

# BİYOTEKNOLOJİK AŞILAR

## 2. GENETİK MÜHENDİSLİĞİ İLE HAZIRLANAN AŞILAR

Mikroorganizmaların genomlarında yapılan bazı manipulasyonlar ile elde edilen

- Mutant mikroorganizmalar,
- Rekombinant mutant mikroorganizmalar,
- Bunların ürünleri **aşı** olarak kullanılır.



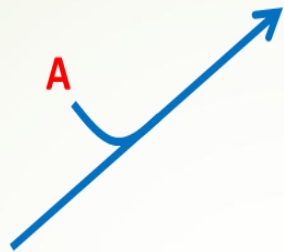
# B BİYOTEKNOLOJİK AŞILAR

## 2. GENETİK MÜHENDİSLİĞİ İLE HAZIRLANAN AŞILAR

### ➤ MUTANT AŞILAR

- Mikroorganizmaların genetik yapılarında yapay olarak oluşturulan mutasyonlar sonucu hazırlanan aşılaradır.

① Insertion

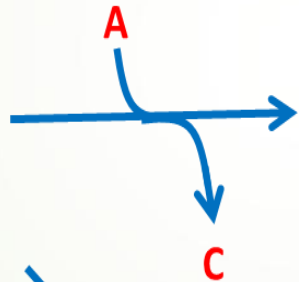


GAGACATTAC

10 bases  
GAGACATTAC  
CTCTGTAATG

② Substitution

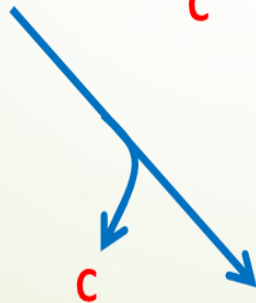
9 bases  
GAGACTTAC



GAGAATTAC

9 bases  
GAGAATTAC  
CTCTTAATG

③ Deletion




GAGATTAC  
GAGA - TTAC

8 bases  
GAGATTAC  
CTCTAATG



# Mutant Aşılar

1. Klasik mutant mikroorganizma aşıları
  - 2.İnsersiyon mutant mikroorganizma aşıları
  - 3.Delesyon mutant mikroorganizma aşıları
- 

# 1. Klasik Mutant Mikroorganizma aşıları

- Bu aşılarda genetik mühendisliği kullanılmaz.
- Klasik attenüasyon ve seleksiyon metotları ile belirlenen mutant suş aşı suşu olarak kullanılır.
- Bu virusun virulens genlerinde oluşan mutasyonlar sonucu virulensi azaltılmış, ancak antijenik kabiliyeti iyi düzeydedir.
- Bu aşılar gerçekte attenüe aşıdırlar. Canlı aşılar gibi belirli koşullarda üreme, vucuda yayılma ve enfeksiyon oluşturma niteliğine sahiptirler.
- Isı duyarlı (temperature sensitive-ts) mutant aşılar ve soğuğa adapte (cold adapted -ca) mutant aşılardan bahsedebiliriz.

# Viruslar;

- - Belirli ısı sınırları arasında üreme yeteneğine sahiptirler.
- Bu sınırlar 20-24°C ile 39.5 °C arasında değişir.
- Kanatlı virusları için üst sınır birkaç derece daha fazladır.

# Temperature sensitive (Ts) mutant mikroorganizma aşılar

- Isı duyarlı mutant viruslar saha virusun nokta mutasyon sonucu genetik yapısında baz değişimi oluşması sonucudur.
- Bu olay kodlanmış proteinin bir amino asidinin değişmesi ile sonuçlanır.
- Bunun sonucu oluşan protein düşük ısılarda (31°C'de) aktifken optimum ya da daha yüksek ısılarda fonksiyonel değildir. Çünkü 3 boyutlu yapısını yitirir. Söz konusu olan bir yapısal protein olabileceği gibi enzim de olabilir.
- Sonuç olarak; **mutant virus sınırlanmış ısılarda aktif, buna karşın sınırlanmamış (non permissive) ısılarda aktif olmayan özellik kazanır.**

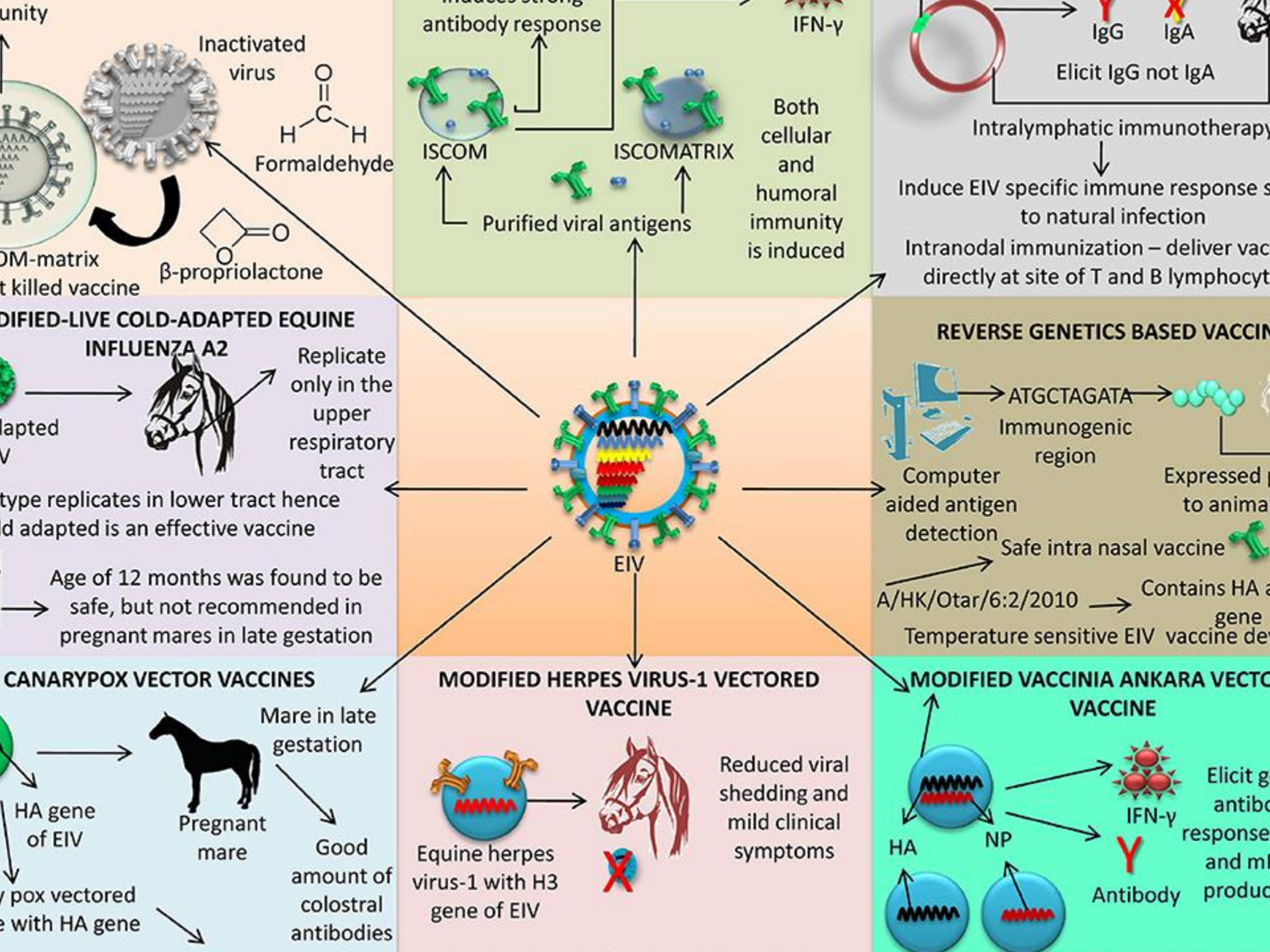
# Ts mutant aşıların özellikleri

- Ts mutantlar vahşi tip virusla aynı immunolojik spesifiteye sahip proteinler üretirler. Yani aynı immunolojik özelliklere sahiptirler.
- Düşük ıslarda vahşi tip kadar aktiviteye sahiptirler ve bu ıslarda yüksek düzeyde çoğalırlar.
- -Bazı ts mutantlarda bir “gedik” ten bahsedilir. Bazen yüksek ıslarda fonksiyonel aktiviteler etkinliğini kaybetmeksizin azda olsa enfektif virus partikülü üretimine devam eder.
- Vahşi tipe geri dönüş olasıdır.



# Soğuga adapte mutantlar:

- Vahşi virusun yeni bir konakçıda (ETY ve deneme hayvanı) düşük ısıda üretilmesi ile elde edilir. Bunlar soğuk şartlarda üreme yeteneğine sahip, attenüe aşılardır.
- BHV-1 için intranasal kullanılan soğuga adapte mutant aşılar örnek olarak verilebilir.



## 2.İnserisyon mutant mikroorganizma aşıları

- Mikroorganizmanın virulens geni içersine başka bir etkenin gen veya DNA'sının integre edilmesi esasına dayanır. Böylece virulens genine giren DNA sekansı, bu genin bütünlüğünü bozar, ekspresyonuna engel olur ve böylece virulens kaybı oluşur.
- Bu aşılar marker aşı olarak kullanılır (pozitif marker aşı).

### 3.Delesyon mutant mikroorganizma aşıları

- Virus genomunda bulunan virulens ile ilgili genlerin çıkarılması ile hazırlanan aşılarıdır.
- Bu aşılar **marker aşı (negatif marker aşı)** olarak kullanılabilir.

# Marker Aşılar:

Inersiyon mutanrı ve delesyon mutanrı virus içeren aşılar

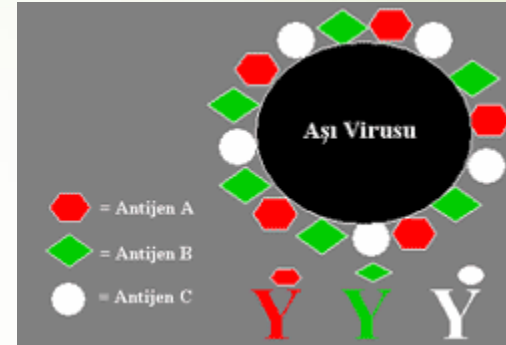
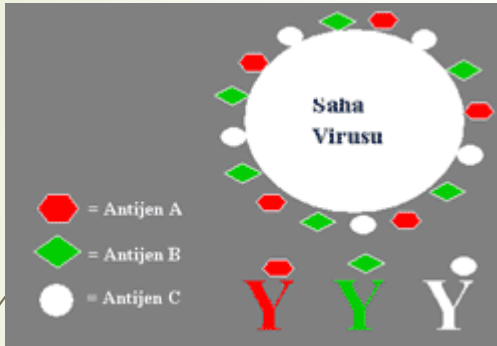
Marker Aşılardır.

Inersiyon mutanrı içeriorsa.....**Pozitif** Marker Aşı

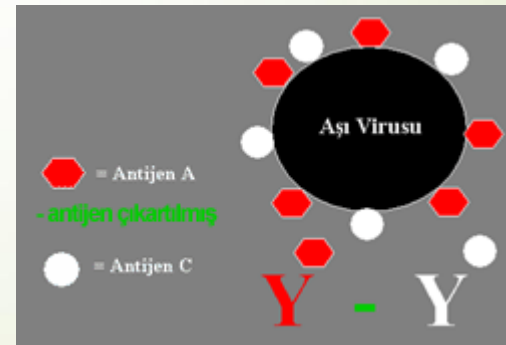
Delesyon mutanrı içeriorsa.....**Negatif** Marker aşı

- Diğer bazı aşılar da marker aşılar içerisinde yer alır (Sentetik peptit, subunit, vb).

# İnserisyon-Delesyon mutantı



•İnserisyon mutantı



Delesyon mutantı



# Pozitif marker aşılar da,

- Doğal enfeksiyonu oluşturan virusta bulunan antijenik determinantlar yanı sıra inserte edilen gen tarafından determine edilen antijen de bulunur.
- Bu aşılar ile doğal enfekte hayvanları ayirt etmek mümkün değildir.
- Yalnızca aşıli hayvanlar belirlenebilir.

# Negatif marker aşılar da ise,

- Virus suşlarının yapısal komponentlerini kodlayan genlerin metabolik yollarla kısmen ya da tamamen çıkarılması esasına dayanır.
- Bu çıkarılan genler virus replikasyonu için gerekli olmayan genlerdir.
- Saha virusunda var olan antijenik determinantlardan birisi çıkarılarak hazırlanan bu aşular, ticari kit kullanımı ile aşılı ve enfekte bireyleri ayırt etmede kullanılabilir.
- Bugün BHV-1 enfeksiyonunun eradikasyonu çalışmalarında bu aşular önemli yer tutmaktadır.



# BoHV-1 gE(-) marker aşılar

Glikoprotein E (gE) yi kodlayan genin çıkartılması (deletion mutant) ile elde edilmektedir. Bu gen patojeniteden sorumlu olup, virus replikasyonu için esansiyel değildir.



Saha virusu



Aşı virusu