

OBIEKTYW

WYDANIE SPECJALNE

Marzec 2023

1/2023



SŁOWEM WSTĘPU...

od redaktora wydania specjalnego

Choć przedstawiony przeze mnie temat może wydawać się Szanownym Czytelnikom abstrakcyjny, to jednak temat badań Gain-of-Function nigdy nie był tak aktualny jak w ostatnich dwóch latach, które obfitowały nam w wirusowe nowości. Być może część z nich powstała właśnie w sposób, który przedstawiłem w artykule, który przeczytacie za chwil kilka. Niewątpliwie jeszcze wiele wirusów wywoła dla nas nieprzyjemne reperkusje i z dużą dozą prawdopodobieństwa można stwierdzić, że pewna ich część wycieknie z laboratorium. Wobec tego zapraszam na naukową dysputę o historii i zasadzie działania badań Gain-of-Function.

REDAKTOR WYDANIA

Szymon Ćmoch

REDAKCJA „Obiektywu”

Redaktorzy Naczelni

Weronika Ciach, Jan Niemczyk

Redaktor wydania specjalnego

Szymon Ćmoch

Opiekun wydania specjalnego

Joanna Grędecka

Opiekun gazetki

Agnieszka Suhecka

SZYMON ÓMOCH

Gain-of-Function.

Koło ratunkowe, czy gwóźdź do trumny ludzkości?

Gain-of-Function, czyli badania nad wzmocnieniem funkcji polegają na genetycznej modyfikacji organizmu, która ma na celu wzmocnić biologiczne funkcje produktów ekspresji genów. Choć tego typu pracom przyświeca bardzo szczytny cel - lepsze zrozumienie ewolucji, czy też „sposobu bycia” wirusów, aby stworzyć szczepionki, czy środki terapeutyczne, to nie można mieć wątpliwości, że eksperymenty z najbardziej niebezpiecznymi wirusami mogą mieć mocno opłakane skutki, a nawet wywołać apokalipsę.

Jak to działa na prawdziwych przykładach?

Funkcje wirusa, czyli zwykle jego zaraźliwość, zakaźność i śmiertelność w tego typu pracach ulegają przeważnie wzmocnieniu, co ma na celu dać nam odpowiedź na pytanie w jakim kierunku może podążać ewolucja patogenu. Oczywiście można nadać mu różnych funkcji i cech, których wcześniej nie posiadał, a które może osiąść w czasie mutacji zachodzących przy rekombinacji w komórce gospodarza. Mówię tu na przykład o takiej modyfikacji białek szczytowych, które pozwoli czynnikowi zakaźnemu na transmisję z rezerwuaru na nowego gospodarza, co przeważnie nie następuje w wyniku samorzutnej mutacji, a jeżeli już to dopiero w wyniku hybrydyzacji z innym szczepem wirusa, który jest w stanie infekować komórki danego gospodarza. Przykładowo, wirus grypy B (*Influenza B virus*) jest w stanie zainfekować tylko ludzi i foki, ale króliki na nią nie chorują¹, co wiąże się z mutacją dwóch białek hemaglutyniny (HA), które są specyficzne dla danego szczepu i umożliwiają interakcję z receptorami komórki gospodarza (H i N w oznaczeniu szczepu oznaczają hemaglutyninę i neuraminidazę, które w połączeniu z daną cyfrą są specyficzne dla określonych szczepów) oraz mutacją w genie PB2, który zwiększa zjadliwość wirusa. Co więcej szczepy H3N8 (tzw. focza grypa) i H5N1 (grypa ptasia) wykazują podobną mutację w HA. Wobec tego, gdyby zmodyfikować hemaglutyniny i neuraminidazy wirusa w taki sposób, by był on w stanie infekować króliki w warunkach laboratoryjnych, to byłoby to wzmocnienie funkcji, ponieważ wirus nie miał wcześniej takiej zdolności.

W jaki jednak sposób można zmodyfikować białka HA i glikoproteinę NA, żeby zainfekować króliki szczepem, na który nie są one podatne? Istnieje wiele metod genetycznego modyfikowania organizmów (w tym wypadku nie-organizmów, bo wirusy nie są organizmami). Przedstawię tu jednak najprostsze i najpopularniejsze metody, które stosuje się w czasie badań GoF.

Sposób I:

Endocytozę IBV do komórki gospodarza umożliwia związenie hemaglutyniny z cząsteczkami receptora komórki gospodarza pokrytych kwasem α -sialowym. Receptor ten występuje w nabłonku oddechowym zarówno ludzi, jak i fok - z tego powodu są oni podatni na infekcję wirusem. Króliki natomiast nie posiadają tego typu receptora, więc wirus nie ma fizycznej możliwości endocytozy i nie może prowadzić cyklu infekcyjnego. Wirus nie może samoczynnie zmutować tak, żeby endocytować przez inny receptor. Nie chodzi tu tylko o kształt, a bardziej o zdolność do adsorpcji białka szczytowego i receptora. Wytworzenie mutantu / chimery jest możliwe tylko w przypadku, w którym będzie w stanie przeprowadzić replikację przy udziale genów gospodarza, na którego ma nastąpić transmisja z naturalnego rezerwuaru. Z pomocą przychodzi tu jednak inżynieria genetyczna, która pozwoli nam „uczłowieczyć” (jakkolwiek absurdalnie to nie brzmi) króliki, które wówczas staną się podatne na zakażenie. Komórki nabłonka oddechowego królika muszą nabyć ludzki receptor, który umożliwi adsorpcję wirusa. Konieczne będzie jednak dostarczenie do komórek nabłonka oddechowego królika genu, którego ekspresja da

początek receptorom błonowym zawierającym kwas α -sialowy. Po uzyskaniu humanizowanych królików (z ludzkim lub foczym receptorem) trzeba będzie zarażać je seryjnie pasażowaną grypą B. Jest to jednak proces, nad którym nie mamy właściwie żadnej kontroli, bo mutacje w czasie replikacji są samoczynne i nie da się ich kontrolować w czasie rzeczywistym. Przy korzystnej dla nas (a nie korzystnej dla królika) mutacji, wirus znajdzie inną ścieżkę (tzn. inny receptor), przez który będzie infekował króliki. W scenariuszu idealnym nabyłby do tego zdolność do przenoszenia się drogą kropelkową lub powietrzną między osobnikami populacji. Jak już jednak napisałem wcześniej, proces ten jest ciężki, a wręcz prawie niemożliwy do kontrolowania w czasie rzeczywistym *in vivo*, a szansa na uzyskanie pożądanego przez nas mutantu jest również niewielka (wirus może zmutować w całkowicie nieoczekiwanym kierunku).

Sposób II:

Metodę tę ukochali sobie szczególnie naukowcy z Wuhan Institute of Virology i Uniwersytetu Bostońskiego (o tym, dlaczego, w dalszej części artykułu). Mam tu na myśli tworzenie wirusów chimerycznych z połączenia komponentów różnych wirusów. Proces ten kontrolujemy w zasadzie od początku do końca, jest on wdzięczny do prowadzenia i zwykle nie powoduje różnych nieprzewidzianych zdarzeń.

Jak ogólnie to działa? Bardzo prosto, za przykład niech posłuży ponownie królik i IBV, choć nie jest to przykład szczególnie wdzięczny, bo zwierzęta te jak na złość nie chcą na grypę chorować (i właściwie ciężko odpowiedzieć, dlaczego). Jeżeli problem leżałby w adsorpcji hemaglutyniny do receptora, to można by było rozwiązać go tą metodą bardzo prosto. Za sam rozwój infekcji odpowiada kapsyd i jego zawartość - nukleokapsyd (RNA lub DNA oraz enzymy - przede wszystkim polimerazy). Co prawda patogenami królików są głównie bakterie, jednak jest kilka wirusów, których rezerwuarem są te zwierzęta, np. kaliciwirusy, które wywołują poważną chorobę krwotoczną królików² - chorobę wybitnie zaraźliwą, której śmiertelność w postaci ostrej waha się między 80 a 100% - zgon następuje zwykle 48 godzin od zakażenia. Oczywiście natura tego wirusa jest zgoła odmienna od wirusów grypy, które zwykle nie powodują tak szybkiego zgonu gospodarza.

Wykorzystać tu można tę własność wirusa VHD, że jego naturalnym rezerwuarem są króliki, więc jest on wyspecjalizowany w infekowaniu ich komórek. IBV nie wykazuje tej własności, więc chimeryczny wirus składający się z nukleokapsydu IBV i otoczki lipoproteinowej z białkami i glikoproteinami szczytowymi VHD i byłby środkiem, który pozwoliłby zainfekować te zwierzęta ludzko-foczą grypą. Otoczka i białka szczytowe / glikoproteiny nie są istotne dla etapów cyklu infekcyjnego odbywających się we wnętrzu komórki, a mają jedynie na celu dostarczenie i adsorpcję do niej. Jak jednak wygląda to w zapisie kodonowym i aminokwasowym?

1	AUG ACG UAC GAC GAC CCU AGC GUC UCA AAC GAC GAC GAU CGU ACG UAC GAC UCG CUA GCU	60
61	GCU AUC GAC UAC GUG CAU CAG UCG CUG UAC GUG CAU AGU ACG UAC GAC UAG AUG CGA CUA	120
121	UCA ACG ACU GCU GCU ACG CUC GCU CGA CUA CGC CUA UAC ACU ACG UAC GAC GCA UAC UGC	180
181	ACC UCU ACU CGA UCA GAC UAU UCG CAC CAC UUC UAC UCG GCC UUC UGA AUG CGC AUC GUA	240
241	UGC AAG CUG ACG UCA CUA CUG AUA CGU ACA UGU CAU GAC UGC AUC ACU GAC GAC UAC UAC	300
301	UUC UAA	306

Genom wirusa A mRNA (źródło otoczki, białek szczytowych i glikoprotein)

1	AUG GAA GUA GUA GUC GUC AGU GAU GCA GUC AUG ACA UGU ACG UAU CAG AUC GGG CGU CAG	60
61	CUU GCA UAC GAU GCG UAC AUC GAA GGC CGA GUA GAA GUG GUG CGA AUA UAA AUG UCG AGU	120
121	AGA GGU GCA GUA UGC GUC GUA CGU AGU GUA CUA GCG GAC UCG AGC GAG CGU AGC AGC AGU	180
181	CGU CCC GCU UCG UAC GAA GUC GUA CGU ACU AUG CAC GUA CAG CGA UGA AUG CAC GUA GUC	240
241	GAU AGC AGC CUU CGA GUC GUA CGU ACG AUC GUC GUC GUU AUC GAC GCU AGG GUC GUC GUA	300
301	CGU UGA	306

Genom wirusa B mRNA (źródło nukleokapsydu)

Sytuację pozwolę sobie przedstawić w uproszczeniu i dosyć prostym genomie, który jest oczywiście w tym przypadku zbiorem przypadkowych aminokwasów i nie ma nic wspólnego z genomami rzeczywistych wirusów. Co więcej bardziej spostrzegawczy odbiorca zauważył pewnie, że genom wirusa B powstał w wyniku odwrotnej transkrypcji genomu wirusa A.

Genomy obu wirusów podzieliłem na trzy otwarte ramki odczytu (ORF), które rozpoczynają się metioniną (AUG dla mRNA, lub ATG dla DNA), która stanowi sygnał do rozpoczęcia translacji, a kończą kodonami terminacyjnymi - *amber*, *ochre*, lub *opal*. Zawartość każdej otwartej ramki odczytu pozwala utworzyć w translacji kompletny łańcuch polipeptydowy, a więc i białko. Kolor zielony oznacza ORF, która daje początek białkom otstonki lipoproteinowej, czerwony - elementom nukleokapsydu, a niebieski - białkom szczytowym i glikoproteinom. Po hybrydyzacji tych dwóch patogenów powstanie chimera, która będzie zawierać nukleokapsyd wirusa B i będzie otoczona otoczką, białkami i glikoproteinami wirusa A:

1	AUG ACG UAC GAC GAC CCU AGC GUC UCA AAC GAC GAC GAU CGU ACG UAC GAC UCG CUA GCU	60
61	GCU AUC GAC UAC GUG CAU CAG UCG CUG UAC GUG CAU AGU ACG UAC GAC UAG AUG UCG AGU	120
121	AGA GGU GCA GUA UGC GUC GUA CGU AGU GUA CUA GCG GAC UCG AGC GAG CGU AGC AGC AGU	180
181	CGU CCC GCU UCG UAC GAA GUC GUA CGU ACU AUG CAC GUA CAG CGA UGA AUG CGC AUC GUA	240
241	UGC AAG CUG ACG UCA CUA CUG AUA CGU ACA UGU CAU GAC UGC AUC ACU GAC GAC UAC UAC	300
301	UUC UAA	306

Genom chimery AB mRNA (produkt GoF)

Zobaczymy, jak zmieni się sekwencja aminokwasów w łańcuchu polipeptydowym:

1	Met Thr Tyr Asp Asp Pro Ser Val Ser Asn Asp Asp Asp Arg Thr Tyr Asp Ser Leu Ala	20
21	Ala Ile Asp Tyr Val His Gln Ser Leu Tyr Val His Ser Thr Tyr Asp End Met Arg Leu	40
41	Ser Thr Thr Ala Ala Thr Leu Ala Arg Leu Arg Leu Tyr Thr Thr Tyr Asp Ala Tyr Cys	60
61	Thr Ser Thr Arg Ser Asp Tyr Ser His His Phe Tyr Ser Ala Phe End Met Arg Ile Val	80
81	Cys Lys Leu Thr Ser Leu Leu Ile Arg Thr Cys His Asp Cys Ile Thr Asp Asp Tyr Tyr	100
101	Phe End	102

Sekwencja aminokwasów wirusa A (źródło otoczki, białek szczytowych i glikoprotein)

1	Met Glu Val Val Val Val Ser Asp Ala Val Met Thr Cys Thr Tyr Gln Ile Gly Arg Gln	20
21	Leu Ala Tyr Asp Ala Tyr Ile Glu Gly Arg Val Glu Val Val Arg Ile End Met Ser Ser	40
41	Arg Gly Ala Val Cys Val Val Arg Ser Val Leu Ala Asp Ser Ser Glu Arg Ser Ser Ser	60
61	Arg Pro Ala Ser Tyr Glu Val Val Arg Thr Met His Val Gln Arg End Met His Val Val	80
81	Asp Ser Ser Leu Arg Val Val Arg Thr Ile Val Val Val Ile Asp Ala Arg Val Val Val	100
101	Arg End	102

Sekwencja aminokwasów wirusa B (źródło nukleokapsydu)

1	Met Thr Tyr Asp Asp Pro Ser Val Ser Asn Asp Asp Asp Arg Thr Tyr Asp Ser Leu Ala	20
21	Ala Ile Asp Tyr Val His Gln Ser Leu Tyr Val His Ser Thr Tyr Asp End Met Ser Ser	40
41	Arg Gly Ala Val Cys Val Val Arg Ser Val Leu Ala Asp Ser Ser Glu Arg Ser Ser Ser	60
61	Arg Pro Ala Ser Tyr Glu Val Val Arg Thr Met His Val Gln Arg End Met Arg Ile Val	80
81	Cys Lys Leu Thr Ser Leu Leu Ile Arg Thr Cys His Asp Cys Ile Thr Asp Asp Tyr Tyr	100
101	Phe End	102

Sekwencja aminokwasów chimery AB (produkt GoF)

O ile zmiany zasad azotowych w kodonach nie dają aż tak jasnego spojrzenia na fakt, że hybrydyzacja istotnie zmienia wirusa jako całość, to po sekwencji aminokwasów widać, że nukleokapsydy zostały „podmienione”. Przykładowo substytucja cytozyny na adeninę i cytozyny na guaninę w pozycji 139. i 141. powoduje, że w wyniku translacji powstanie nie leucyna, a walina. Podmiana ta jest skuteczna dzięki temu, że translacja odbywa się oddzielnie w każdej otwartej ramce odczytu, a składanie następuje dopiero później.

Wirusy potomne w komórce będą więc przyjmować zmieniony nukleokapsyd jako swój i umieszczać go w otoczce lipoproteinowej, dając początek niezliczonym chimerom potomnym.

Sposób III:

Ostatniej metody nie da się odnieść do przykładu grypy i królików. Chodzi tu o mutację w kierunku swobodnej transmisji między osobnikami gatunku, który nie stanowi naturalnego rezerwuaru wirusa. Duża część chorób wirusowych to choroby odzwierzęce - tzw. zoonozy. Ich naturalnym rezerwuarem są więc dane gatunki zwierząt różne od człowieka. Ciekawym przykładem są nietoperze, które same stanowią rezerwuar wielu wirusów, jednak wirusy te nie są dla nich w ogóle szkodliwe - o ile zarażone wirusem Ebola makaki królewskie, które są również uznawane za rezerwuar Eboli, chorują i umierają tak jak ludzie, o tyle nietoperze przenoszą wirusa, nie odczuwając żadnych nieprzyjemnych konsekwencji zdrowotnych tego związku. Aby wirusy zwierzęce mogły wywołać infekcję u człowieka muszą przełamać barierę gatunkową. Oczywiście jednorazowe przełamanie nie oznacza od razu wybuchu epidemii, bo transmisja wirusa zaszła tylko na jednego osobnika. Wirus odzwierzęcy musi nabyć dodatkowo takiej mutacji, która pozwoli mu przenosić się drogą charakterystyczną dla zaatakowanego gatunku. Choć możliwa jest mutacja samoczynna, to w przypadku szczepu grypy ptasiej H5N1, która posłuży tu za przykład, konieczna byłaby jednoczesna obecność w zainfekowanym organizmie człowieka szczepu ptasiego i ludzkiego. Najpopularniejszymi podtypami ludzkiej grypy są H1N1 i H3N2, ptasiej zaś H5N1, czy H7N9. Wszystkie te podtypy są przedstawicielami gatunku *Influenza A virus* i rodzaju *Alphainfluenzavirus*.

Proces konieczny do zajścia swobodnej transmisji między ludźmi nazywany jest reasortacją genetyczną lub skokiem antygenowym. W jego wyniku powstaje odrębny antygenowo szczep wirusa, o znacznych zmianach antygenowych głównie cząsteczek HA (hemaglutyniny) i NA (neuraminidazy). Przeciwno takim szczepom wirusów grypy organizm nie ma wytworzonej uprzednio odporności, stąd często są one przyczyną epidemii lub pandemii. Reasortacja zachodzi tylko w przypadku wirusa grypy typu A, który wywołuje zachorowania tak ludzi, jak i zwierząt, dlatego też podtypy *Influenza A virus* krążą między różnymi gatunkami zwierząt i ludźmi nierzadko przekraczając barierę gatunkową nawet bez wcześniejszego skoku antygenowego. Świnie są często organizmem pośredniczącym w transmisji nowych szczepów grypy na człowieka, ponieważ są podatne na zakażenie zarówno ludzkimi, jak i ptasimi wirusami grypy.

Ludzkie i ptasie podtypy *Influenza A virus* różnią się przede wszystkim pozycją aminokwasu 627 w białku PB2 (polimerazie RNA) kodowanym przez gen RNA PB2 i rodzajem receptora, z którym wiąże się hemaglutynina.

Wszystkie wcześniejsze podtypy grypy ptasiej aż do H5N1 w pozycji 627. polimerazy RNA miały kwas glutaminowy (Glu), podczas gdy wszystkie ludzkie wirusy miały lizynę (Lys). W przypadku H5N1 często dochodzi jednak do substytucji aminokwasowej, w której wyniku lizyna może zostać podstawiona za kwas glutaminowy i na odwrót (wymaga to podmiany guaniny na adeninę, lub na odwrót - kodony kwasu glutaminowego, to GAG i GAA, a lizyny - AAG i AAA).³

Hemaglutynina wirusów ptasiej grypy wiąże się z receptorami kwasu α -sialowego w pozycji -2,3-, podczas gdy HA ludzkiej grypy w pozycji -2,6-. Wirusy świńskiej grypy mają zdolność wiązania obu typów receptorów kwasu α -sialowego. Receptory SA z wiązaniem w pozycji -2,3- u ludzi znajdują się głównie w dolnych drogach oddechowych, co stanowi główną przyczynę tak wysokiej (w porównaniu z ludzką grypą) śmiertelności ptasiej grypy u ludzi, a także jest czynnikiem uniemożliwiającym transmisję drogą powietrzną. W badaniu GoF (o którym poniżej), w którym stworzono ptasią grypę zdolnej do transmisji drogą powietrzną wśród fretek, konieczne było przesunięcie preferencji receptorowych wirusa na receptory z wiązaniem -2,6-, występujące głównie w górnych drogach oddechowych ludzi, w celu wywołania infekcji, która mogłaby umożliwić zawieszenie cząstek wirusa w aerozolu. Aby zachodziła transmisja drogą kropelkową

lub powietrzną, konieczna jest infekcja górnych dróg oddechowych, co z kolei zmniejsza śmiertelność H5N1.^{4, 12}

Wirus	Podtyp	Miano HA (HAU/50ml)		
		TRBC	TRBC połączony z α -2,3	TRBC połączony z α -2,6
A/Netherlands/213/03	H3N2	64	0	64
A/Vietnam/1194/04	H5N1	64	64	0
A/H5N1 _{PB2 E627K}	H5N1	64	16	0
A/H5N1 _{HA H103Y,T156A PB2 E627K}	H5N1	64	48	0
A/H5N1 _{HA Q222L,G224S PB2 E627K}	H5N1	64	0	24
A/H5N1 _{HA H103Y,T156A,Q222L,G224S PB2 E627K}	H5N1	64	4	32

Tabela 1. Swoistość receptorowa różnych zmutowanych wirusów A/H5N1, określona za pomocą zmodyfikowanego testu hemaglutynacji TRBC¹²

Eksperymenty z H5N1

Historia badań nad wzmocnieniem funkcji jest stosunkowo krótka, bo sięga początku roku 2011, kiedy dwie grupy naukowców - jedna na Uniwersytecie Wisconsin-Madison w Madison pod wodzą Yoshihiro Kawaoki, a druga - w Centrum Medycznym Uniwersytetu Erazma w Rotterdamie pod batutą Rona Fouchiera - badały w jaki sposób wirusy grypy ptasiej mogą się ze sobą krzyżować i powodować pandemię u ludzi. Obie grupy dysponowały seryjnie pasażowanym szczepem H5N1 grypy ptasiej, który ręcznie przenosili z jednej fretki na drugą do momentu, w którym była ona zdolna do przenoszenia się drogą kropelkową. Stało się to możliwe, dzięki nabyciu przez wirusa kilku zmian aminokwasowych (substytucji aminokwasowej), w czasie wielokrotnej replikacji w płucach fretek, którą zresztą zmiana ta umożliwiła - płuca ssaków są o wiele chłodniejsze niż ptasie.

Zwolennicy badań uważali, że przyniosły one odpowiedź na pytanie jak ptasi wirus H5N1 może przenosić się drogą powietrzną wśród ludzi (wirusem H5N1 człowiek może zarazić się od chorego ptaka, jednak, jeżeli nie wytworzy się krzyżówka szczepu ludzkiego z ptasim, wirus ptasi nie może przenosić się wśród ludzi), co umożliwi stworzenie naukowcom szczepionek i środków terapeutycznych ukierunkowanych na te konkretne zmiany aminokwasowe. Co więcej doszli do wniosku, że wraz ze wzrostem zakaźności wirusa w nowym rezerwuarze, maleje jego śmiertelność. Po drugiej stronie odezwały się jednak głosy krytyczne (pochodzące z renomowanych uniwersytetów, czy nawet Kongresu USA). Znacząca większość zastanawiała się nad bilansem zysków i zagrożeń płynących z takich badań, a niektórzy posuwali się nawet do nazywania tych eksperymentów „zaprojektowanym dniem zagłady”.

Co jednak było najbardziej niebezpieczne, to fakt, że w artykule prezentującym wyniki tego badania naukowcy zawarli gotową instrukcję do stworzenia tego typu hybrydy w ogólnodostępnym wydaniu *Science Magazine*. Gdyby grupie zdeterminowanych bioterrorystów przyszło na myśl wykorzystać H5N1 jako broń biologiczną, mieliby podaną na tacy instrukcję, a im pozostałoby tylko wykonać odpowiednie prace, co nie jest właściwie takie trudne nawet przy ówczesnych metodach genetycznych. Doszłoby wówczas do pandemii wirusa o wysokiej zakaźności i śmiertelności sięgającej 60%, (która co prawda po pewnym czasie zmalałaby, choć zdążyłaby wybić dużą część światowej populacji). Do czasu, w którym rozpoznano by czynnik zakaźny, znacząca część populacji zdążyłaby się już zarazić. Oczywiście śmiertelność wirusa zmieniałaby się w zależności od ogniska epidemii i podatności osobników na zakażenie, jednak nawet przy optymistycznym scenariuszu niskiej śmiertelności, jednoczesne zachorowanie dużej części społeczeństwa na dosyć dotkliwy szczep wirusa na pewno przeciążyłoby system opieki zdrowotnej i sparaliżowało gospodarkę zaatakowanego kraju.

WHO publicznie pochwaliło amerykańsko-holenderską pracę jako znaczący wkład w globalny system monitorowania przypadków i zachowań H5N1. Oczywiście wówczas naukowcy chcieli dobrze, a całe szczęście nie wyszło jak zwykle i nie byliśmy świadkami wielkiej epidemii ptasiej grypy w ludzkiej populacji.

W 2013 r. grupa chińskich naukowców powtórzyła badania Kawaoki i Fouchiera, nieco jednak je modyfikując. W tym scenariuszu sprawdzano co stałoby się, gdyby komórkę ludzką jednocześnie zainfekowano H1N1 i H5N1. Eksperyment ten jeszcze bardziej podzielił społeczność naukową. Jedna część (na czele z Simonem Wain-Hobsonem z Instytutu Pasteura czy byłym prezesem Towarzystwa Królewskiego Robertem Mayem) potępiała te badania jako niebezpieczny eksperyment, który nie był potrzebny do udowodnienia zamierzonych wniosków, nazywając pracę Chena „przerażająco nieodpowiedzialną”, a także podnosząc kwestie związane z bezpieczeństwem biologicznym samego laboratorium. Inni (w tym dyrektor Centrum Współpracy WHO ds. Grypy w Tokio, Masato Tashiro) chwalili laboratorium Chena jako „najnowocześniejsze”. Jeremy Farrar, dyrektor Jednostki Badań Klinicznych Uniwersytetu Oksfordzkiego w Ho Chi Minh City określiła tę pracę jako „niezwykłą” i stwierdziła, że wykazała „bardzo realne zagrożenie”, jakie stwarza „ciągła cyrkulacja szczepów H5N1 w Azji i Egipcie”.¹

Polaryzacja świata nauki:

Jednocześnie toczyły się debaty nad zasadnością tych prac i ryzykiem z nich płynącym. Społeczność naukowa podzieliła się na dwa obozy - Cambridge Working Group i Scientists for Science. Pierwsza powstała po ujawnieniu trzech incydentów związanych z bezpieczeństwem biologicznym w laboratoriach podległych CDC - przypadkowego narażenia pracowników Roybal Campus CDC na wąglik w stanie przetrwalnikowym, odkrycia sześciu fiolek zawierających czasowo dezaktywowaną ospę z lat 50. XX wieku, oznaczonych jako Variola, ale w pudełku z innymi słabo oznakowanymi próbkami, w kampusie FDA w White Oak oraz przypadkowa wysyłka fiolek H9N2 skażonych H5N1 z laboratorium CDC do laboratorium USDA. Od czasu pierwszej publikacji ponad 300 naukowców, naukowców i lekarzy złożyło pod nią swój podpis. W oświadczeniu zaleca się wstrzymanie wszelkich prac związanych z potencjalnymi patogenami pandemicznymi do czasu przeprowadzenia ilościowej i obiektywnej oceny ryzyka. Następnie argumentuje się, że zamiast tego należy zastosować alternatywne podejścia, które nie wiążą się z takim ryzykiem. Grupa zaangażowała się w rzecznictwo publiczne, wpływając na decyzję rządu USA z grudnia 2014 r. o zawieszeniu finansowania badań, które doprowadziłyby do powstania pewnych rodzajów nowych potencjalnych patogenów pandemicznych.

Wkrótce po tym, jak Cambridge Working Group opublikowała swoje stanowisko, 37 sygnatariuszy zajmujących alternatywne stanowisko utworzyło Scientists for Science. Argumentowali oni, że: „*badania biomedyczne nad potencjalnie niebezpiecznymi patogenami można prowadzić bezpiecznie i są one niezbędne do pełnego zrozumienia patogenezы chorób drobnoustrojowych, zapobiegania im i leczenia.*” Od czasu publikacji oświadczenie SfS otrzymało ponad 200 podpisów od pracujących naukowców, pracowników akademickich i specjalistów ds. bezpieczeństwa biologicznego. Założyciele obu grup opublikowali serię listów szczegółowo opisujących ich wątpliwości i punkty widzenia. Wszyscy autorzy zgodzili się jednak, że konieczna jest większa edukacja społeczeństwa i otwarta dyskusja na temat ryzyka i korzyści. Kilku napisało również, że sensacyjne nagłówki i ramy trwającego procesu jako „*debaty z przeciwnymi stronami*” negatywnie wpłynęły na ten proces, podczas gdy rzeczywistość jest znacznie bardziej kolegialna.¹

Na skraju pandemii:

Kiedy w grudniu 2019 r. świat obieżyły informacje o wybuchu epidemii ciężkiej choroby dróg oddechowych wywoływanej przez nieznaną czynnik zakaźny bardzo niewiele osób zdawało sobie sprawę z tego, że odpowiedzialny za nią 2019-nCoV (późniejszy SARS-CoV-2) mógł być wytworem chińsko-amerykańskich badań Gain-of-Function, który uciekł, lub został wypuszczony celowo, z Wuhańskiego

Instytutu Wirusologii. Dominującą hipotezą pochodzenia było kilkukrotne przełamanie bariery gatunkowej - od owocożernych nietoperzy, przez łuskowca (rząd *Pholidota*), aż do człowieka. Całą winę zrzucano na mokry targ, który znajduje się w stolicy prowincji Hubei, nie zwracając jednak uwagi na to, że w jego niedalekim sąsiedztwie znajduje się gmach Wuhan Institute of Virology. Co więcej nietoperze z rodziny rudawkowate (*Pteropodidae*) wcale nie występowały naturalnie w Wuhan, a około 2000 kilometrów od tego miasta.

Jednocześnie przybyłe na miejsce zespoły WHO i pierwsza komisja czasopisma *Lancet* stwierdziły, że pochodzenie nowego koronawirusa jest z pewnością naturalne, co stało się pożywką dla wszystkich mediów i naukowców z establishmentu do uznawania zwolenników teorii laboratoryjnego pochodzenia SARS-CoV-2 za zwolenników teorii spiskowych. Dzisiaj jednak jest już prawie pewne, że wirus ten powstał w laboratorium, jak stwierdził jeden z autorów pracy niemieckich naukowców - Valentin Bruttel: *„W połączeniu z innymi molekularnymi wskazówkami, nasze wyniki pokazują, że ten wirus jest w 99,9 procentach sztuczną, prawdopodobnie zmanipulowaną kopią naturalnego wirusa. [...] Techniki te wykorzystują również w swojej codziennej pracy, ale w celu opracowania całkowicie nieszkodliwych leków opartych na białkach dla chorób autoimmunologicznych.”* Badacze uważają, że odkryli w genomie wirusa „odcisk palca”, który jest świadectwem celowej manipulacji naukowców. Jest to regularnie powtarzający się wzór w genomie wirusa. Bruttel i jego współpracownicy porównali genomy znanych, sztucznie stworzonych wirusów i ich naturalnych "modelowych" wirusów - *„W naturalnych wirusach miejsca rozpoznania są całkowicie losowo rozmieszczone. Natomiast w genetycznie zmontowanych wirusach pojawiały się one zawsze w określonym, związanym z produkcją wzorze. [...] Wykazaliśmy, że jest niezwykle mało prawdopodobne, aby taki wzór, który występuje również w co najmniej dziesięciu innych syntetycznych wirusach RNA, pojawił się tu czysto przypadkowo - odpowiedział naukowiec.”* Wstępne wyniki badań pokazały, że prawdopodobieństwo, iż ten wzór wytworzyłby się na drodze naturalnej ewolucji przez przypadek, wynosiło najwyżej 1 na 100, a prawdopodobnie znacznie mniej.¹⁰

W międzyczasie pojawił się również drugi raport komisji *Lancet*, w którym przedstawiono trzy różne stanowiska. Oprócz pochodzenia odzwierzęcego przedstawiono jeszcze wersję, w której wirus miał wycieć nie z chińskiego, a z amerykańskiego laboratorium. Na czasopismo spadła wówczas masa krytyki za prezentowanie „antynaukowego podejścia”, którym jednak wykazali się wtedy sami krytykujący, którzy nie chcieli żeby społeczeństwo poznało wszystkie możliwe pochodzenia wirusa, który z dnia na dzień zmienił świat jaki pamiętamy na ponurą pełzającą tyranię naukowo-medyczną, w której głośne wypowiedzianie niektórych faktów, uznawanych wówczas za teorie spiskowe równało się z wyrzuceniem na margines społeczności naukowej.⁶ Nie chcę spekulować jakie mogły być przyczyny tej powszechnej cenzury prewencyjnej, jednak domyślam się, że za tym mogło iść coś więcej niż tylko korzyści finansowe, lub strach związany z utratą grantów od korporacji medycznych i farmaceutycznych, jednak tego tematu nie chcę tu poruszać. Jak jednak mogło do tego wszystkiego dojść? W tej historii trzeba przywołać nazwiska dwojga naukowców, którzy mają bardzo duże doświadczenie w pracy z koronawirusami oraz ich modyfikacją. Mam tu na myśli profesora Ralpha Barica - legendę amerykańskiej wirusologii i mikrobiologii oraz pioniera badań Gain-of-Function - oraz Shi Zhengli - legendę chińskiej wirusologii i popularną „Batwoman”, która odpowiada za odkrycie wielu przedstawicieli rodziny *Coronaviridae* i innych wirusów pochodzących od nietoperzy.

Ich współpraca zawiązała się na dobre po raz pierwszy w 2013 roku, kiedy to Chinka odkryła wirusa SHC014 - jednego z dwóch najbliższych krewnych oryginalnego wirusa SARS-CoV-1, którego jednak nie była w stanie odtworzyć w laboratorium. Baric dostarczył jej technologię, która pozwoliła obejść różne problemy - odwrotną inżynierię genetyczną koronawirusów. Nie tylko pozwalała mu ona na odtworzenie wirusa na podstawie jego kodu genetycznego, ale mógł też mieszać i dopasowywać części wielu wirusów. Chciał wziąć gen białka kolca z SHC014 i przenieść go do genetycznej kopii wirusa SARS, który już miał w

swoim laboratorium. Stworzona w ten sposób chimera wykazywała silną replikację w komórkach humanizowanych myszy i w hodowli komórkowej ludzkiego nabłonka oddechowego. Podczas gdy Baric prowadził swoje badania Narodowe Instytuty Zdrowia (NIH) zdecydowały o przerwaniu finansowania badań Gain-of-Function ze względu na olbrzymie ryzyko jakie powodowały. Pod wpływem kilku prac Amerykanina w 2015 roku odblokowano jednak rządowe dotacje, przyznając je nie tylko laboratorium Barrica w Chapel Hill, ale i Wuhańskiemu Instytutowi Wirusologii (całkowitą blokadę zniesiono w 2017 roku). Badania te, choć z pozoru podobne, różniły się jednym, z pozoru błałym, szczegółem - w USA badania prowadzono w laboratorium BSL-3+, a w Chinach - BSL-2. Jest to jednak bardzo istotna różnica. W pracowni Barrica stosowano takie środki ochronne, dzięki którym możliwa była praca ze stosunkowo groźnymi patogenami. Poziom bezpieczeństwa laboratorium w WIV według Richarda Ebrighta odpowiada „poziomowi bezpieczeństwa biologicznego amerykańskiego gabinetu dentystycznego”. Miało to być związane z kosztami i niedogodnościami powodowanymi przez pracę w hermetycznych strojach, a jednocześnie znacząco przyspieszało prace nad wirusem. Prace posuwały się w szybkim tempie, a Shi wykorzystywała dostarczoną technologię także w przypadku innych wirusów, które odkrywała w chińskich jaskiniach, w których bytowały nietoperze.

Jednym z nich był wspomniany wcześniej SHC014, który pokrewny jest z SARS-CoV-1 w 95,4%, drugim natomiast WIV1 - pokrewny z SARS-CoV-1 w 95,6%. Powstała w wyniku połączenia białek kolca SHC014 i szkieletu SARS-CoV-1 chimera SL-SHC014-MA15, różni się tylko w 7% (ok. 5000 nukleotydów) od SARS-CoV-2, który wywołał pandemię COVID-19. Shi wielokrotnie mówiła w wywiadach, że jej laboratorium nie było w posiadaniu próbek SARS-CoV-2 przed wybuchem epidemii w Wuhan, jednak niepokojący jest stopień genetycznego pokrewieństwa chimery SARS-CoV-1 i SHC014 z SARS-CoV-2 (pokrewieństwo SARS-1 i SARS-2 wynosi 79%).

Po długotrwałym okresie współpracy, w czasie której ochoczo dzieliły się zasobami między dwoma ośrodkami zaczęła narastać konkurencja. Zdawać by się mogło, że prześcigały się w odkrywaniu nowych wirusów, badaniu ryzyka jakie jest z nimi związane i odkrywaniu środków zapobiegawczych. W tym czasie WIV zainteresowała się amerykańska organizacja non-profit EcoHealth Alliance. Organizacja, której roczny dochód wynosi ponad 16 milionów dolarów, z czego ponad 90% pochodzi z dotacji rządowych. WIV był jej perłą w koronie, a Peter Daszak - prezes EcoHealth Alliance - współautorem większości kluczowych prac Shi. W czasie tego etapu współpracy wykorzystywali oni metody opracowane przez Barica, żeby szybko sprawdzać możliwości odkrywanych wirusów. Gdy opublikowali rewelacje związane z wzmocnieniem funkcji SHC014 niektórzy naukowcy zaczęli zgłaszać swoje wątpliwości związane z tymi badaniami: „Jedynym rezultatem tej pracy jest stworzenie w laboratorium nowego, nienaturalnego zagrożenia.” (R. Ebright)

W 2014 roku, a więc właściwie w czasie ogłoszenia moratorium na badania GoF, NIH przyznał pięcioletni grant o wartości 3,75 miliona dolarów organizacji EcoHealth Alliance na zbadanie ryzyka pojawienia się w Chinach większej liczby koronawirusów przenoszonych przez nietoperze, przy użyciu tych samych technik, których pionierem był Baric. Część prac miała być prowadzona w WIV. Dwa lata później, Daszak i Shi opublikowali pracę, w której opisywali, że chińskie laboratorium stworzyło różne wersje WIV1 i przetestowało ich zakaźność na ludzkich komórkach. W artykule ogłoszono, że WIV opracował swój własny system odwrotnej inżynierii genetycznej, na podstawie know-how otrzymanego od Amerykanów. W 2017 roku WIV dalej odkrywał dziesiątki nowych koronawirusów podobnych do SARS-CoV-1 oraz poinformował o stworzeniu chimer z ośmioma z nich poprzez połączenie białek kolców nowych wirusów z WIV1. Dwa z nich były w stanie skutecznie replikować w ludzkich komórkach. Badania te nadal prowadzono w laboratorium BSL-2 i wydawało się, że Shi i Daszak szczylic się tym podkreślając to w swoich pracach.

„To jest wpadka” - powiedział dziennikarzowi Donaldowi McNeilowi Jr. wirusolog z Uniwersytetu Columbia Ian Lipkin, który był współautorem pracy dowodzącej, że SARS-CoV-2 musiał mieć naturalne

pochodzenie. „*To nie powinno było się zdarzyć. Ludzie nie powinni prowadzić badań nad wirusami nietoperzy w laboratoriach BSL-2. Mój pogląd uległ zmianie.*”

Zhengli Shi twierdzi, że działała ona zgodnie z obowiązującym prawem. Jako, że w przypadku WIV1 i innych wirusów nietoperzy nie ustalono, czy są one niebezpieczne dla ludzi, to komisja ds. bezpieczeństwa biologicznego zaleciła laboratoria BSL-2 do ich konstruowania i testowania oraz BSL-3 do wszelkich eksperymentów na zwierzętach.

W tym czasie NIH nadal nie wyjaśnił w pełni swojego procesu decyzyjnego i nie odpowiedział na zadawane przez dziennikarzy i Kongres pytania. Powołując się na toczące się dochodzenie, odmówił wydania kopii dokumentów dotyczących grantu przyznanego WIV w latach 2014-2019, który opiewał na kwotę około 600 000 USD. Niewiele również ujawnił na temat nowego systemu oceny ryzyka Gain-of-Function, który jest przeprowadzany przez anonimowe grono recenzentów, a obrady nie są upubliczniane. Na zarzuty kierowane pod adresem Shi i Daszaka NIH reagował twierdząc, że nie są to badania Gain-of-Function. Gdy informacje te [o finansowaniu badań nad modyfikacją wirusów w Wuhan] ujrzały światło dzienne w kwietniu 2020 roku Narodowe Instytuty Zdrowia zlikwidowały dotację dla EcoHealth Alliance. Niewiele później, bo już 8 lipca tego samego roku NIH zaproponował listownie przywrócenie dotacji pod warunkiem, że EcoHealth Alliance będzie w stanie rozwiązać ich obawy dotyczące poziomu bezpieczeństwa biologicznego w chińskich laboratoriach. Dodano: „*Mamy obawy, że WIV nie spełnił wymogów bezpieczeństwa wynikających z przyznania grantu, a EcoHealth Alliance nie wywiązała się ze swoich obowiązków w zakresie monitorowania działań swojego subbeneficjenta.*”⁶

26 lutego 2023 roku Departament Energii USA dołączył do FBI stwierdzając, że SARS-CoV-2 wyciekł z chińskiego laboratorium najprawdopodobniej w wyniku jego awarii, opierając swoje przekonanie na tajnym raporcie wywiadowczym, którym miał ostatnio zostać dostarczony do Białego Domu i Kongresu. FBI swoje wnioski opiera o doświadczenie pracujących w agencji mikrobiologów i immunologów, natomiast stanowisko ministerstwa miało być niepewne. FBI jednak odmówiło komentarza odnośnie tajnego raportu.¹¹

Do trzech razy sztuka?

14 października 2022 r. naukowcy z Uniwersytetu Bostońskiego opublikowali niepokojący preprint, na którego samym początku stwierdzają: „*Stworzyliśmy chimeryczny rekombinowany SARS-CoV-2 kodujący gen S Omicronu w szkielecie przodka SARS-CoV-2 i porównaliśmy tego wirusa z naturalnie krążącym wariantem Omicron.[...] Podczas gdy Omicron powoduje u myszy K18-hACE2 łagodną, niekończącą się śmiercią infekcję, wirus posiadający gen S Omicronu powoduje ciężką chorobę ze śmiertelnością na poziomie 80%.*”⁸

Wszystkie transgeniczne myszy zakażone wymarłym szczepem Waszyngton zmarły. Wśród myszy zakażonych szczepem BA.1 Omicron nie było zgonów, natomiast w grupie zakażonej wirusem chimerycznym (BA.1 + Waszyngton) zmarło 8 z 10 zwierząt.

Zagrożenie, które stworzyła ta praca jest ogromne i niewspółmierne do korzyści, które przyniosła, bo nie przyniosła w sumie żadnych korzyści. Naukowcy wyciągnęli bardzo ogólny wniosek mówiący o tym, że „*nieskuteczność szczepionek przeciw Omicronowi jest zdefiniowana przez mutacje w białku S, podczas gdy determinanty jego patogenności znajdują się poza nim*”.⁸ Po drugie szczep ze stanu Waszyngton jest już dawno wymarły, więc prawdopodobieństwo rekombinacji Omicronu z tym szczepem wynosi zero. Najgorsze jest jednak to, że w scenariuszu, który wcale nie jest taki nieprawdopodobny i niemożliwy do zaistnienia, wirus, który wydostałby się z laboratorium podobnie jak oryginalny SARS-CoV-2 łączyłby w sobie wysoką transmisyjność szczepu BA.1 ze śmiertelnością wymarłego szczepu z Waszyngtonu. Co więcej „*Myszy zakażone Omi-S wytwarzały 30-krotnie więcej zakaźnych cząstek wirusa w porównaniu z myszami zakażonymi Omicronem.*”⁸ Nie jest jednak powiedziane, że parametry epidemii wywołanej wśród ludzi przez tę chimere byłyby takie same lub porównywalne do badań na myszach. Laboratoryjne chimery są zwykle groźniejsze

w populacji ludzkiej niż wynika to z badań na myszach. Do tego dochodzi również zagrożenie związane z wykorzystaniem tych informacji przez grupy terrorystyczne, które mogłyby po prostu skopiować proces, który wykonali naukowcy z BU (podobnie jak za czasów badań nad H5N1 opublikowano gotowy przepis, który jednak tym razem nie doczekał się jeszcze recenzji).⁹

Pracownicy Uniwersytetu Bostońskiego w wydanym oświadczeniu stwierdzili, że nie jest to badanie Gain-of-Function, bo nie wzmocniło funkcji wirusa, względem wymarłego szczepu waszyngtońskiego, a ludziom zwracającym uwagę na podjęcie zbyt dużego, bezsensownego ryzyka zarzucali nadinterpretację i wyrwanie informacji z kontekstu, celem wywołania sensacji (jednak z jakiegoś powodu sami naukowcy „chwalą” się tym w streszczeniu).

Najciekawiej jednak zaczęło się dziać w okolicach 17 października 2022 roku. Wtedy to pojawiły się pogłoski o rzekomym wycieku z laboratorium. Interweniować miał nawet sam Instytut Badań Chorób Zakaźnych Amerykańskich Sił Zbrojnych (USAMRIID), który miał oczyścić laboratorium, likwidując wszystkie próbki z chimerycznym wirusem. Całe szczęście nie było to prawdą i naukowcom z BU (i w sumie całej ludzkości) się upiekło.

Tego samego dnia wybuchła jednak afera związana z finansowaniem tej pracy. Badacze twierdzili, że otrzymali grant z oficjalnie zamkniętego w maju 2021 roku programu GoF, który finansowały Narodowe Instytuty Zdrowia. W odpowiedzi dyrektor NIH stwierdził, że „*ani NIH, ani NIAID nigdy nie zatwierdziły żadnej dotacji, która wspierałaby badania nad „wzmocnieniem funkcji” koronawirusów, które zwiększyłyby ich zdolność do przenoszenia się lub śmiertelność dla ludzi.*” Wobec tego pracownicy BU stwierdzili, po pierwsze, że fundusze NIH wspierały tylko niektóre z podstawowych „*narzędzi i platform*” i nie wspierały bezpośrednio badań. Tłumaczenie to nie przekonało Narodowych Instytutów Zdrowia, które zapowiedziały przeprowadzenie dochodzenia w tej sprawie. W jednym z wywiadów urzędnik NIAID powiedział, że: „*NIH powinien być zostać poinformowany, przynajmniej tak, aby mogli ustalić, czy badania są dozwolone zgodnie z zasadami NIH*”

Powinniśmy przemyśleć sens badań nad wzmocnieniem funkcji. Są one teoretycznie szansą zapobieżenia nieuniknionemu; tylko za jaką cenę. Ochocze finansowanie przez agencje rządowe badań w laboratoriach niespełniających wymogów bezpieczeństwa nie wróży zbyt dobrze na przyszłość. Niestety badania takie jak na BU pokazują, że naukowcy nie zawsze potrafią kalkulować bilans potencjalnych zysków i strat związanych ze swoimi ryzykownymi badaniami. Kwestią czasu jest, kiedy z laboratorium ucieknie coś co powtórzy scenariusz ostatnich 3 lat. A uciec może nawet coś gorszego...

Bibliografia:

- ¹ https://en.wikipedia.org/wiki/Gain-of-function_research
- ² https://pl.m.wikipedia.org/wiki/Wirusowa_krwotoczna_choroba_kr%C3%B3lik%C3%B3w
- ³ https://en.m.wikipedia.org/wiki/Influenza_A_virus
- ⁴ https://en.m.wikipedia.org/wiki/Avian_influenza
- ⁵ **Viruses and Human Disease (Second Edition) 2008; Chapter 3 - Plus-Strand RNA Viruses** (James H. Strauss, Ellen G. Straus) (<https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/influenza-b-virus>)
- ⁶ **The Lancet Commission on lessons for the future from the COVID-19 pandemic** (Sachs, Karim, Aknin, Allen, Brosbøl, Colombo, et al.) ([https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(22\)01585-9/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(22)01585-9/fulltext))
- ⁷ **Niebezpieczna gra z wirusami!** (<https://pharmindex.pl/artykul/498>)
- ⁸ **Role of spike in the pathogenic and antigenic behavior of SARS-CoV-2 BA.1 Omicron** (Chen, Kenney, Chin, Tavares, Khan, Conway, Liu, et al.) (<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2022.10.13.512134v2.full>)
- ⁹ **Gain-Of-Function Experiments At Boston University Create A Deadly New Covid-19 Virus. Who Thought This Was A Good Idea?** (Steven Salzberg) (<https://www.forbes.com/sites/stevensalzberg/2022/10/24/gain-of-function-experiments-at-boston-university-create-a-deadly-new-covid-19-virus-who-thought-this-was-a-good-idea/?sh=1540a5ba5ca3>)
- ¹⁰ **Niemiecki badacz: Na 99,9 procent SARS-CoV-2 pochodzi z laboratorium** (<https://www.rp.pl/covid19/art37288131-niemiecki-badacz-na-99-9-procent-sars-cov-2-pochodzi-z-laboratorium>)
- ¹¹ **USA. Tajny raport: wyciek z chińskiego laboratorium był najprawdopodobniej przyczyną pandemii koronawirusa.** (<https://www.pap.pl/aktualnosci/news%2C1542061%2Cusa-tajny-raport-wyciek-z-chinskiego-laboratorium-byl-najprawdopodobniej>)
- ¹² **Perspectives on Research with H5N1 Avian Influenza: Scientific Inquiry, Communication, Controversy: Summary of a Workshop.** (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK206985/>)

Experimental adaptation of an influenza H5 HA confers respiratory droplet transmission to a reassortant H5 HA/H1N1 virus in ferrets (Imai, Watanabe, Hatta, Das, Ozawa, Shinya, Hanson, Kawaoka, et al.) *Nature* 420 (486). (<https://www.nature.com/articles/nature10831>)

Airborne Transmission of Influenza A/H5N1 Virus Between Ferrets (Herfst, Schrauwen, Linster, Chutinimitkul, de Wit, Munster, Fouchier, et al.) *Science* 336 (<https://www.science.org/doi/10.1126/science.1213362>)