

Biyoteknolojik Aşılar

1. İleri Teknikler ile Hazırlanan Aşılar

- Sentetik peptid aşılar
- Antiidiotip antikor aşıları
- Subünit aşılar

2. Genetik Mühendisliği ile hazırlanan Aşılar

- Mutant Aşılar-
 - Marker Aşılar
- Rekombinant Sunünit Aşılar
- Rekombinant Virus Aşıları (Vektör Aşı)
- Nükleik Asit (DNA ve cDNA) aşıları
- mRNA Aşıları
- VLP aşıları

Rekombinant DNA teknolojisi,

doğada kendiliğinden oluşması mümkün olmayan, çoğunlukla **farklı biyolojik türlerden elde edilen DNA moleküllerinin**, genetik mühendislik teknolojisiyle **kesilmesine** ve elde edilen farklı **DNA** parçalarının **birleştirilmesi** işlemlerini kapsayan bir teknolojidir.

Rekombinant DNA teknolojisi

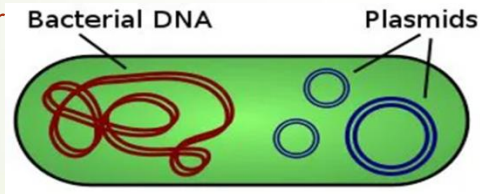
1. İstenilen Ag kodlayan DNA elde edilir

II. Taşıyıcı özellikteki DNA 'ya (Vektör) entegre edilir.

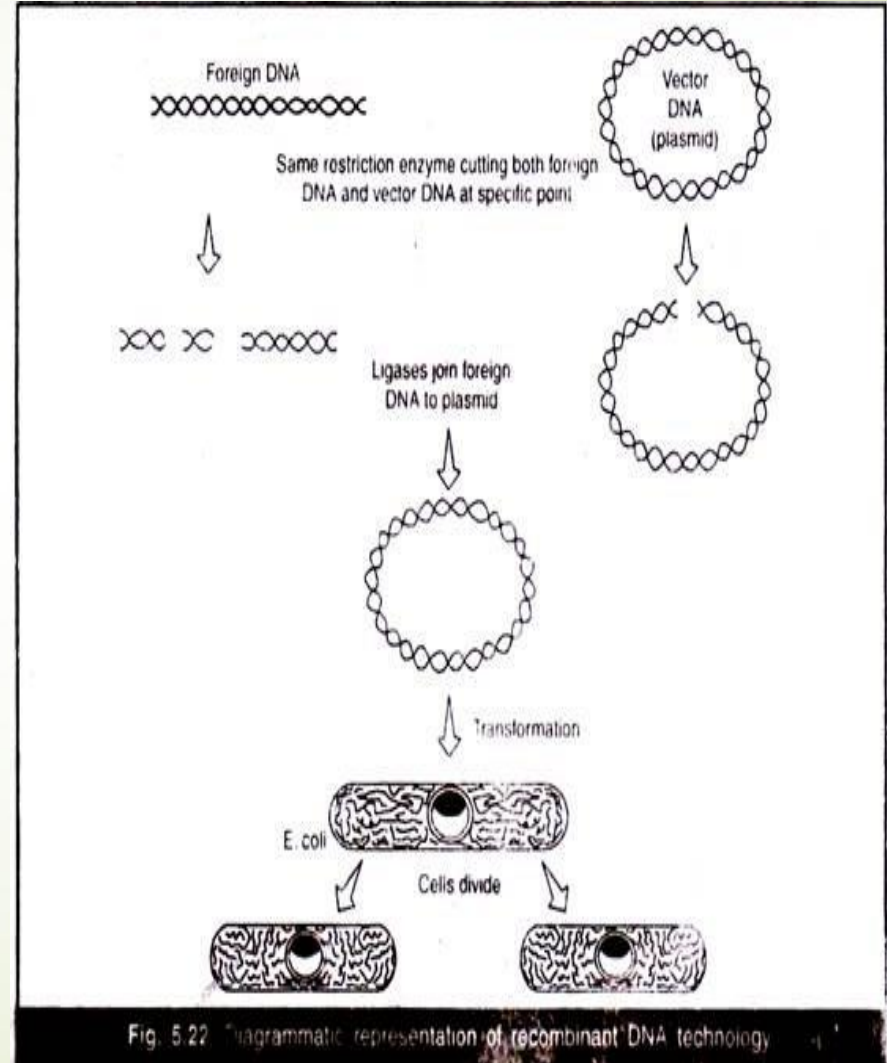
VEKTÖR: plazmit,

viruslar: adenovirus,
SV40,vaccinia,

bakteriler

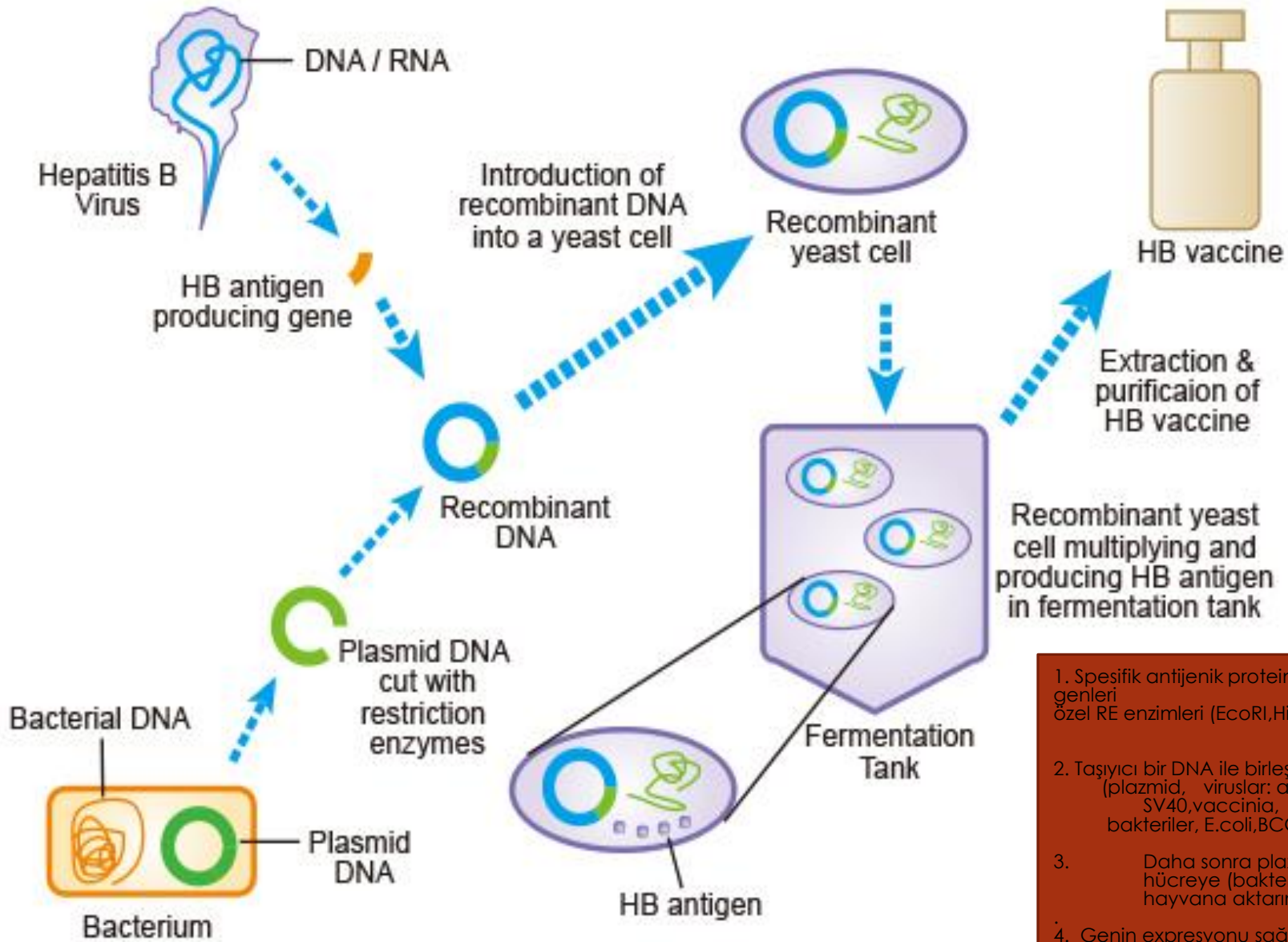


III. Vektörün konakçıda (hücre, bakteri, vb.) çoğalma sağlanır.



Rekombinant Subünit aşular:

1. Mikroorganizmanın **spesifik antijenik proteinleri kodlayan genleri** özel RE enzimleri (EcoRI,Hind III) ile çıkarılır.
2. **Taşıyıcı bir DNA** ile birleştirilir.
(plazmid, viruslar: adenovirus, SV40,vaccinia, bakteriler, E.coli,BCG9)
3. Daha sonra **plazmidin alıcı hücreye** (bakteri, hücre) veya hayvana aktarımı yapılır.
4. Genin ekspresyonu sağlanarak, **sentezlenen hedef gen ürünü proteinler** hücreden elde edilir ve bunlar **aşı** olarak kullanılır.



1. Spesifik antijenik proteinleri kodlayan genleri özel RE enzimleri (EcoRI, Hind III) ile çıkarılır.
2. Taşıyıcı bir DNA ile birleştirilir. (plazmid, viruslar: adenovirus, SV40, vaccinia, bakteriler, E.coli, BCG9)
3. Daha sonra plazmidin alıcı hücreye (bakteri, hücre) veya hayvana aktarımı yapılır
4. Genin ekspresyonu sağlanarak, sentezlenen hedef gen ürünü proteinler hücreden elde edilir ve bunlar AŞI olarak kullanılır.

Rekombinant Subunit aşılar;

- Hedef immunojeni kodlayan gen bölgesinin seçimi önemlidir.
- İmmunojen proteinden ibaret olduğundan, enfeksiyon riski oluşturmaz.
- Adjuvantlar ile birlikte kullanılır ise iyi bağışıklık oluşturur.
- Booster doz kullanımı gerektirir.
- Hazırlaması zordur. Hazırlanması prosedüründe kaynaklanan (alıcı hücrede ekspresyonun yeterince gelişmemesi, vb) sorunlar olabilir.

Rekombinant Virus Aşıları (Vektör Aşıları)

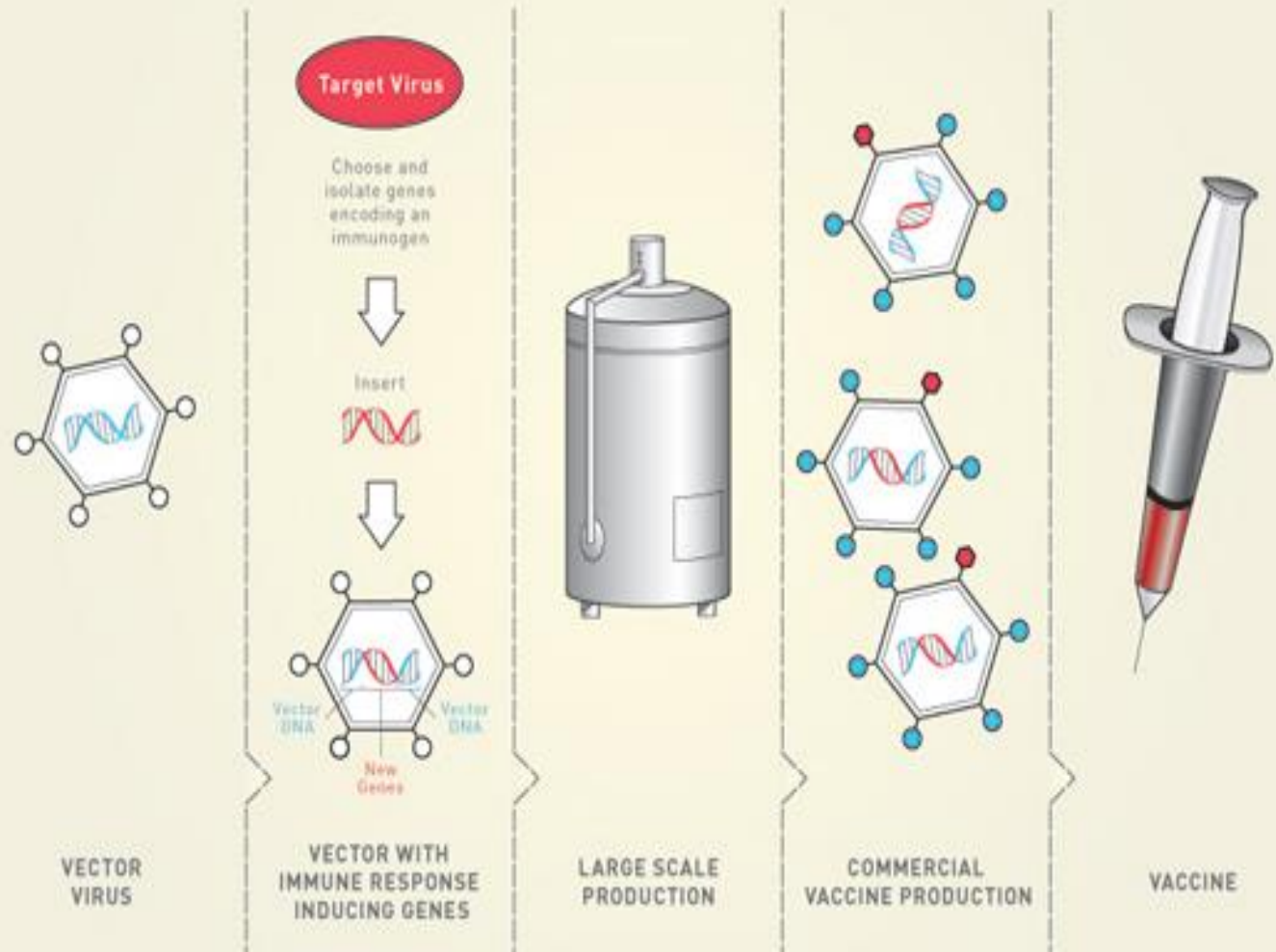
1. Mikroorganizmanın spesifik antijenik proteinini kodlayan gen bölgesinin çıkarılarak,
2. Vektör virus genomuna entegre edilmesi ile elde edilen

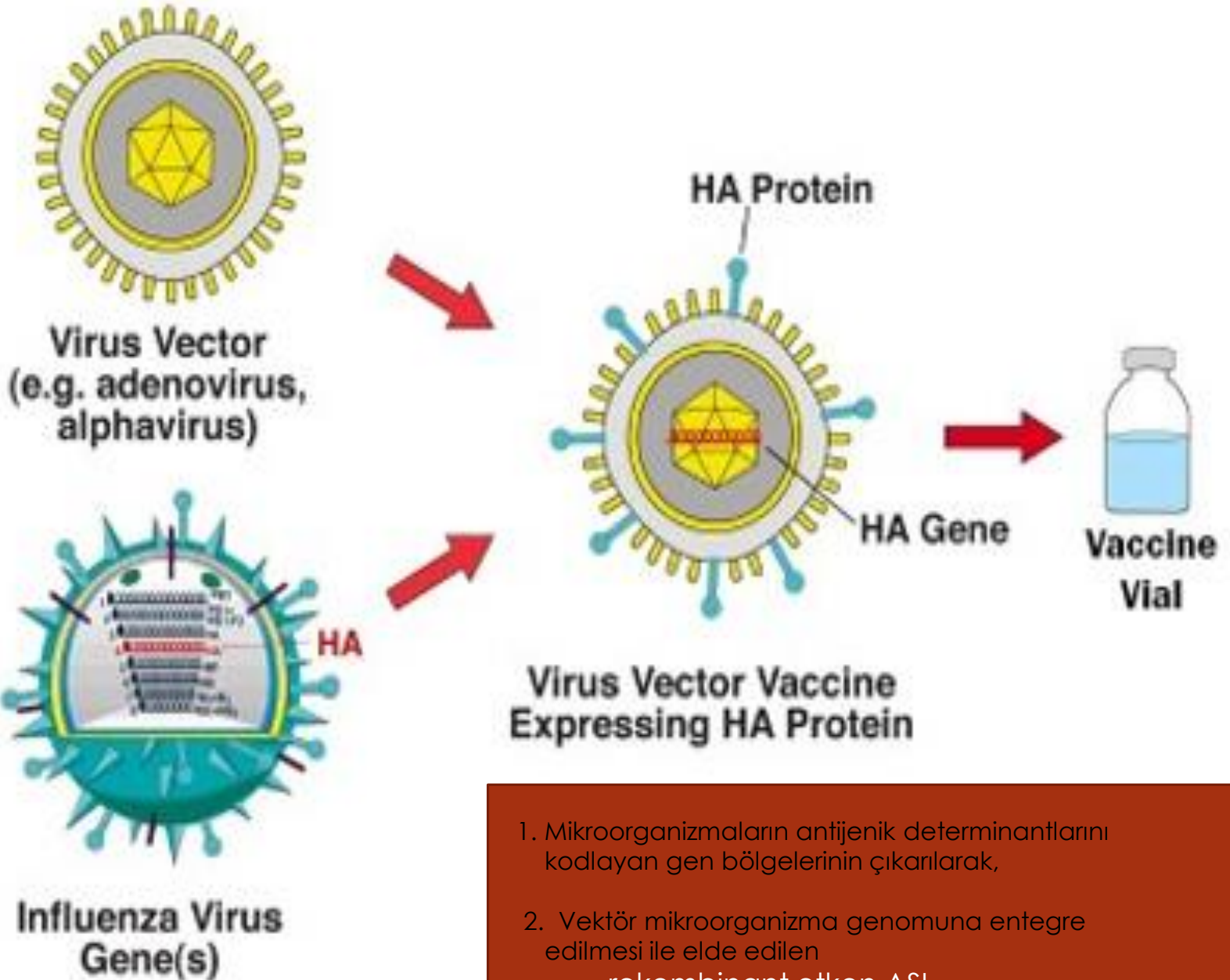
REKOMBİNANT ETKEN

AŞI

olarak kullanılır.

Live Recombinant Vaccine Development



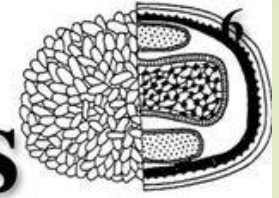


1. Mikroorganizmaların antijenik determinantlarını kodlayan gen bölgelerinin çıkarılarak,
2. Vektör mikroorganizma genomuna entegre edilmesi ile elde edilen rekombinant etken AŞI

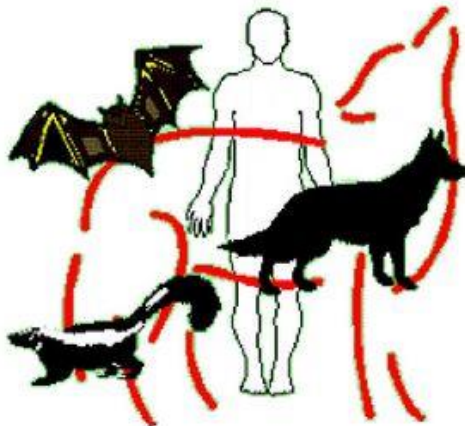


Recombinant vaccines

poxvirus vector



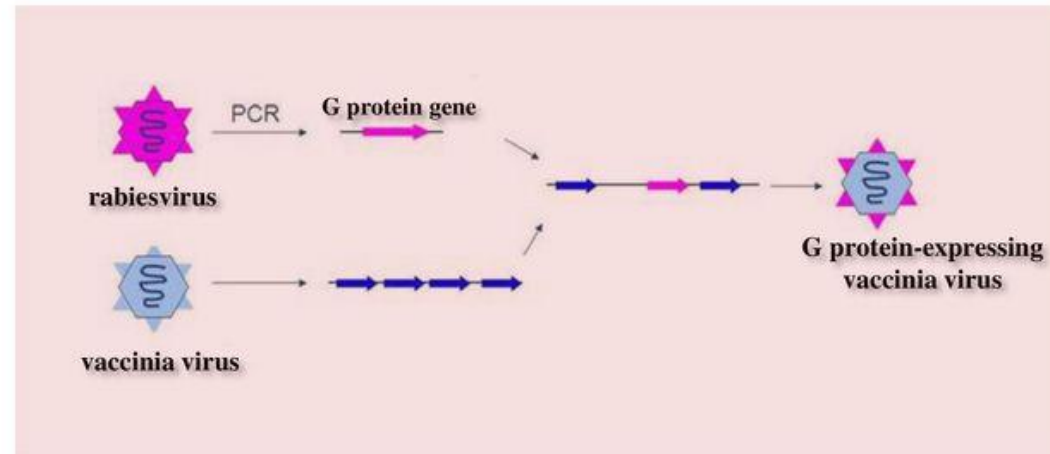
vaccinia virus
(pox virus)



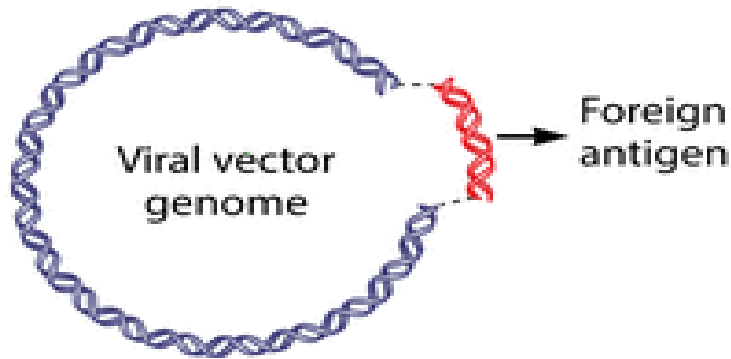
rabies



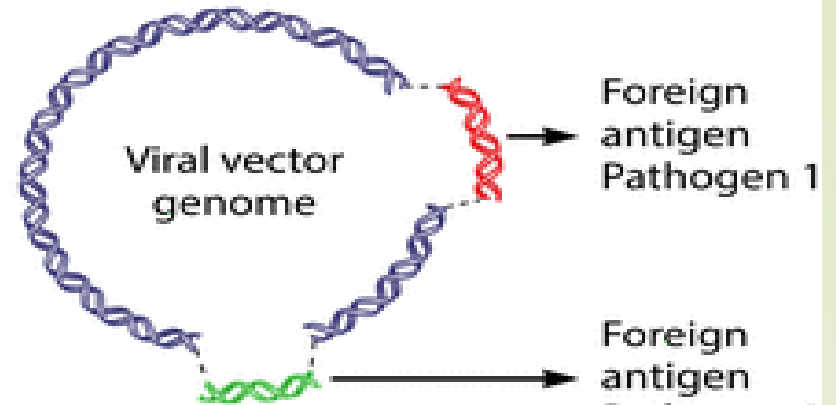
rabies virus



Multipathogen/Multidisease viral vector vaccine

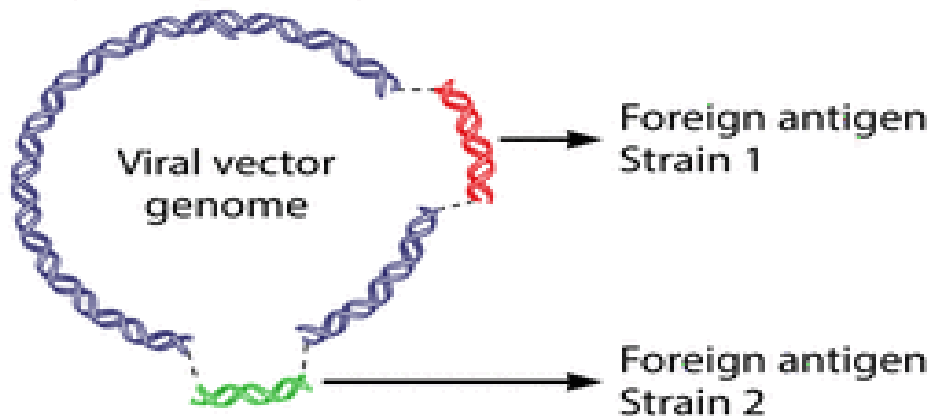


Induces immunity to two or more diseases.
The vector is immunogenic.



Induces immunity to two or more diseases.
The vector is immunogenic or non-immunogenic.

Multipathogen/Polyvalent viral vector vaccine



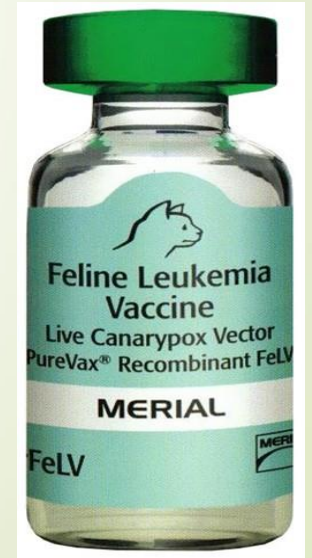
Induces immunity to two or more strains of the same disease.


Vektör aşı örnekleri

- **Kanarya çiçek virusuna CDV+FLV+kuduz** yüzey antijenik proteinlerini kodlayan genler ilave edilerek hazırlanan aşı kedi ve köpeklerde iyi düzeyde bağışıklık sağlamaktadır.

Canarypox virusuna **kuduz virusunun** immunolojik kplementini kodlayan gen ilave edilerek hazırlanan aşılar

Adenovirusa Aujeszky gD kodlayan gen integrasyonu ile hazırlanan aşılar





Vektör Aşılar;

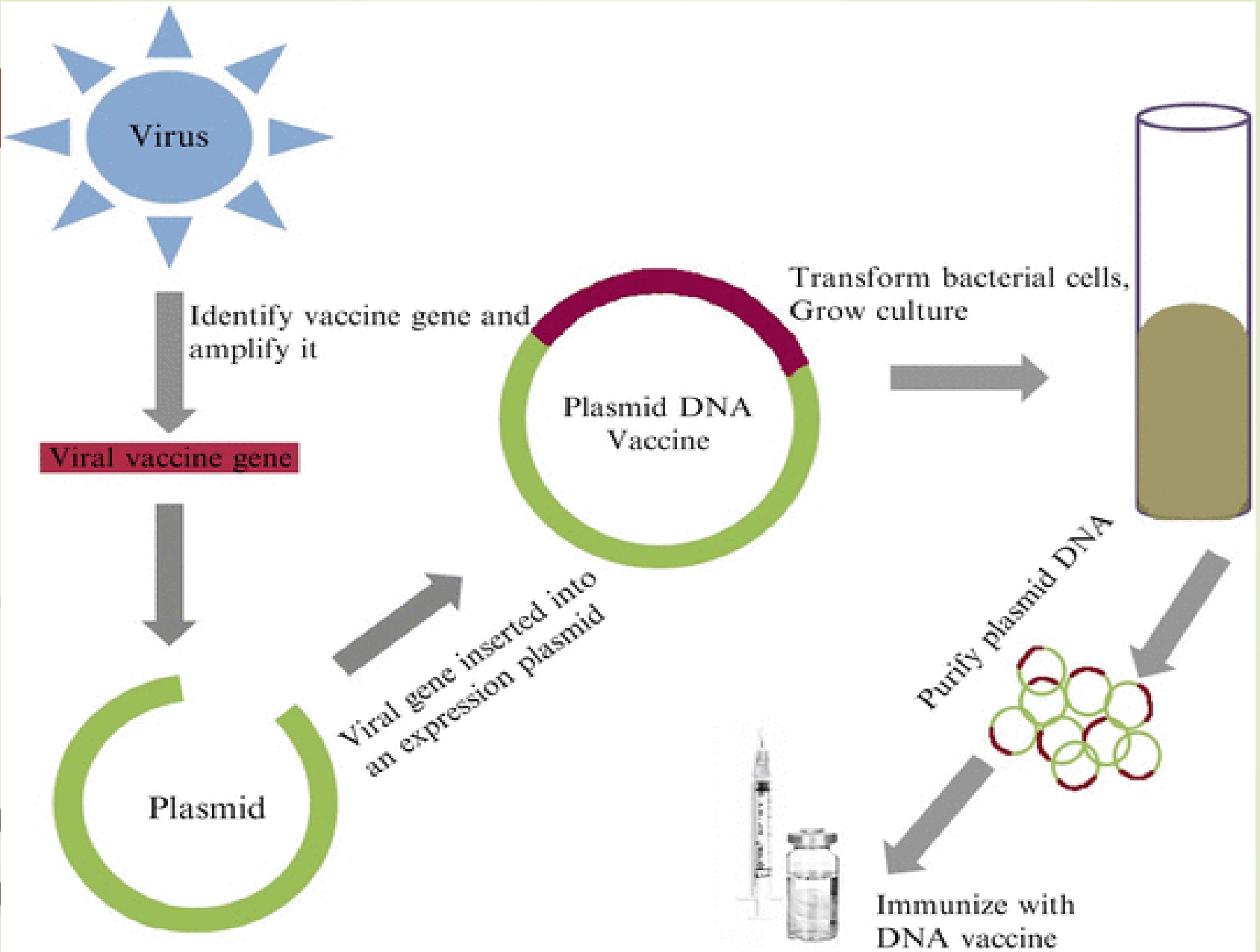
- * Multivalan aşılar hazırlanabilir.
- * Marker aşı olarak değerlendirilebilirler.
- * İlave edilen gen stabilitesine güven olmaz.

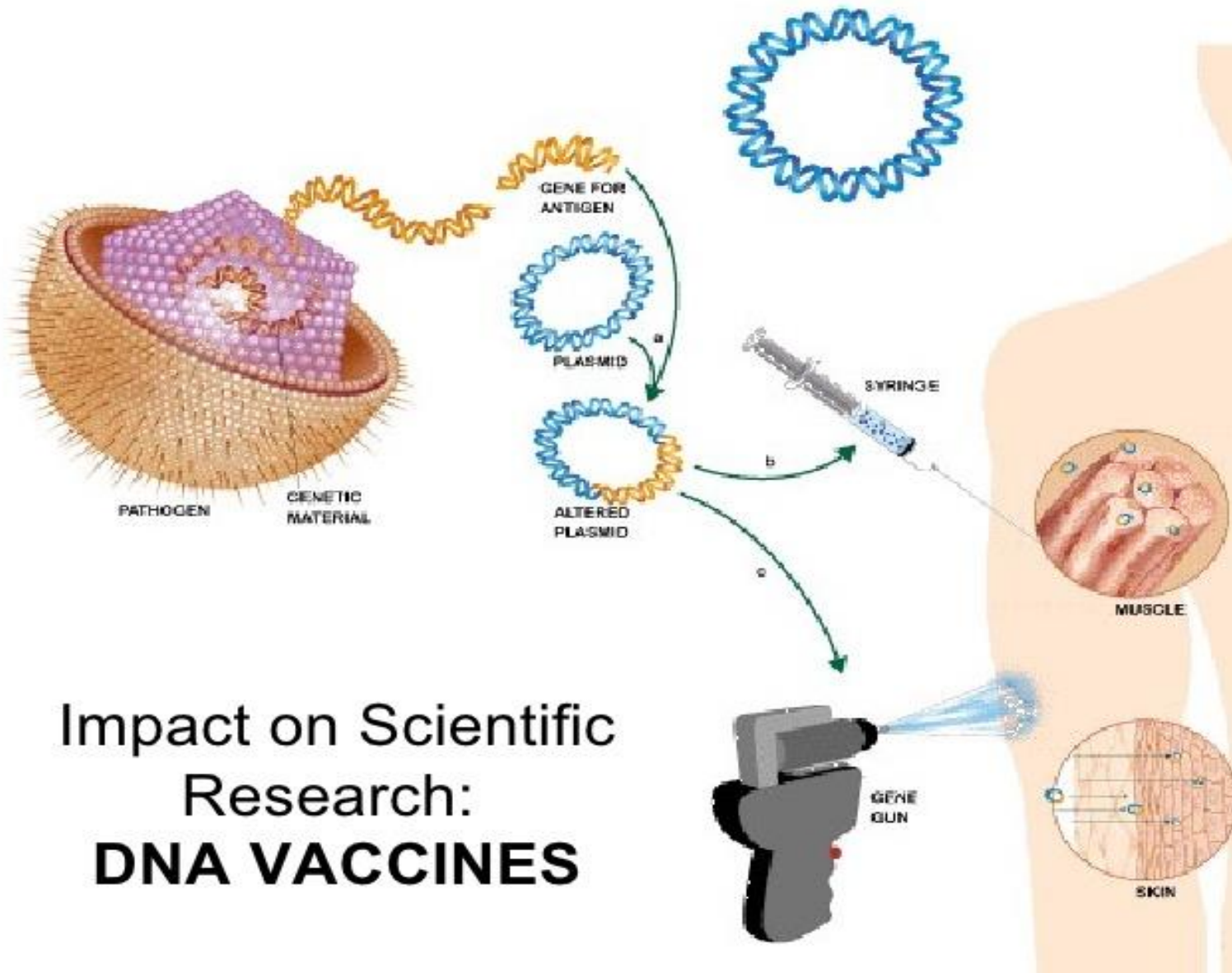
Nükleik Asit (DNA ve cDNA) aşmaları

- Genomik DNA üzerindeki istenilen genin yerinin belirlenmesi ve bu genin RE enzimleri ile çıkarılması
- Plazmid vektörün belirlenmesi ve hazırlanması
- Rekombinant plazmid vektörün E. coli de amplifikasyonu, plazmidlerin E.Coli'den den çıkarılması ve purifikasyonu

Hedef geni taşıyan plazmit'in

- AŞI olarak kullanılması ve
- **plazmid vektörün invivo ekspresyonunun** sağlanması





Impact on Scientific Research: **DNA VACCINES**



DNA aşılarının avantajları

- Patojen içermezler, enfeksiyon riskleri yoktur (saçılım, immunsupresyonlu hayvanlarda etkisi yönünden olumsuzluk taşımazlar.)
- Antijen organizmada sentezlenir.
- İyi düzeyde hücresel ve sıvısal bağışıklık oluşur.
- Bağışıklık uzun sürelidir.

DNA aşılarının dezavantajları

- Aşı hazırlama deneyim, iyi laboratuvar koşulları gerektirir.
- Sprey yada içme suyuna katılarak kullanılamazlar.
- Aşıların bireysel uygulanması gerekir.
- Vektör plazmidlerden gen sekansının çıkması

mRNA Aşıları

- Sentetik olarak hazırlanan mRNA'nın nanopartikül içinde paketlenmesi esasına dayanır.
- Hücre sitoplazmasına giren mRNA'daki bilgi kullanılarak, hedef protein sentezi gerçekleşir.

Pfizer-BioNTech aşısı nasıl çalışıyor

mRNA aşısı bağışıklık sistemine virüsü tanıtabilecek genetik talimatlar verir

Bilim insanları virüsün 'diken' proteininin gen dizilimine odaklanıyor. Bu da bir mRNA dizilimi - hücrelerin 'diken' proteinini üretmek için kullanabileceği talimatlar sentezlemek için kullanılıyor.



'Diken' proteinini



mRNA lipid nano-partikülü

Sentetik mRNA, talimatları hücrelere ileten bir lipid nano-partikülünde paketlenir

Hücre

Hücrenin içine girince, hücresel mekanizması viral proteinler üretmek için mRNA talimatlarını izler. Bu hücrenin yüzeyinde gösterilir ve bağışıklık sistemi müdahalesini tetikler.

T hücreleri

Antikorlar

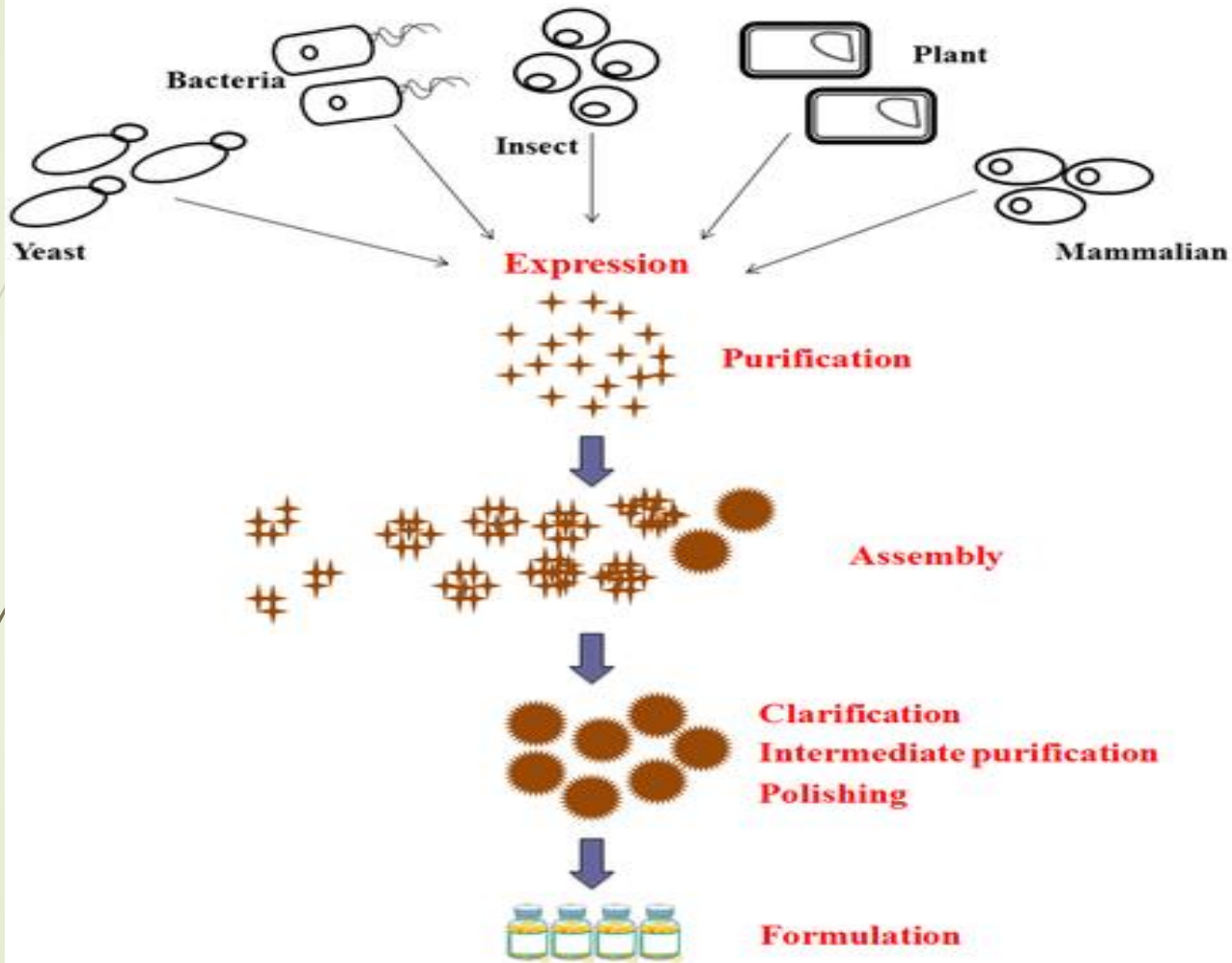
VLP (Virus like particle) Aşıları

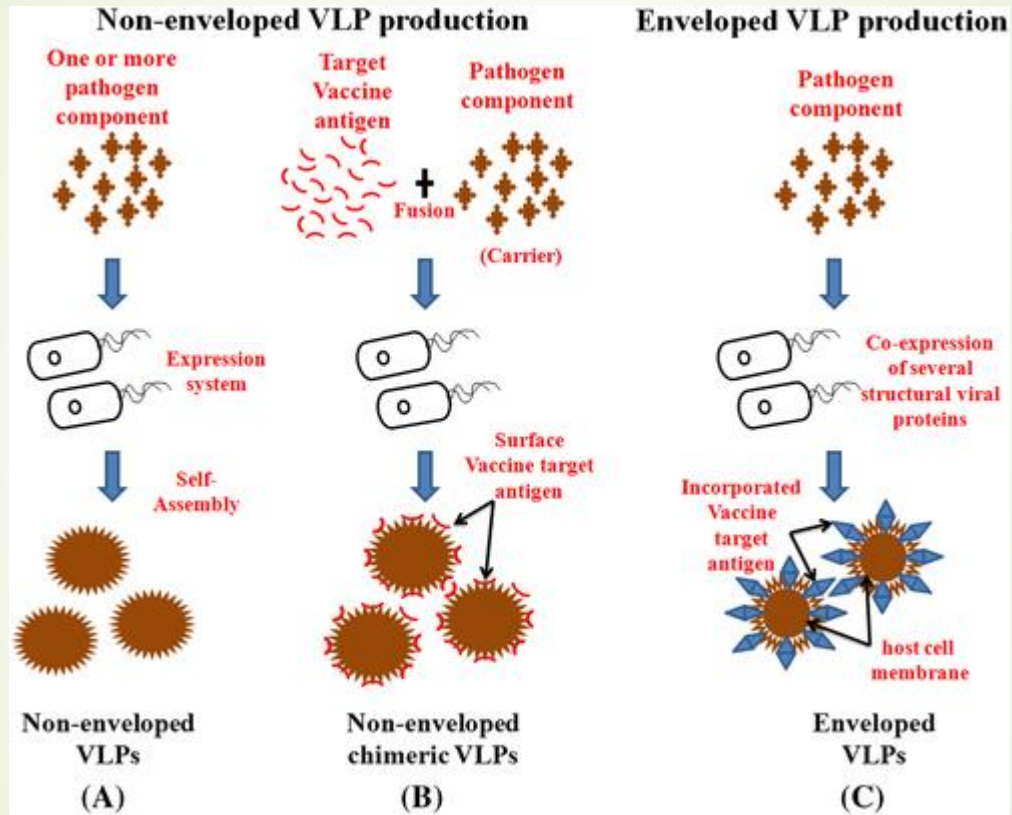
- Genetik materyali olmayan, virüsü taklit eden alt birimli protein aşılarıdır.
- Bu aşılar genellikle tek, monomerik proteinlere dayalı alt birim veya rekombinant immünojenlerden daha immünojeniktir.
- Halen kullanımda olan bazı aşılar (HPV, Hepatit B gibi) vardır.

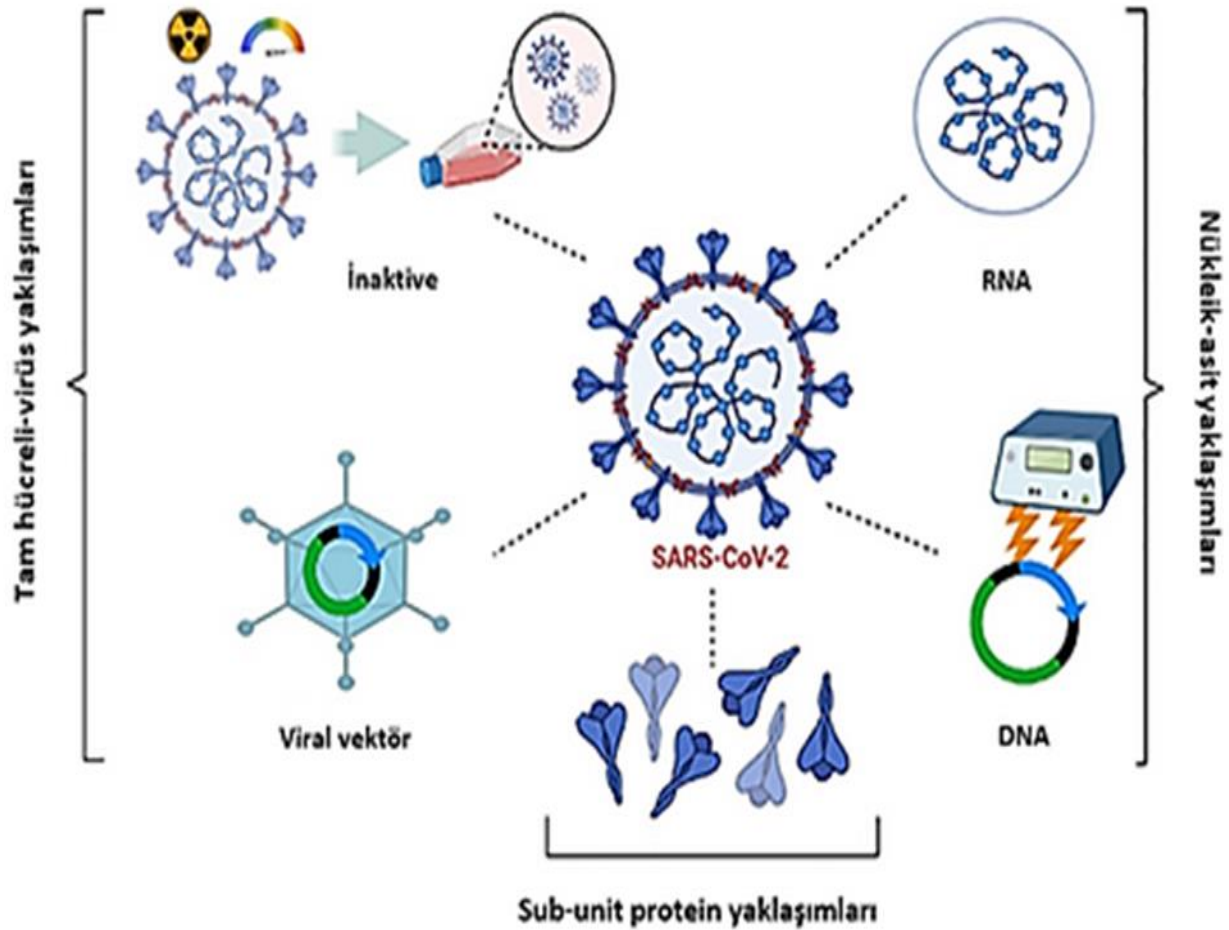
VLP AŞISI

- Seçilen proteini kodlayan gen bilgisini taşıması sağlanan plazmidin uygun ekspresyon sisteminde çoğaltılması ve kendi kendini oluşturan (self-assembly), virusu taklit eden yapıların elde edilmesidir.

Expression System







AŞILARIN UYGULANIŐI

- 1. AŞıların belirli aralıklar ile tek baŐlarına kullanılması
- 2. Ayrı ayrı hazırlanan aşıların aynı anda hayvanın deĐiŐik yerlerine uygulanması (simultane aşılama)
- 3. Kombine aşılar: Üretim aŐamasında kombine edilen aşılar olabildikleri gibi, kullanım aŐamasında da kombine edilebilirler.

Kombine yada simultan aşı uygulamalarının Avantajları

- 1. Aşı üretim maliyeti, ambalajlama maliyeti, soğuk zincirde sahaya sevk maliyeti azalır.
- 2. Uygulama kolaylığı vardır. Kombine ve simultan aşılamalarda , aşıların tek tek uygulanmasına göre sürülerde stress faktörleri en aza indirileceğinden, hayvansal ürün kayıpları da en aza indirilmiş olur.
- 3. Hastalıklarla etkin mücadele için zamanlama avantajı: Özellikle önemli enzootik hastalıkların mücadelesinde kolaylık sağlanır.

Kombine yada simltan aşı uygulamalarının Dezavantajları

- 1.Aşı üretimi sırasında zararsızlık ve etkinlik kontrollerinde maliyet artar.
- 2. Kombine edildikten sonra aşuların birinden istenen etkinliğin sağlanamaması mümkün olabilir. Bu olasılık sorgulanarak, bazen ayrı ayrı üretilip, kullanılmadan önce kombine edilmelerinde yarar vardır. Genellikle bu durumda inaktif aşı canlı liyofilize aşının çözücüsü olarak kullanılır.
- 3.Aşı stabiltesi ile ilgili sorunlar oluşabilir. Bir kombine aşının stabilitesi, stabilitesi kısa olan aşı kadardır.
- 4.Aşılama takviminin düzenlenmesinde sorunlar oluşabilir.