

DNA İmmunizasyonu

Doç. Dr. İnci Başak Müştak

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Mikrobiyoloji ABD

- Spesifik ve koruyucu immun yanıt oluşturmak amacıyla, ***antijeni kodlayan DNA sekansını (geni) içeren plasmid***'in bir insana veya hayvana kontrollü olarak , uygun doz ve yolla immunojen verilmesi işleme immunizasyon veya aşılama ve bu amaçla kullanılan biyolojik maddelere de aşı denir.

Gen klonlaması

- DNA aşılarının üretiminde Rekombinant DNA teknolojilerinden ve buna ait başlıca uygulama yöntemlerinden olan gen klonlamasından faydalanılmaktadır.
- En basit anlamıyla, bir genin identik kopyalarının elde edilmesi
- Önemli bir ürünün (veya proteinin) sentezini kodlayan genin ait olduğu hücre (prokaryotik veya ökaryotik) genomundan (veya kromozomundan) özel yöntemlerle kesilerek çıkarılması, bunun bir taşıyıcı vektör DNA'sı ile birleştirilerek alıcı bir hücreye (prokaryotik veya ökaryotik) transfer edilmesi, bu alıcı hücrede genin ekspresyonunun sağlanmasıdır.

DNA Aşılarının Üretimi

- DNA aşıları, genellikle, güçlü bir viral promotor, antijeni kodlayan hedef gen ve poliadenilasyon sekansını içeren bakteriyel plasmidden oluşur.
- Plasmid bakteri içinde çoğaltılır, bakteriden çıkartılır, saflaştırılır, fizyolojik tuz solusyonunda süspanse edilir ve sonra konakçıya injekte edilir veya bu amaç için özel aletlerden yararlanır (gene gun).
- İnokule edilen konakçıdaki hücreler tarafından plasmid DNA'sının ekspresyonu (transkripsiyon, translasyon) immun yanıtı uyaraçak olan proteinin (antijen) üretimini sağlar.

İdeal Bir Plasmidin Komponentleri

- Güçlü bir ökaryotik promotor,
- Patojene ait genin insersiyonu için bir klonlama bölgesi,
- Bir poliadenilasyon- terminasyon sekansı,
- Bir prokaryotik replikasyon orjini,
- Ampisilin-dirençlilik geni (*amp*) gibi seleksiyonu sağlayan bir marker

DNA Aşılarının Diğer Aşılarla Karşılaştırılması

- Plasmid DNA'sının saflığı, üretim kolaylığı, fiziko-kimyasal stabilitesi
- Tek bir doz içinde çeşitli immunojen kombinasyonları
- Subunit aşılar ve rekombinant proteinlere göre aşı üretimi ve dağıtımı açısından daha ucuz
- DNA ile sağlanan aktarımda aşı antijenlerinin doğal formda ekspresyonu,
- Hem CD4+ yardımcı T hücre hem de CD8+ CTL (sitotoksik T lenfositleri) yanıtı
- Plasmidlerin var olan vektör spesifik immuniteden etkilenmeden tekrarlanabilmesi,
- Çok genç hayvanlarda maternal antikorların varlığında dahi immunité oluşumu,
- Aşıyla kodlanan proteinlerin in vivo, sürekli ve düşük seviyelerde üretimi, yüksek affiniteli T ve B hücreleri

DNA Aşılarının Avantajları

- Herhangi bir DNA sekansı uzun ekler içerenler dahi plasmid içine yerleştirilebilir,
- Fazla miktarda üretilip purifiye edildiklerinde, oda sıcaklığında uzun süreler saklanabilmek için plasmidler liyofilize edilebilir, aşıların transportu kolay ve ucuz,
- Ebola virusu gibi zararlı ajanlara karşı immunojen hazırlanmasında en güvenilir yol
- Uzun süreli antijen ekspresyonu uzun süreli T hücre yanıtı ve immunolojik hafıza oluşumunu sağlar,
- İmmun yanıtın doğasını etkileyebilecek molekülleri de içeren çok sayıda antijeni kodlama potansiyeli,
- Çok sayıda epitopu kodlayan DNA aşıları, doku hasarı yerine korumayla ilgisi olan T hücre yanıtı oluşumu

DNA Aşılarının Dezavantajları

- Antijenlerin protein karakterde olma zorunluluğu ve glukozilasyonlarının sağlanmasındaki zorluklar
- DNA aşılarıyla ilgili önem arz eden olasılıklar
- Plasmid DNA'sının konakçı genomuna integre olarak insersiyonel mutasyonlara ve tümör formasyonlarına yol açması
- anti-DNA antikörlerini de içeren otoimmün yanıtlar
- Tolerans oluşumu veya yoğun antijen ekspresyonuna bağlı olarak self proteinlere karşı var olan toleransın kesilmesi

DNA Aşılarının Geliştirilmesinde Göz Önünde Tutulması Gereken Noktalar

- Aşı yokluğu veya var olan aşıların yetersizliği (örn. HIV, hepatitis C, influenza, tüberküloz, leishmaniosis, schistosomiosis, sıtma)
- Günümüzde aşılama stratejilerinin maliyetlerinin aşılama engelleyici boyutlara ulaşması
- Yeni doğanlarda immunité oluşumu ihtiyacı

DNA Aşılarının Kullanım Alanları

- Bakteriyel İnfeksiyonlar
- Viral infeksiyonlar
- Paraziter İnfeksiyonlar
- Tümörler

Bakteriyel infeksiyonlar

- Brucellosis
- Lyme Hastalığı
- Mycoplasmosis
- Salmonellosis
- Tetanoz
- Tüberküloz

Diğer DNA Aşıları

Viral İnfeksiyonlar

- influenza virusu
- bovine herpes virus
- insan herpes simplex virusu
- kuduz virusu
- Lymphocytic choriomeningitis virus
- cottontail rabbit papilloma virusu
- hepatitis B virusu
- HIV virusu

Paraziter İnfeksiyonlar

- Schistosoma japonicum
- Leishmania major
- Plasmodium yoelii