12 ชั่วโมง
CVnCoV	ต่ำกว่า -60 องศาเซลเซียส เก็บได้อย่างน้อย 3 เดือน	อย่างน้อย 3 เดือน	มากกว่า 24 ชั่วโมง

*หมายเหตุ; อุณหภูมิห้องหมายถึงอุณหภูมิตั้งแต่ 2 ถึง 25 องศาเซลเซียส

เมื่อพิจารณาถึงความสามารถในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันแล้ว จะเห็นได้ว่าวัคซีน mRNA ชนิด self-amplifying จะใช้ขนาด (dose) น้อยกว่าชนิด non-replicating เพราะว่าชนิด self-amplifying สามารถเพิ่มจำนวนได้เอง และถูกเปลี่ยนเป็น S-protein ได้มากกว่า และในชนิด non-replicating ก็พบว่าวัคซีน

unmodified-mRNA ใช้ขนาดน้อยกว่า modified-mRNA เนื่องจาก unmodified-mRNA สามารถแปลรหัสโดยไรโบโซมเพื่อได้เป็น S-protein ได้ง่ายกว่าชนิด mRNA ที่มีการดัดแปร (ดังแสดงในตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ชนิดของวัคซีน mRNA และการบริหารวัคซีน[5]

วัคซีน	บริษัท	ชนิด	ขนาด (ไมโครกรัม)	วิธีการบริหาร
BNT162b2	Pfizer/BioNTech	Nucleoside modified mRNA	30	กล้ามเนื้อ 2 ครั้ง
mRNA-1273	Moderna	Nucleoside modified mRNA	100	กล้ามเนื้อ 2 ครั้ง
CVnCoV	CureVac	Unmodified mRNA	12	กล้ามเนื้อ 2 ครั้ง
MRT-5500	Sanofi Pasteur/ Translate Bio	Unmodified mRNA	7.5	กล้ามเนื้อ 2 ครั้ง
ARCT-021	Arcturus	Self-amplifying mRNA	1-10	กล้ามเนื้อ
LNP-nCoVsaRNA	Imperial College	Self-amplifying mRNA	1-10	กล้ามเนื้อ 2 ครั้ง

1.2 วัคซีนชนิด DNA (DNA vaccine) เป็นกรดนิวคลิอิกอีกชนิดหนึ่ง โดย DNA จะถูกถอดรหัสเป็น mRNA และแปลรหัสเป็นโปรตีนตามลำดับ ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว ส่วนใหญ่ของวัคซีนชนิดนี้ยังคงใช้ DNA ที่ถอดรหัสและแปลรหัสโปรตีนออกมาเป็น S protein นั่นเอง DNA มีความคงตัวที่ดีกว่า RNA ไม่ก่อโรคเช่นเดียวกับ RNA ผลิตในปริมาณมากได้ ต้นทุนการผลิตไม่สูงเท่าวิธีที่ต้องใช้เซลล์ เช่นเดียวกันกับวัคซีนชนิด mRNA แต่ DNA จะต้องเข้าไปถอดรหัสในนิวเคลียสของเซลล์ซึ่งจะต้องมีกระบวนการนำส่งที่ดี และอาจจะสามารถทำให้เกิดการกลายพันธุ์ หรือสอดแทรกเข้าไปในจีโนมหรือสารพันธุกรรมของมนุษย์ได้[19, 20]

วัคซีนชนิด DNA ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของ plasmid DNA เนื่องจากต้องผ่านเข้าไปในเซลล์ และเข้าไปในนิวเคลียส เพราะฉะนั้นการนำส่งจึงเป็นวิธีการที่สำคัญสำหรับวัคซีนชนิดนี้ (ดังแสดงในตารางที่ 4) มีวัคซีนชนิด DNA ที่อยู่ในขั้นการทดสอบทางคลินิกแล้วจำนวนประมาณ 10 วัคซีน โดยการบริหารวัคซีนก็ใช้วิธีที่แตกต่างกันมีทั้งการให้โดยการรับประทาน (oral, O) การฉีดเข้าในผิวหนัง (intradermal; ID) และการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ (intramuscular; IM) จำนวนครั้งในการให้ก็ต่างกัน มีตั้งแต่ฉีดเพียงครั้งเดียว จนถึง 3 ครั้ง ตัวอย่างของวัคซีนชนิดนี้ เช่น

- ***nCov*** หรือ ***ZyCoV-D*** พัฒนาโดยบริษัท Zydus Cadila ประเทศอินเดียเป็นวัคซีนชนิด DNA ที่กำลังทำการศึกษาทางคลินิกระยะที่ 3 โดยอยู่ในรูป plasmid DNA บริหารวัคซีนผ่านทางผิวหนัง โดยให้ 3 ครั้งคือ ครั้งแรก หลังจากนั้นอีก 28 วัน และ 56 วัน[21]

- ***INO-4800*** พัฒนาโดยบริษัท Inovio Pharmaceuticals, International Vaccine Institute และ Advaccine (SuZhou) Biopharmaceutical Co., Ltd. เป็น plasmid DNA ที่มีรหัสพันธุกรรมของ S protein

full-length บริหารผ่านทางผิวหนัง และตามด้วยการให้กระแสไฟฟ้าสั้น ๆ ด้วยเครื่อง CELLECTRA® ตรงบริเวณที่ฉีดเพื่อให้เกิดรูที่เยื่อหุ้มเซลล์ นอกจากจะช่วยนำส่งวัคซีนเข้าเซลล์ได้ดีขึ้นแล้ว การอักเสบที่เกิดขึ้นจะช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้อีกทางหนึ่งด้วย โดยให้ 2 ครั้งห่างกัน 28 วัน ซึ่งกำลังทำการศึกษาทางคลินิกระยะที่ 2/3[22]

- ***AG0301-COVID19*** ของบริษัท AnGes, TakaraBio และมหาวิทยาลัยโอซาก้า ประเทศญี่ปุ่นก็อยู่ระหว่างการศึกษาทางคลินิกระยะที่ 2/3 บริหารโดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ 2 ครั้ง ห่างกัน 14 วัน โดยครั้งแรกจะให้ขนาด 1 มิลลิกรัม และครั้งที่ 2 ในขนาด 2 มิลลิกรัม[19]

- ***bacTRL-spike*** ของบริษัท Symvivo corporation เป็นการตัดต่อพันธุกรรมของแบคทีเรียชนิดไม่อาศัยออกซิเจน ที่ไม่ก่อโรค (non-pathogenic anaerobic bacterium) *Bifidobacterium longum* แล้วใส่ DNA ที่ถอดรหัสแล้วได้เป็น S protein ของไวรัสโคโรนา 2019 ซึ่งกำลังศึกษาทางคลินิกระยะที่ 1 โดยการรับประทานเพียงครั้งเดียว[23]

นอกจากนี้มีวิธีการนำส่ง DNA วัคซีนในรูปแบบอื่น ๆ อีก เช่น

- Proteo-lipid vehicle (PLV) ในวัคซีน ***Covigenix VAX-001*** ที่พัฒนาโดย Entos Pharmaceuticals Inc. ซึ่งระบบนำส่งนี้มีชื่อว่า Fusogenix ประกอบด้วยไขมันที่มีประจุเป็นกลาง (neutral lipid) กับโปรตีน Fusion-Associated Small Transmembrane (FAST) โดยเป็นระบบนำส่งที่ใช้นำส่งกรดนิวคลิอิกเข้าสู่เซลล์

- การกระตุ้นด้วยไฟฟ้าให้เกิดรูที่ cell membrane (electroporation) เพื่อนำวัคซีน DNA ชนิดพลาสมิดเข้าสู่เซลล์ก็เป็นวิธีที่นิยมนำมาใช้ เช่นวัคซีน ***GX-19*** พัฒนาโดย Genexine Consortium ประเทศเกาหลีใต้ โดยใช้ vector pGX27 แล้วแทรก DNA ของ S protein ที่เอาส่วนของ transmembrane domain (TM) บริเวณ S2 ออก[24] บริหารทางกล้ามเนื้อ 2 เข็ม, วัคซีน ***GLS-5310*** พัฒนาโดย GeneOne Life Science, Inc. ประเทศเกาหลีใต้เช่นเดียวกัน แต่บริหารทางผิวหนัง 2 เข็ม, วัคซีน ***CORVax*** พัฒนาโดย Providence Health and Service [25] บริหารทางผิวหนัง 2 เข็ม, วัคซีน ***COVID-eVax*** พัฒนาโดย Takis และ Rottapharm Biotech จากประเทศอิตาลี บริหารทางกล้ามเนื้อ กำลังศึกษาเพื่อหาจำนวน ขนาด และระยะเวลาการให้ที่เหมาะสม และสำหรับประเทศไทยนั้นบริษัท BioNet Asia และศูนย์พัฒนาวัคซีน จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (Chula Vaccine Research Center; Chula VRC) กำลังพัฒนาวัคซีนชนิด DNA (***COVIGEN***) อยู่เช่นเดียวกัน และกำลังทำการศึกษาทางคลินิกระยะที่ 1 ที่ประเทศออสเตรเลียโดยร่วมมือกับมหาวิทยาลัยซิดนีย์[26] นอกจากนี้วัคซีนที่กำลังพัฒนาอยู่ในขั้นก่อนคลินิกอีกประมาณ 20 ชนิด ส่วนใหญ่เป็น plasmid DNA และระบบการนำส่งนิยมใช้วิธี electroporation

ตารางที่ 4 วัคซีนชนิด DNA รวมทั้งการนำส่ง DNA เข้าสู่เซลล์และนิวเคลียสเพื่อถอดรหัสและแปลรหัสเป็นโปรตีนหรือ immunogen[27]

วัคซีน	บริษัท/ผู้พัฒนา	สารก่อภูมิคุ้มกัน	ระบบนำส่ง	วิธีการบริหาร
ZyCov-D	Zydus Cadila	S-protein	plasmid	ID
INO-4800	Inovio Pharmaceuticals/ International vaccine institute	S-protein	electroporation	ID
AG0301-COVID19	AnGes/ TakaraBio/ Osaka university	S-protein	plasmid	IM
bacTRL-spike	Symvivo corporation	S-protein	*Bifidobacterium longum*	Oral
Covigenix VAX-001	Entos pharmaceuticals Inc.	S-protein	Proteo-lipid vehicle (PLV)	IM
GX-19	Genexine Consortium	S-protein	electroporation	IM

ดังที่ได้กล่าวมาว่าวัคซีน DNA เป็นวัคซีนชนิดกรดนิวคลิอิกเช่นเดียวกับวัคซีน mRNA แต่ต้องเข้าไปถอดรหัสในนิวเคลียส เพื่อให้ได้เป็น mRNA แล้วจึงแปลรหัสเป็นกรดอะมิโนและโปรตีนในไซโทพลาสซึม เพื่อเป็นตัวกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อไป แม้จะมีข้อจำกัดในเรื่องการนำส่ง DNA เข้าสู่นิวเคลียส แต่ข้อดีของ DNA ที่เหนือกว่า mRNA คือสามารถเก็บรักษาและขนส่งในระบบลูกโซ่ความเย็นได้ นั่นคือทนต่อสภาวะอากาศ หรืออุณหภูมิได้ดีกว่านั่นเอง

2. วัคซีนชนิด viral vector (viral vector vaccine) ลักษณะคล้ายวัคซีนชนิดกรดนิวคลิอิก แต่อาศัยการนำส่งโดยใช้ viral vector แบ่งเป็น non-replicating viral vector ซึ่งเป็น viral vector ที่ไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้ในเซลล์เจ้าบ้าน (host cell) และ replicating viral vector ซึ่งเป็น viral vector ที่ยังสามารถเพิ่มจำนวน หรือเจริญเติบโตได้ในเซลล์เจ้าบ้าน

2.1 non-replicating viral vector vaccine อาศัย viral vector ที่ไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้ในเซลล์เจ้าบ้าน เช่น Poxvirus, Adenovirus, Alphavirus, ไวรัสโรคเริม (herpes simplex virus) แต่ที่นิยมใช้ในการนำส่งวัคซีนคือ Adenovirus (Ad) เพราะสามารถผลิตได้ปริมาณมาก (high titers) และไวรัสไม่สามารถรวมกับสารพันธุกรรมของเซลล์เจ้าบ้าน มีความคงตัวดีทั้งกายภาพและสารพันธุกรรม ที่สำคัญสามารถติดเชื้อที่ dendritic cells จึงทำให้กระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดี ส่วนใหญ่มักจะเอาส่วน E1 ของ Ad ออกเพราะเป็นส่วนสำคัญในการเพิ่มจำนวนไวรัส และก็นำเอาส่วน E3 ออกเพื่อจะได้นำสารพันธุกรรมที่สนใจใส่เข้าไปแทน[28] ที่นิยมใช้ในการพัฒนาวัคซีน เช่น Ad5 (family C), Ad26 (family D) และ simian adenovirus (family E)[29] สำหรับวัคซีนโควิด 19 ชนิด non-replicating viral vector ที่กำลังศึกษาอยู่ในขั้นคลินิกนั้นมีประมาณ 10 วัคซีน ในจำนวนนี้วัคซีน

ส่วนใหญ่ใช้ adenovirus เป็น viral vector และวัคซีนบางส่วนใช้ modified vaccinia virus Ankara (MVA) เป็น viral vector มีวัคซีนที่กำลังศึกษาในขั้นก่อนคลินิกประมาณ 20 วัคซีน

นอกจากการใช้ไวรัส 2 ชนิดที่กล่าวมาเป็น viral vector ยังมีการใช้ไวรัสชนิดอื่น ๆ เช่น Lentivirus, Influenza virus, Sendai virus เป็นต้น การบริหารวัคซีนมีหลากหลายวิธีทั้งการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ การฉีดใต้ผิวหนัง การรับประทาน จำนวนการให้มีทั้งวัคซีนที่ให้ครั้งเดียวและวัคซีนที่ให้ 2 ครั้ง วัคซีน ***Ad5-nCoV*** (Convidecia) พัฒนาเป็นวัคซีนชนิดนี้ตัวแรกโดยบริษัท CanSino Biologics Inc ร่วมกับ Beijing Institute of Biotechnology ประเทศจีน โดยใช้ adenovirus-based type-5 (Ad5) เป็น viral vector ที่นำ DNA เข้าไปในเซลล์เพื่อไปถอดรหัสและแปลรหัสได้เป็น full-length S protein ในการศึกษาทางคลินิกระยะที่ 3 บริหารวัคซีนโดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อเพียงเข็มเดียวเท่านั้น และวัคซีนนี้นับเป็นวัคซีนตัวแรกที่อนุญาตให้ใช้แต่ภายใต้ข้อจำกัดในประเทศจีน วัคซีน ***Ad26.COV2.S*** พัฒนาโดยบริษัท Janssen Pharmaceutical โดยใช้ adenovirus vector เช่นเดียวกับ Ad5-nCoV แต่เป็น adenovirus serotype 26 (Ad26) ซึ่งกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้เช่นเดียวกับ Ad5 โดยมีข้อดีคือ Ad26 มี pre-existing immunity น้อยกว่า (มี antibody ต่อ Ad26 ในมนุษย์ก่อนได้รับวัคซีนน้อยกว่า)[29] ซึ่ง Ad26 นี้เป็นตัวนำ DNA ที่เปลี่ยนเป็น full-length S protein แต่เปลี่ยนกรดอะมิโนบริเวณที่จะถูกตัดด้วย furin ซึ่งเป็นบริเวณระหว่าง S1 และS2 จาก arginine (R) เป็น serine (S) ที่ตำแหน่ง 682 (R682S) และเป็น glycine (G) ที่ตำแหน่ง 685 (R685G) (ปกติ furin จะตัดตรงตำแหน่งของกรดอะมิโนที่เป็น RXXR) และเปลี่ยนกรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 986 จาก lysine (K) และ 987 จาก valine (V) ให้เป็นกรดอะมิโน proline (P) (K986P และ V987P) เพื่อให้โครงสร้างของ S protein อยู่ในลักษณะ prefusion หรือ S-2P [30] บริหารวัคซีนโดยฉีดเข้ากล้ามเนื้อ โดยให้เพียงเข็มเดียวเท่านั้น วัคซีนได้อนุมัติให้ใช้กรณีฉุกเฉินได้แล้วในสหรัฐอเมริกา รวมทั้งประเทศไทยก็ได้รับการอนุมัติแล้วเช่นกัน (เมื่อวันที่ 25 มีนาคม 2564)

นอกจากนี้ยังมีวัคซีน ***Gam-COVID-Vac*** (Sputnik V) ที่พัฒนาโดย Gamaleya Research Institute ร่วมกับ Health Ministry of the Russian Federation ซึ่งเป็นวัคซีนชนิด 2 เข็มแบบ prime-boost โดยใช้ Ad26 ที่นำ DNA ของ full-length S protein ฉีดเข้ากล้ามเนื้อเป็นเข็มแรก หรือ prime หลังจากนั้นอีก 21 วัน ฉีดวัคซีนที่ใช้ Ad5 ที่นำ DNA ของ full-length S protein เช่นเดียวกันเป็นเข็มที่ 2 หรือ booster[31] ซึ่งนอกจากรัสเซียแล้ว มีอีกหลายประเทศที่อนุญาตให้ใช้วัคซีนชนิดนี้ เช่น ฮังการี เลบานอน และปากีสถาน เป็นต้น

เนื่องจาก adenovirus เป็นไวรัสที่ก่อโรคได้ในมนุษย์ เพราะฉะนั้นปัญหาหรือข้อจำกัดของวัคซีนชนิดนี้อาจจะเกิดขึ้นได้ หากตรวจพบ antibody ต่อ Ad5 และ Ad26 ก่อนที่จะฉีดวัคซีน (pre-existing immunity) เพราะถ้าฉีดวัคซีนเข้าไปอาจจะถูก antibody ที่เคยมีอยู่แล้วในร่างกายจัดการกับ viral vector หรือวัคซีนนั้นได้ ***Gam-COVID-Vac*** จึงป้องกันวัคซีนถูกทำลายหรือถูกจัดการจาก pre-existing antibody ด้วยการใช้ adenovirus vector ต่างชนิดกันระหว่างเข็มแรกและเข็มที่ 2, ***AZD1222*** (ChAdOx1nCoV19, Vaxzevria) พัฒนาโดยมหาวิทยาลัยออกฟอร์ด และบริษัท AstraZeneca เป็นการใช้ adenovirus vector ที่เป็นไวรัสที่

ก่อโรคในมนุษย์ได้น้อยแต่ก่อโรคในลิงชิมแปนซี (ChAdOx1) หรือ simian adenovirus เพื่อป้องกันปัญหา pre-existing immunity ที่เกิดจาก viral vector โดยเปลี่ยนแปลงจาก chimpanzee adenovirus Y25 โดยมหาวิทยาลัยออกฟอร์ด นำรหัสพันธุกรรมของ full-length S protein เข้าไปในเซลล์[16] แนะนำให้ฉีดเข้ากล้ามเนื้อ 2 ครั้ง ห่างกัน 4-12 สัปดาห์ และเป็นวัคซีนตัวแรกที่ประเทศไทยอนุญาตให้ใช้ในกรณีฉุกเฉิน (เมื่อวันที่ 20 มกราคม พ.ศ.2564) ซึ่งได้รับการถ่ายทอดเทคโนโลยีในการผลิตจากบริษัท AstraZeneca บริษัทที่ผลิตในประเทศไทยคือ Siam Bioscience นอกจากนี้ในหลายประเทศก็อนุมัติให้ใช้ได้แล้วเช่นกัน เช่น ประเทศอินเดียมีสถาบันซีรัม (Serum Institute of India) เป็นผู้ผลิตวัคซีน AZD1222 แต่ใช้ชื่อว่า ***Covishield*** เพื่อใช้ในประเทศอินเดีย และประเทศอื่น ๆ ด้วย[32]

Gritstone oncology กำลังพัฒนาการใช้วัคซีนชนิด viral vector ร่วมกับ mRNA โดยใช้ adenovirus ในลิงชิมแปนซี ChAdV68 เป็น viral vector ที่มีรหัสพันธุกรรม S protein (และอาจร่วมกับ T cell epitope) โดยให้เป็นเข็มแรก หรือ prime และตามด้วย mRNA ชนิด SAM ที่ถูกกักเก็บไว้ใน LNP โดย mRNA แปลรหัสได้เป็น S protein (และอาจร่วมกับ T cell epitope; TCE) เป็น booster โดยฉีดเข้ากล้ามเนื้อ คือ ***ChAdV68-S (หรือ ChAdV68-S-TCE) + SAM-LNP-S (หรือ SAM-LNP-S-TCE)*** บริษัท Bharat Biotech International Limited พัฒนาวัคซีนชนิด viral vector ***BBV154*** บริหารทางจมูกหรือพ่นจมูก โดยใช้ ChAd เช่นเดียวกันเป็นตัวพารหัสพันธุกรรม S protein ซึ่งกำลังศึกษาถึงการให้เพียงครั้งเดียว วัคซีนชนิด viral vector ที่บริหารโดยการพ่นจมูกอีกชนิดที่กำลังพัฒนาอยู่โดย Altimmune Inc. ชื่อ ***AdCOVID*** โดยใช้ Ad5 เป็น viral vector พารหัสพันธุกรรมของ RBD เข้าสู่เซลล์ กำลังศึกษาถึงการให้เพียงครั้งเดียว กับการให้ 2 ครั้งเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันโดยเฉพาะการสร้าง immunoglobulin A (IgA) บริเวณเยื่อเมือก (mucosa)[10] นอกจากนี้วัคซีน ***GRAd-COV2*** พัฒนาโดย ReiThera (อิตาลี), Leukocare (เยอรมัน) และ Univercells (เบลเยียม) ใช้ simian adenovirus เช่นเดียวกับ AZD1222 แต่เป็นกอริลลา (GRAd32) โดยเอาส่วน E1, E3 (เพื่อป้องกันการเพิ่มจำนวนของ viral vector) และE4 เปลี่ยนเป็น open reading frame 6 (orf6) ของ Ad5 (เพื่ออัตราการเจริญเติบโต และปริมาณของไวรัสที่เหมาะสมในเซลล์มนุษย์) ส่วนของ S protein นั้นเป็นส่วน pre-fusion stabilized (S-2P) กำลังศึกษาถึงการฉีดเข็มเดียวบริเวณกล้ามเนื้อ[33]

นอกจากการบริหารโดยการพ่นจมูก หรือการฉีดเข้ากล้ามเนื้อแล้ว ยังมีวัคซีนที่บริหารโดยการรับประทาน เช่น วัคซีน ***VXA-CoV2-1*** พัฒนาโดย Vaxart ใช้ Ad5 เป็น viral vector พารหัสพันธุกรรมทั้ง S protein และ Nucleocapsid (N) รวมทั้งใช้สารเสริมการออกฤทธิ์ ที่กระตุ้น toll-like receptor 3 (TLR3) ซึ่งเป็น RNA สายคู่ (dsRNA) โดยใช้เทคโนโลยีในการผลิตที่เรียกว่า Vector-Adjuvant Antigen Standardized Technology (VAAST) กำลังศึกษาถึงขนาดที่เหมาะสม เป็นยาเม็ดสำหรับรับประทาน (oral tablet) จะให้ครั้งเดียว หรือ 2 ครั้ง และวัคซีน ที่พัฒนาโดยบริษัท ImmunityBio Inc. เป็นการใช้ Ad5 เช่นเดียวกัน (นอกจากเอาส่วน E1 และ E3 ออกแล้ว ยังเอาส่วน E2b ออกด้วย หรือเรียกว่า hAd5) และใช้รหัสพันธุกรรมทั้ง S protein (S-fusion) และ

N เช่นเดียวกันแต่ต่อกับ Enhanced T cell Stimulation Domain (N-ETSD) หรือวัคซีน ***hAd5-S-Fusion + N-ETSD*** โดยบริหารวัคซีนโดยการฉีดใต้ผิวหนัง (SC) เข็มแรก และการอมใต้ลิ้น (sublingual) เป็นครั้งที่ 2

Viral vector ที่กล่าวมาข้างต้นนิยมใช้ adenovirus vector เป็นส่วนใหญ่ แต่นอกจากนี้ยังมีการใช้ Modified Vaccinia Ankara (MVA) vector ซึ่งมีข้อดีทั้งในแง่ความสามารถในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่ดี มีความปลอดภัย มีความคงตัวดี ผลิตได้ปริมาณสูงในโรงงาน ถ้าทำเป็นผงแห้ง (lyophilized powder) สามารถเก็บที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสได้นานกว่า 2 สัปดาห์ แต่ถ้าเก็บที่ 4 องศาเซลเซียสเก็บได้นานเป็นปี สามารถใส่สารพันธุกรรมได้ใหญ่มากกว่า 10 กิโลเบส (kb) และเมื่อกระตุ้นการสร้างสารภูมิต้านทานหรือแอนติบอดี จะยังอยู่ในร่างกายได้นานกว่า 6 เดือน มีตัวอย่างวัคซีนที่ใช้ MVA vector ทั้งป้องกันการติดเชื้อ และในโรคมะเร็งที่กำลังพัฒนา[34] ตัวอย่างวัคซีนโควิดที่ใช้ MVA vector เช่น วัคซีน ***MVA-SARS-2-S*** ที่พัฒนาโดยมหาวิทยาลัยมิวนิค (Ludwig-Maximilian) ประเทศเยอรมนี วัคซีน ***COH04S1*** ซึ่งพัฒนาโดย City of Hope Medical Center และ National Cancer Institute สหรัฐอเมริกา โดย ***MVA-SARS-2-S*** ใช้เฉพาะส่วนสารพันธุกรรม S protein[35] แต่ ***COH04S1*** ใช้ทั้งสารพันธุกรรม S protein และ N ของไวรัสโคโรนา 2019[36] ซึ่งทั้ง 2 วัคซีนบริหารโดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ 2 เข็ม โดยกำลังศึกษาถึงขนาดที่เหมาะสม นอกจากนี้ยังมีวัคซีน ***COVIVAC*** ที่พัฒนาโดย Institute of Vaccines and Medical Biologicals ประเทศเวียดนามซึ่งได้รับการสนับสนุนจากองค์กร PATH เช่นเดียวกับวัคซีนเชื้อตายขององค์การเภสัชกรรมและมหาวิทยาลัยมหิดล หรือวัคซีน ***NDV-HXP-S*** ซึ่งใช้ Newcastle disease virus เป็น viral vector โดยสารพันธุกรรมที่ใช้นั้นเป็น S protein แต่อยู่ในรูปแบบที่มี proline 6 ตำแหน่ง หรือ Hexapro เช่นเดียวกัน โดยจะศึกษาถึงการใช้หรือไม่ใช้ CpG1018 ซึ่งเป็นสารเสริมการออกฤทธิ์ร่วมด้วย บริหารทางกล้ามเนื้อ 2 เข็ม ห่างกัน 28 วัน วัคซีน ***SC-Ad6-1*** เป็นวัคซีนที่ใช้ single-cycle Ad6 (SC-Ad6) เป็น viral vector โดยทำการเปลี่ยนแปลง Ad6 (ซึ่งพบ pre-existing immunity น้อยมากในมนุษย์) ยังคงส่วน E1 ไว้ เพื่อให้ไวรัสสามารถเพิ่มจำนวนได้ ตัดส่วน E3 ออกเพื่อใส่สารพันธุกรรมที่ต้องการลงไป การยังคงส่วน E1 ไว้นั้นอาจจะทำให้เกิดการติดเชื้อจากตัว viral vector ได้ แต่พบว่าถ้าเอาส่วนโปรตีน IIIa (ซึ่งเป็นเหมือนตัวเชื่อมส่วนเปลือกนอกของ Ad6) จะไม่ทำให้เกิดการติดเชื้อจาก viral vector ได้[37] วัคซีนนี้พัฒนาโดย Tetherex Pharmaceuticals Corporation

3.2 replicating viral vector vaccine อาศัย viral vector ที่สามารถเพิ่มจำนวนได้ในเซลล์เจ้าบ้าน เช่น ไวรัสโรคหัด (measles virus), ไวรัสไข้หวัดใหญ่ (influenza virus), vesicular stomatitis virus (VSV) และ horse pox virus วัคซีน ***V591-001*** (TMV-083) เป็นวัคซีนตัวแรกของวัคซีนชนิดนี้ โดยใช้ไวรัสโรคหัด เป็น viral vector พา immunogen เข้าสู่เซลล์ พัฒนาโดยบริษัท Merck & co., Themis, Sharp & Dohme, Institute of Pasteur และมหาวิทยาลัย Pittsburgh แต่ได้ยุติการวิจัยเป็นที่เรียบร้อยแล้ว หลังได้ทดสอบทางคลินิกระยะที่ 1 แล้วพบว่ากระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ไม่ดี Merck & co จึงตัดสินใจไม่ทำการศึกษาต่อ[38] วัคซีน ***DelNS1-2019-nCoV-RBD-OPT1*** พัฒนาโดยมหาวิทยาลัยฮ่องกง มหาวิทยาลัยเซี่ยเหมิน และ Beijing Wantai Biological Pharmacy โดยตัด non-structural 1 (NS1) gene แล้วใส่ส่วนของ RBD ของไวรัส

โคโรนา 2019 เข้าไปโดยมีไวรัสไข้หวัดใหญ่เป็นตัวพารหัสพันธุกรรมนี้เข้าไปในเซลล์ ปัจจุบันกำลังศึกษาอยู่ทางคลินิกระยะที่ 2 บริหารโดยการพ่นจมูกครั้งเดียว[39, 40] วัคซีน ***rVSV-SARS-CoV-2-S*** ใช้ Vesicular Stomatitis Virus (VSV) ซึ่งเป็น negative single strand RNA (-ssRNA) เป็นตัวพาโดยเปลี่ยนส่วน glycoprotein (G) ของ VSV ให้เป็น S protein ของไวรัสโคโรนา 2019 พัฒนาโดย Israel Institute of Biological Research บริหารโดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อเข็มเดียว[41, 42] เช่นเดียวกับวัคซีน ***AdCLD-CoV19*** ซึ่งฉีดเข้ากล้ามเนื้อเข็มเดียวพัฒนาโดย Cellid Co., Ltd. ใช้ chimeric adenovirus type5 และ 35 (rAd5/35) เป็นตัวพาสารพันธุกรรมส่วน S protein เข้าสู่เซลล์ การที่ใช้ chimeric หรือ 2 สายพันธุ์ผสมกันเพื่อแก้ปัญหา pre-existing immunity ต่อ Ad5 โดยเปลี่ยนส่วน capsid โดยเฉพาะส่วน fiber ของ Ad5 ให้เป็นส่วนของ Ad35 แทนเพื่อลดปัญหาการจดจำ antibody ต่อ Ad5 [43]

ตารางที่ 5 ตัวอย่างวัคซีนชนิด viral vector และการบริหารวัคซีน

วัคซีน	Viral vector	วิธีการบริหาร	จำนวนครั้ง
Non-replicating viral vector			
Ad5-nCoV	Adenovirus (Ad5)	IM	1
Ad26.COV2.S	Adenovirus (Ad26)	IM	1
Gam-COVID-Vac	Adenovirus (Ad5+Ad26)	IM	2
AZD1222	Adenovirus (ChAdOx1)	IM	2
ChAdV68-S + SAM-LNP-S	Adenovirus (ChAdV68)	IM	2 or 3
BBV154	Adenovirus (ChAd)	IN	1
Ad-COVID	Adenovirus (Ad5)	IN	1 or 2
GRAd-COV2	Adenovirus (GRAd32)	IM	1
VXA-CoV2-1	Adenovirus (Ad5)	Oral	1
hAd5-S-Fusion + N-ETSD	Adenovirus (Ad5)	SC + SL	2
MVA-SARS-2-S	Modified Vaccinia Ankara	IM	2
COH04S1	Modified Vaccinia Ankara	IM	2
COVIVAC	Newcastle disease virus	IM	2
SC-Ad6-1	Adenovirus (Ad6)	IM	1 or 2
Replicating viral vector			
V591-001	Measle	IM	1 or 2
DelNS1-2019-nCoV-RBD-OPT1	Influenza	IN	1
rVSV-SARS-CoV-2-S	Vesicula Stomatitis Virus	IM	1
AdCLD-CoV19	Chimeric adenovirus (rAd5/35)	IM	1

หมายเหตุ; IM = intramuscular, IN = intranasal, SC = subcutaneous, SL = sublingual

นอกจากวัคซีนชนิดใช้ viral vector เป็นตัวพาสารพันธุกรรมเข้าเซลล์เจ้าบ้านดังที่ได้กล่าวมาแล้ว ยังมีการใช้วัคซีนชนิดนี้นำส่งสารพันธุกรรมของไวรัสโคโรนา 2019 ซึ่งเรียกว่า viral minigene (ถอดรหัสแปลรหัสออกมาเป็นส่วนต่าง ๆ ของ ไวรัสโคโรนา 2019) ร่วมกับ immune modulatory genes เพื่อกระตุ้น dendritic cell (DC) ที่เป็น antigen presenting cell (APC) พัฒนาโดย Shenzhen Geno-Immune Medical Institute ในประเทศจีน โดยใช้ lentiviral vector ทั้งชนิด replicating (***COVID-19/aAPC***) และ non-replicating (***LV-SMENP-DC***) โดย replicating บริหารวัคซีนในรูปแบบใต้ผิวหนัง (SC) 3 ครั้ง ครั้งแรกวันที่ 0, วันที่ 14 และวันที่ 28 ซึ่งกำลังศึกษาทางคลินิกระยะที่ 1 และสำหรับ non-replicating นั้นบริหารวัคซีนในรูปแบบใต้ผิวหนัง หรือฉีดเข้าหลอดเลือดดำ (intravenous injection; IV) โดยให้ครั้งเดียวกำลังศึกษาทางคลินิกระยะที่ 1/2[21, 44] นอกจากนี้ยังมีวัคซีน ***AV-COVID-19*** ที่พัฒนาโดย AIVITA Biomedical Inc., National Institute of Health Research and Development, Ministry of Health Republic of Indonesia โดยใช้ dendritic cell ของตัวเอง (autologous DC) ร่วมกับ antigen จากไวรัสโคโรนา 2019 ซึ่งอาจจะให้หรือไม่ให้ Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF) ร่วมด้วย ใช้ viral vector แบบ replicating กำลังศึกษาอยู่ทางคลินิกระยะที่ 1/2 บริหารวัคซีนโดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อครั้งเดียว [45]

วัคซีนชนิด viral vector มีข้อดีคือ ตัว viral vector เองสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ด้วย หรือช่วยเป็นสารเสริมการออกฤทธิ์ไปด้วย[46] และสามารถพาสารพันธุกรรมเข้าไปในเซลล์มนุษย์ได้ สามารถสอดแทรกสารพันธุกรรมเข้าไปใน viral vector ได้ ผลิตในปริมาณที่มากได้ อีกทั้งเมื่อผลิตเป็นวัคซีนแล้ว สามารถเก็บรักษาและขนส่งด้วยวิธีเดียวกับวัคซีนที่มีใช้ในปัจจุบัน ด้วยระบบลูกโซ่ความเย็นนั่นเอง การบริหารวัคซีนทำได้หลายรูปแบบ รวมทั้งรูปแบบที่ไม่ต้องใช้เข็มฉีดยา (needleless) เช่น การรับประทาน การพ่นจมูก และชนิด replicating viral vector ก็อาจจะให้เพียงครั้งเดียวก็เพียงพอในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันแล้ว แต่ข้อจำกัดของวัคซีนชนิดนี้ก็คือถ้าใช้ในคนที่มี antibody ต่อ viral vector บางชนิดแล้ว (pre-existing immunity) วัคซีนที่ใช้ viral vector ชนิดนั้นอาจทำให้วัคซีนใช้ไม่ได้ผล รวมทั้งตัว viral vector เองอาจจะก่อโรคหรือทำให้เกิดการอักเสบ (inflammation) ได้ และบางวัคซีนหลังจากฉีดแล้วอาจทำให้เกิดอาการข้างเคียงที่รุนแรง เช่น ภาวะลิ่มเลือดอุดตันซึ่งเกี่ยวข้องกับการมีเกล็ดเลือดต่ำหลังจากได้รับวัคซีน (vaccine-induced immune thrombotic thrombocytopenia; VITT) [47, 48] โอกาสการเกิดประมาณ 1 คนใน 100,000 คน โดยพบแอนติบอดีต่อสารประกอบระหว่าง platelet factor 4 (PF4) กับสารหลายประจุลบ (polyanion) ซึ่งพบเฉพาะกับวัคซีนชนิด viral vector ยังไม่พบในวัคซีนชนิดอื่น และจะต้องค้นหาสาเหตุที่แท้จริงต่อไป [49]

สุดท้ายนี้จึงขอสรุปข้อดี และข้อจำกัดของวัคซีนโควิด 19 ทุกชนิดเพื่อให้เห็นข้อแตกต่างของวัคซีนแต่ละชนิดได้เข้าใจมากขึ้นดังแสดงในตารางที่ 6 ดังนี้

ตารางที่ 6 ข้อดี และข้อจำกัดของวัคซีนแต่ละ platform[20, 50-53]

ชนิดวัคซีน	ข้อดี	ข้อจำกัด
เชื้อเป็นอ่อนฤทธิ์	• กระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดีมาก คล้ายธรรมชาติ • ให้เพียงครั้งเดียว และภูมิคุ้มกันอยู่ได้นาน • มีใช้มานาน ทราบถึงข้อดี ข้อเสียอย่างดี รวมทั้งวิธีการผลิต • Multivalent • ไม่จำเป็นต้องใช้ adjuvant ช่วย	• ยังสามารถก่อโรคได้ ต้องระวังในคนที่ภูมิคุ้มกันต่ำ • ใช้เวลาในการพัฒนา และการผลิต • ผลิตในสถานที่ที่มี biosafety class 3
เชื้อตาย	• กระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดี • ปลอดภัยกว่าเชื้อเป็นอ่อนฤทธิ์ เพราะไม่ก่อโรค • มีใช้มานาน ทราบถึงข้อดี ข้อเสียอย่างดี รวมทั้งวิธีการผลิต	• ต้องใช้ adjuvant ช่วย • ผลิตในสถานที่ที่มี biosafety class 3 • อาจต้องให้ซ้ำ (booster) • กระบวนการ inactivate อาจทำให้ความเป็นสารก่อภูมิลดลง • ไม่กระตุ้น cellular immunity
ชิ้นส่วนโปรตีน	• มีความปลอดภัย (รวมทั้งในกระบวนการผลิต) • ไม่ก่อโรค • กระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดี	• ต้องใช้ adjuvant ช่วย • อาจต้องให้ซ้ำ • ไม่กระตุ้น cellular immunity
VLP	• มีความปลอดภัย • ไม่ก่อโรค • คล้ายการติดเชื้อในธรรมชาติ	• ต้องใช้ adjuvant ช่วย • อาจต้องให้ซ้ำ • ไม่กระตุ้น cellular immunity
mRNA	• ผลิตได้เร็ว ต้นทุนไม่สูง • มีความปลอดภัย • กระตุ้นได้ทั้ง cellular immunity และ humoral immunity	• อาจต้องให้ซ้ำ • อุณหภูมิที่จัดเก็บ และขนส่ง (อุณหภูมิต่ำกว่าห่วงโซ่ความเย็น) ความคงตัว • อาจเกิดการอักเสบ • เป็นเทคโนโลยีใหม่ ยังมีข้อมูลน้อย
DNA	• ผลิตได้เร็ว ต้นทุนไม่สูง • มีความปลอดภัย • กระตุ้นได้ทั้ง cellular immunity และ humoral immunity • มีความคงตัว ดีกว่า mRNA	• อาจต้องให้ซ้ำ • การนำส่งวัคซีนค่อนข้างยุ่งยาก เพราะต้องไปถึงนิวเคลียส • อาจรวมกับสารพันธุกรรมของเจ้าบ้าน • เป็นเทคโนโลยีใหม่ ยังมีข้อมูลน้อย
Viral vector	• อาจให้แค่ครั้งเดียว • กระตุ้นได้ทั้ง cellular immunity และ humoral immunity • มีข้อมูลในการนำส่งสารพันธุกรรม ในการรักษา (gene therapy) • คล้ายการติดเชื้อตามธรรมชาติ	• การผลิตมีขั้นตอนที่ยุ่งยาก • อาจเกิด pre-existing immunity ต่อ viral vector • อาจรวมกับสารพันธุกรรมของเจ้าบ้าน • อาจเกิดการอักเสบ

บทสรุป

จากที่ได้กล่าวมาทั้งหมด บทความนี้ให้ความสำคัญไปที่ชนิดของวัคซีน โดยเฉพาะ antigen หรือ immunogen และกล่าวถึงส่วนประกอบอื่น ๆ ในวัคซีนด้วย โดยเฉพาะ adjuvant ซึ่งจะเห็นได้ว่าเนื่องจากเทคโนโลยีที่ทันสมัยมากขึ้น จึงทำให้มีวัคซีนในรูปแบบใหม่ ๆ มาใช้มากขึ้น รวมทั้ง adjuvant และวิธีนำส่งและการบริหารวัคซีนในรูปแบบใหม่ ๆ ด้วย ปัจจุบันมีวัคซีนสำหรับโควิด 19 หลายชนิด วัคซีนที่องค์การอนามัยโลก (WHO) ได้บรรจุอยู่ในบัญชีรายชื่อที่อนุมัติให้ใช้ในกรณีฉุกเฉิน (Emergency Use List; EUL) ได้แก่ วัคซีนที่พัฒนาโดยบริษัท Pfizer/BioNtech ชนิด mRNA หรือ ***BNT162b2*** (เมื่อวันที่ 31 ธันวาคม พ.ศ.2563), วัคซีนที่พัฒนาโดยบริษัท Astra Zeneca/Oxford ชนิด non-replicating viral vector ทั้งที่ผลิตโดย SK Bioscience ประเทศเกาหลีใต้ หรือ ***AZD1222*** และSerum Institute of India ประเทศอินเดีย หรือ ***Covishield*** (เมื่อวันที่ 15 กุมภาพันธ์ พ.ศ.2564), วัคซีนที่พัฒนาโดยบริษัท Janssen (Johnson & Johnson) ชนิด non-replicating viral vector หรือ ***Ad26.COV2.S*** (เมื่อวันที่ 12 มีนาคม พ.ศ.2564), วัคซีนที่พัฒนาโดยบริษัท Moderna ชนิด mRNA หรือ ***mRNA-1273*** (เมื่อวันที่ 30 เมษายน พ.ศ.2564) และวัคซีนที่พัฒนาโดยบริษัท Sinopharm ชนิด inactivated หรือ ***BBIBP-CorV*** (เมื่อวันที่ 7 พฤษภาคม พ.ศ.2564) (ข้อมูลจาก https: / / www. who. int/ news/ item/ 07- 05- 2021- who- lists- additional- covid- 19- vaccine- for- emergency-use-and-issues-interim-policy-recommendations ข้อมูล ณ วันที่ 7 พฤษภาคม พ.ศ.2564)

ในหลายประเทศก็มีการอนุมัติวัคซีนให้ใช้ในกรณีฉุกเฉินเช่นกัน เช่น วัคซีน ***BNT162b2***, ***mRNA-1273*** ซึ่งเป็นวัคซีนชนิด mRNA ที่อยู่ภายใน LNP องค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกา (US-FDA) อนุมัติให้ใช้ในกรณีฉุกเฉินได้ (emergency use authorization; EUA) EMA ฝั่งยุโรปก็ได้อนุมัติให้ใช้วัคซีน 2 วัคซีนนี้เช่นเดียวกัน รวมทั้งวัคซีน ***AZD1222*** ซึ่งเป็นวัคซีนชนิด non-replicating viral vector นอกจากนี้ยังมีวัคซีนอื่น ๆ ที่อนุมัติให้ใช้ในประเทศอื่น ๆ อีก เช่น ***Ad5-nCoV***, ***Sputnik V***, ***Covishield*** (หรือ AZD1222 ที่ผลิตในอินเดีย) ซึ่งเป็นวัคซีนชนิด non-replicating viral vector ***Covaxin***, ***BBIBP-CorV***, ***CoronaVac*** ซึ่งเป็นวัคซีนชนิด inactivated และ ***EpiVacCorona*** ซึ่งเป็นวัคซีนชนิด protein subunit สำหรับในประเทศไทยเองนั้น สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) ก็ได้อนุมัติให้ใช้ ***AZD1222*** เป็นตัวแรก ตามมาด้วย ***CoronaVac*** และ ***Ad26.COV2.S*** โดยอนุมัติให้ใช้ในกรณีฉุกเฉินได้ เป็นเวลา 1 ปี

การกระตุ้นภูมิคุ้มกันของวัคซีนแต่ละ platform มีจุดมุ่งหมายหลักเพื่อต้องการกระตุ้นภูมิคุ้มกันชนิด adaptive immune system โดยกระตุ้นให้ B cell สร้างแอนติบอดีมาจัดการหรือทำลายเชื้อโรค (neutralizing antibodies) โดยมี memory B cell ช่วยจดจำ เมื่อมีเชื้อโรคเข้ามาในร่างกายอีกครั้ง ก็จะสร้างแอนติบอดีได้อย่างรวดเร็วและจำเพาะต่อเชื้อโรคชนิดนั้น ๆ และนอกจากนี้อาจจะกระตุ้นผ่าน antigen presenting cell เพื่อกระตุ้น T-helper cell ($CD4^+$ T cell) โดยจะไปกระตุ้น B cell ให้สร้างแอนติบอดีได้อีกทางนึงด้วย และสำหรับวัคซีนบาง platform เช่น เชื้อเป็นอ่อนฤทธิ์, mRNA, DNA และ viral vector สามารถกระตุ้น Cytotoxic T cell ($CD8^+$ T cell) ได้ด้วย[50-52]

เอกสารอ้างอิง

1. Dhuri K, Bechtold C, Quijano E, Pham H, Gupta A, Vikram A, et al. Antisense Oligonucleotides: An Emerging Area in Drug Discovery and Development. Journal of clinical medicine. 2020;9(6).

2. Levin AA. Treating Disease at the RNA Level with Oligonucleotides. The New England journal of medicine. 2019;380(1):57-70.

3. 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).

4. Vellingiri B, Jayaramayya K, Iyer M, Narayanasamy A, Govindasamy V, Giridharan B, et al. COVID-19: A promising cure for the global panic. Science of The Total Environment. 2020;725:138277.

5. Buschmann MD, Carrasco MJ, Alishetty S, Paige M, Alameh MG, Weissman D. Nanomaterial Delivery Systems for mRNA Vaccines. Vaccines. 2021;9(1).

6. Jackson NAC, Kester KE, Casimiro D, Gurunathan S, DeRosa F. The promise of mRNA vaccines: a biotech and industrial perspective. NPJ vaccines. 2020;5(1):11.

7. Blakney AK, Ip S, Geall AJ. An Update on Self-Amplifying mRNA Vaccine Development. Vaccines. 2021;9(2).

8. Zeng C, Zhang C, Walker PG, Dong Y. Formulation and Delivery Technologies for mRNA Vaccines. Current topics in microbiology and immunology. 2020.

9. Ndeupen S, Qin Z, Jacobsen S, Estanbouli H, Bouteau A, Igyártó BZ. The mRNA-LNP platform's lipid nanoparticle component used in preclinical vaccine studies is highly inflammatory. bioRxiv : the preprint server for biology. 2021.

10. King RG, Silva-Sanchez A, Peel JN, Botta D, Meza-Perez S, Allie R, et al. Single-dose intranasal administration of AdCOVID elicits systemic and mucosal immunity against SARS-CoV-2 in mice. bioRxiv : the preprint server for biology. 2020.

11. Crommelin DJA, Anchordoquy TJ, Volkin DB, Jiskoot W, Mastrobattista E. Addressing the Cold Reality of mRNA Vaccine Stability. Journal of pharmaceutical sciences. 2021;110(3):997-1001.

12. Jackson LA, Anderson EJ, Rouphael NG, Roberts PC, Makhene M, Coler RN, et al. An mRNA Vaccine against SARS-CoV-2 - Preliminary Report. The New England journal of medicine. 2020;383(20):1920-31.

13. Walsh EE, Frenck RW, Jr., Falsey AR, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, et al. Safety and Immunogenicity of Two RNA-Based Covid-19 Vaccine Candidates. The New England journal of medicine. 2020;383(25):2439-50.

14. Kalnin KV, Plitnik T, Kishko M, Zhang J, Zhang D, Beauvais A, et al. Immunogenicity and efficacy of mRNA COVID-19 vaccine MRT5500 in preclinical animal models. NPJ vaccines. 2021;6(1):61.

15. de Alwis R, Gan ES, Chen S, Leong YS, Tan HC, Zhang SL, et al. A single dose of self-transcribing and replicating RNA-based SARS-CoV-2 vaccine produces protective adaptive immunity in mice. Mol Ther. 2021.

16. van Doremalen N, Lambe T, Spencer A, Belij-Rammerstorfer S, Purushotham JN, Port JR, et al. ChAdOx1 nCoV-19 vaccine prevents SARS-CoV-2 pneumonia in rhesus macaques. Nature. 2020;586(7830):578-82.

17. Zhang NN, Li XF, Deng YQ, Zhao H, Huang YJ, Yang G, et al. A Thermostable mRNA Vaccine against COVID-19. Cell. 2020;182(5):1271-83.e16.

18. Edara VV, Norwood C, Floyd K, Lai L, Davis-Gardner ME, Hudson WH, et al. Infection- and vaccine-induced antibody binding and neutralization of the B.1.351 SARS-CoV-2 variant. Cell host & microbe. 2021;29(4):516-21.e3.

19. Silveira MM, Moreira G, Mendonça M. DNA vaccines against COVID-19: Perspectives and challenges. Life sciences. 2021;267:118919.

20. Funk CD, Laferrière C, Ardakani A. A Snapshot of the Global Race for Vaccines Targeting SARS-CoV-2 and the COVID-19 Pandemic. Frontiers in pharmacology. 2020;11:937.

21. Rego GNA, Nucci MP, Alves AH, Oliveira FA, Marti LC, Nucci LP, et al. Current Clinical Trials Protocols and the Global Effort for Immunization against SARS-CoV-2. Vaccines. 2020;8(3).

22. Tebas P, Yang S, Boyer JD, Reuschel EL, Patel A, Christensen-Quick A, et al. Safety and immunogenicity of INO-4800 DNA vaccine against SARS-CoV-2: A preliminary report of an open-label, Phase 1 clinical trial. EClinicalMedicine. 2021;31:100689.

23. Alturki SO, Alturki SO, Connors J, Cusimano G, Kutzler MA, Izmirly AM, et al. The 2020 Pandemic: Current SARS-CoV-2 Vaccine Development. Frontiers in immunology. 2020;11:1880.

24. Seo YB, Suh YS, Ryu JI, Jang H, Oh H, Koo BS, et al. Soluble Spike DNA Vaccine Provides Long-Term Protective Immunity against SARS-CoV-2 in Mice and Nonhuman Primates. Vaccines. 2021;9(4).

25. Jensen S, Twitty C, Paustian C, Laws M, McDonnell G, Wegmann K, et al. 480 Preliminary evaluation of a novel coronavirus vaccine (CORVax) using electroporation of plasmid DNA encoding a stabilized prefusion SARS-CoV-2 spike protein alone or with transfection of plasmid IL-12. Journal for ImmunoTherapy of Cancer. 2020;8(Suppl 3):A296-A.

26. Prompetchara E, Ketloy C, Tharakhet K, Kaewpang P, Buranapraditkun S, Techawiwattanaboon T, et al. DNA vaccine candidate encoding SARS-CoV-2 spike proteins elicited potent humoral and Th1 cell-mediated immune responses in mice. PloS one. 2021;16(3):e0248007.

27. Park KS, Sun X, Aikins ME, Moon JJ. Non-viral COVID-19 vaccine delivery systems. Advanced drug delivery reviews. 2021;169:137-51.

28. Robert-Guroff M. Replicating and non-replicating viral vectors for vaccine development. Current opinion in biotechnology. 2007;18(6):546-56.

29. Chen H, Xiang ZQ, Li Y, Kurupati RK, Jia B, Bian A, et al. Adenovirus-based vaccines: comparison of vectors from three species of adenoviridae. Journal of virology. 2010;84(20):10522-32.

30. Bos R, Rutten L, van der Lubbe JEM, Bakkers MJG, Hardenberg G, Wegmann F, et al. Ad26 vector-based COVID-19 vaccine encoding a prefusion-stabilized SARS-CoV-2 Spike immunogen induces potent humoral and cellular immune responses. NPJ vaccines. 2020;5:91.

31. Logunov DY, Dolzhikova IV, Zubkova OV, Tukhvatulin AI, Shcheblyakov DV, Dzharullaeva AS, et al. Safety and immunogenicity of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine in two formulations: two open, non-randomised phase 1/2 studies from Russia. Lancet (London, England). 2020;396(10255):887-97.

32. Sah R, Shrestha S, Mehta R, Sah SK, Rabaan AA, Dhama K, et al. AZD1222 (Covishield) vaccination for COVID-19: Experiences, challenges, and solutions in Nepal. Travel Med Infect Dis. 2021;40:101989.

33. Capone S, Raggioli A, Gentile M, Battella S, Lahm A, Sommella A, et al. Immunogenicity of a new gorilla adenovirus vaccine candidate for COVID-19. Mol Ther. 2021.

34. Routhu NK, Cheedarla N, Gangadhara S, Bollimpelli VS, Boddapati AK, Shiferaw A, et al. A modified vaccinia Ankara vector-based vaccine protects macaques from SARS-CoV-2 infection, immune pathology, and dysfunction in the lungs. Immunity. 2021;54(3):542-56.e9.
35. Förster R, Fleige H, Sutter G. Combating COVID-19: MVA Vector Vaccines Applied to the Respiratory Tract as Promising Approach Toward Protective Immunity in the Lung. Frontiers in immunology. 2020;11:1959.
36. Chiuppesi F, Salazar MD, Contreras H, Nguyen VH, Martinez J, Park Y, et al. Development of a multi-antigenic SARS-CoV-2 vaccine candidate using a synthetic poxvirus platform. Nature communications. 2020;11(1):6121.
37. Crosby CM, Barry MA. IIIa deleted adenovirus as a single-cycle genome replicating vector. Virology. 2014;462-463:158-65.
38. Hörner C, Schürmann C, Auste A, Ebenig A, Muraleedharan S, Dinnon KH, 3rd, et al. A highly immunogenic and effective measles virus-based Th1-biased COVID-19 vaccine. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2020;117(51):32657-66.
39. Lundstrom K. Viral Vectors for COVID-19 Vaccine Development. Viruses. 2021;13(2).
40. Chilamakuri R, Agarwal S. COVID-19: Characteristics and Therapeutics. Cells. 2021;10(2).
41. Dieterle ME, Haslwanter D, Bortz RH, 3rd, Wirchnianski AS, Lasso G, Vergnolle O, et al. A Replication-Competent Vesicular Stomatitis Virus for Studies of SARS-CoV-2 Spike-Mediated Cell Entry and Its Inhibition. Cell host & microbe. 2020;28(3):486-96.e6.
42. Yahalom-Ronen Y, Tamir H, Melamed S, Politi B, Shifman O, Achdout H, et al. A single dose of recombinant VSV-ΔG-spike vaccine provides protection against SARS-CoV-2 challenge. Nature communications. 2020;11(1):6402.
43. Yoo JH. What We Do Know and Do Not Yet Know about COVID-19 Vaccines as of the Beginning of the Year 2021. Journal of Korean medical science. 2021;36(6):e54.
44. Chakraborty C, Sharma AR, Bhattacharya M, Sharma G, Saha RP, Lee SS. Ongoing Clinical Trials of Vaccines to Fight against COVID-19 Pandemic. Immune network. 2021;21(1):e5.
45. Yan ZP, Yang M, Lai CL. COVID-19 Vaccines: A Review of the Safety and Efficacy of Current Clinical Trials. Pharmaceuticals (Basel, Switzerland). 2021;14(5).

46. Borovjagin AV, Gomez-Gutierrez JG, Shirwan H, Matthews QL. Adenovirus-Based Vectors for the Development of Prophylactic and Therapeutic Vaccines: Novel Technologies for Vaccine Development. 2014 Jul 16:203-71. doi: 10.1007/978-3-7091-1818-4_8.

47. Cines DB, Bussel JB. SARS-CoV-2 Vaccine-Induced Immune Thrombotic Thrombocytopenia. The New England journal of medicine. 2021.

48. Greinacher A, Thiele T, Warkentin TE, Weisser K, Kyrle PA, Eichinger S. Thrombotic Thrombocytopenia after ChAdOx1 nCov-19 Vaccination. The New England journal of medicine. 2021.

49. Hernández AF, Calina D, Poulas K, Docea AO, Tsatsakis AM. Safety of COVID-19 vaccines administered in the EU: Should we be concerned? Toxicology reports. 2021;8:871-9.

50. Kyriakidis NC, López-Cortés A, González EV, Grimaldos AB, Prado EO. SARS-CoV-2 vaccines strategies: a comprehensive review of phase 3 candidates. NPJ vaccines. 2021;6(1):28.

51. Li YD, Chi WY, Su JH, Ferrall L, Hung CF, Wu TC. Coronavirus vaccine development: from SARS and MERS to COVID-19. Journal of biomedical science. 2020;27(1):104.

52. Dong Y, Dai T, Wei Y, Zhang L, Zheng M, Zhou F. A systematic review of SARS-CoV-2 vaccine candidates. Signal transduction and targeted therapy. 2020;5(1):237.

53. Tregoning JS, Brown ES, Cheeseman HM, Flight KE, Higham SL, Lemm NM, et al. Vaccines for COVID-19. Clin Exp Immunol. 2020;202(2):162-92.

54. Speiser DE, Bachmann MF. COVID-19: Mechanisms of Vaccination and Immunity. Vaccines. 2020;8(3).

55. Teijaro JR, Farber DL. COVID-19 vaccines: modes of immune activation and future challenges. Nature reviews Immunology. 2021;21(4):195-7.