

DNA AŞILARI

DNA İmmunizasyonu

Vücuda etkeni, etkene ait bir antijeni vermek yerine, antijeni kodlayan DNA sekansını (geni) içeren plasmidin kontrollü koşullar, uygun yol, metodlar kullanılarak verilmesi ve plasmidi alan veya plasmidle transfekte olan hücrelerde hedef (koruyucu) antijenin üretilmesi ve immun sisteme sunulmasıyla sağlanan immunizasyona ***DNA İMMUNİZASYONU*** denir.

Gen klonlaması

- 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.

Gen taşıyan DNA'nın (veya RNA) saf olarak elde edilmesi,

Genin yerinin belirlenmesi,

Genin çıkarılması,

Taşıyıcı (vektör) DNA'nın elde edilmesi,

Gen DNA'sının vektör DNA'sı ile birleştirilmesi,

Oluşan rekombinant vektör DNA'nın alıcı hücreye aktarılması ,

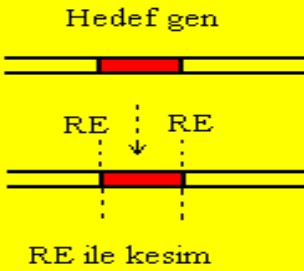
Seleksiyon,

Gen ürününün kontrol edilmesi

DNA Aşılarının Üretimi

Gen Verici (donör) Hücreler

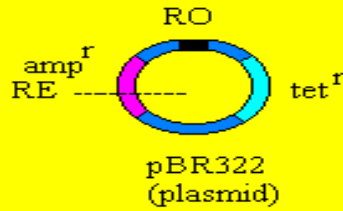
Prokaryotik genler
Ökaryotik genler
vs



spesifik RE ile kesilerek çıkarılan gen

Vektörler

Plasmid, faj,
virus, bakteri
vs



(plasmid)

Rekombinant plasmid

spesifik gen sekansı

E. coli'ye transfer

Okaryotik hücreye transfer

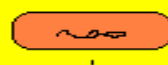
mekik vektör

Genin ekspresyonu
ve
gen ürününün sentezi

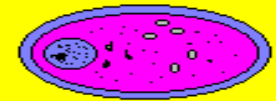
Alıcı Hücreler

Prokaryotik hücreler
Ökaryotik hücreler

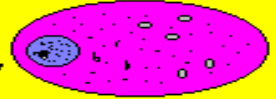
E. coli
(bakteri)



S. cerevisiae



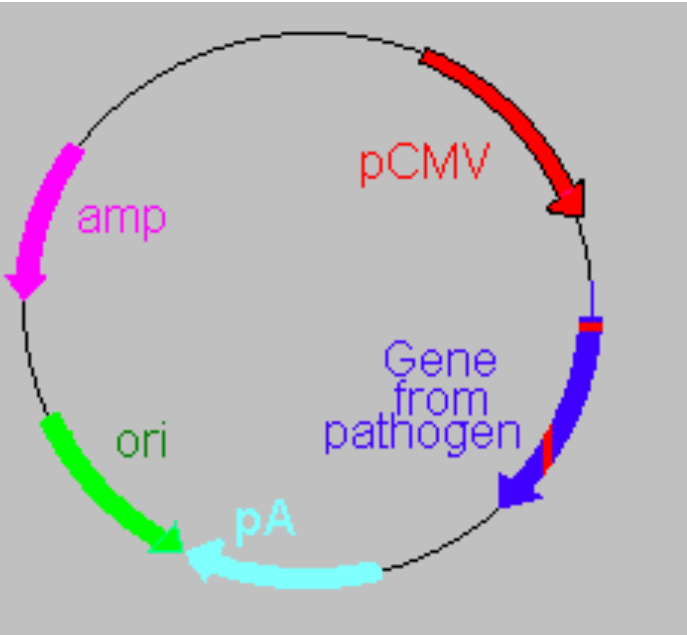
S. cerevisiae protoplastı



plasmidlerin farelere
injeksiyonu



İdeal Bir Plasmidin Komponentleri

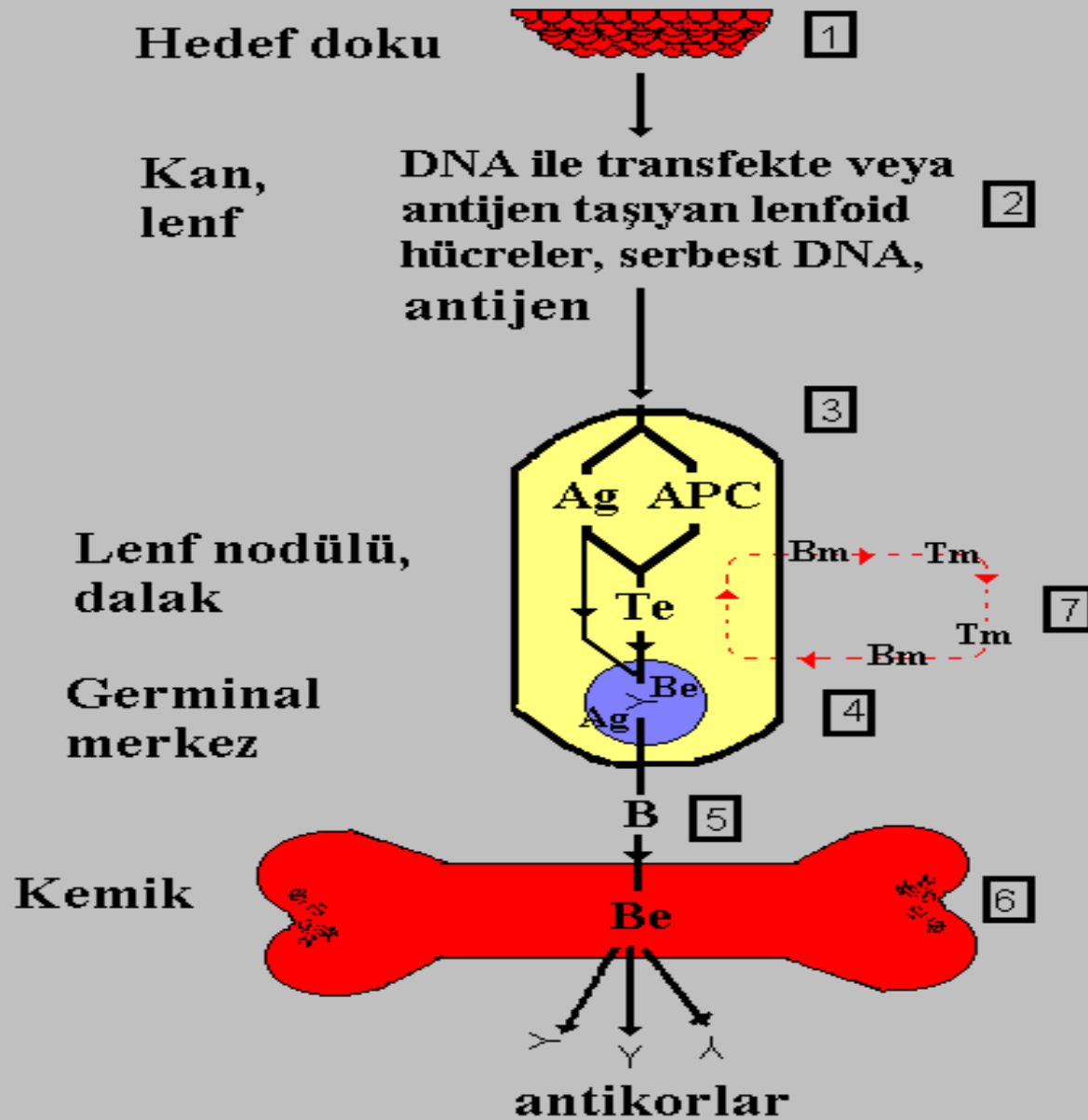


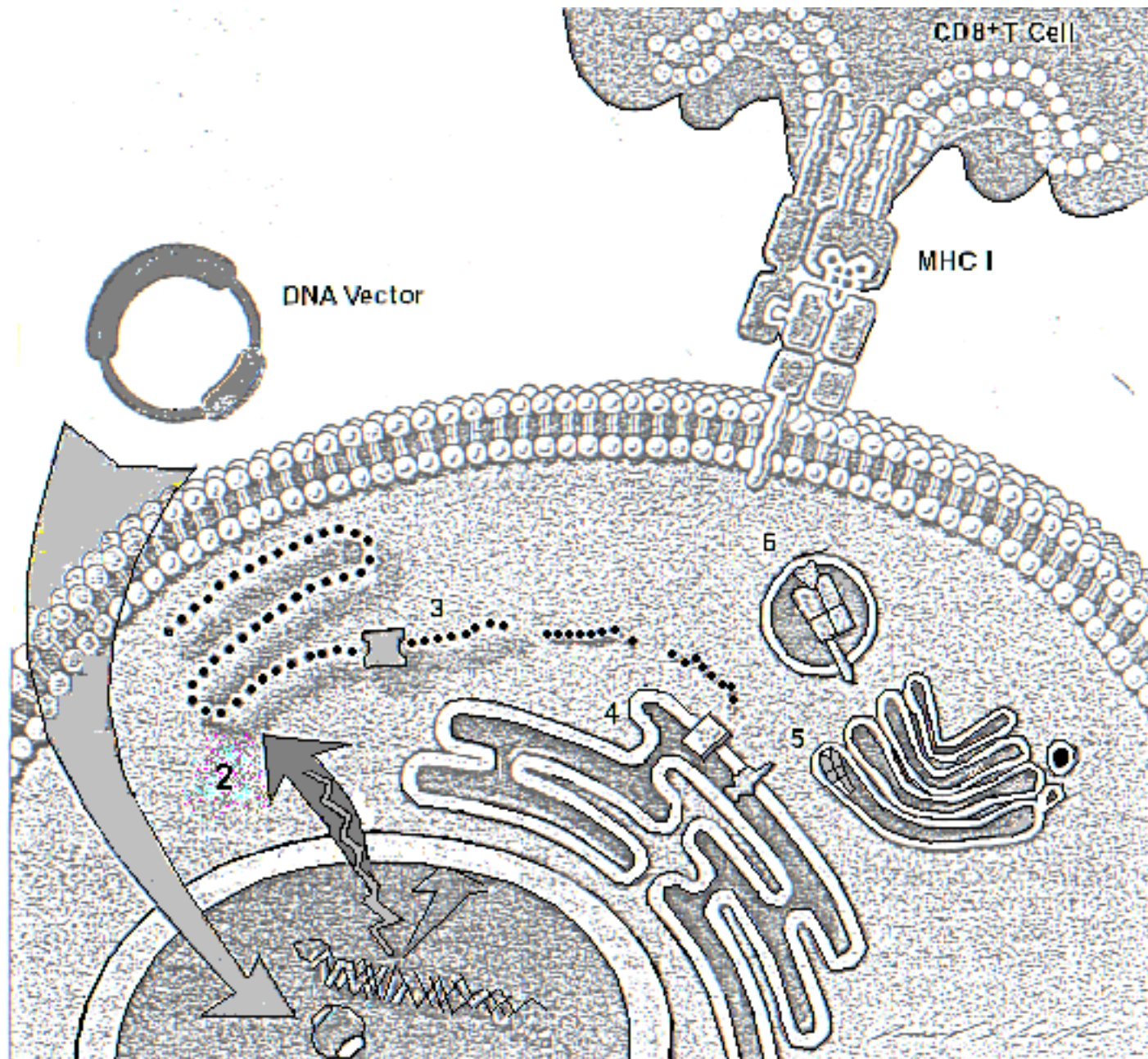
- Güçlü bir ökaryotik promotor,
- Patojene ait genin insersiyonu için bir klonlama bölgesi,
- Bir poliadenilasyon- terminasyon sekansı,
- Bir prokaryotik replikasyon orjini,
- Ampisilin-dirençlilik geni (amp) gibi seleksiyonu sağlayan bir marker

Model	Antijenler	Hayvanlar	Şekillenen hücreler
HSV-1 zosteriform	gB	Fare/BALB/c	T hücreleri
HSV-1 zosteriform	ICP27	Fare/BALB/c	T hücreleri
HSV-1-CTL in vitro	gB and ICP27	Fare/BALB/c/ C57.B46	T hücreleri
HSV-2 vaginitis	gD	Fare/BALB/c	B hücreleri
HSV-2 vaginitis	gD	Guinea pig	B hücreleri
Bovine herpes virus	gIV	Fare/BALB/c	B hücreleri
Influenza lung	NP	Fare/BALB/c	T ve B hücreleri
Influenza lung	HA	Tavuklar	B hücreleri
Influenza lung	NP	Fare/BALB/c	T ve B hücreleri
Influenza lung	HA	Tavuklar	B hücreleri
Influenza	NP	Ferretler ve Afrika yeşil maymunları	B hücreleri
Influenza lung	HA	Fare/BALB/c	B hücreleri
Rabies-I/M	G-protein	Fare/BALB/C3 H/ HEN	T ve B hücreleri
Rabies-I/M	G-protein	Fare/C3H/HEN	T ve B hücreleri
LCMV I/C	NP	Fare/BALB/c	T ve B hücreleri
LCMV I/C	NP	Fare/C57BL/6	T ve B

Model	Antijenler	Hayvanlar	Şekillenen hücreler
Hepatitis C virus	Core protein	Fare/BALB/c	T ve B hücreleri
Hepatitis B virus	HBs Ag	Fare/BALB/c	T ve B hücreleri
Hepatitis B virus	HBs Ag	Fare/BALB/c	T ve B hücreleri
Hepatitis B virus	HBc Ag	C57BL/6	T ve B hücreleri
HIV	gp 160	C57BL/6J	T ve B hücreleri
HIV	gp 120	Fare/BALB/c	T hücreleri
SIV	env ve gag	Rhesus maymunları	T hücreleri
SV-40	Tümör antijeni	Fare/BALB/c	T ve B hücreleri
Plasmodium yoelii	Circumsporozoit protein	Fare/BALB/c	T ve B hücreleri
Plasmodium yoelii	CSP, PyHep17	Fare/BALB/c	T ve B hücreleri
Leishmania major	gp 63	Fare/BALB/c	T hücreleri
Mycoplasma pulmonis	Bütün antijenler ELI	Fare	T ve B hücreleri
Mycobacterium tuberculosis	M. leprae HSP 65	Fare/BALB/c	T hücreleri

TABLO1 DNA Aşılarında Kullanılan Deney Hayvanı Modelleri





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 yanıtı
- Plasmidlerin var olan vektör spesifik immuniteden etkilenmeden tekrarlanabilmesi,
- Çok genç hayvanlarda maternal antikörlerin 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 arzeden 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 engelleme boyutlarına ulaşması
- Yeni doğanlarda immünite oluşumu ihtiyacı

Son Zamanlarda DNA Aşılamalarıyla Elde Edilen Umut Verici Sonuçlar

- Malarya (sıtma)'ya karşı multigen aşılama yapılan farelerde MHC haplotipinde CTL'ne dayalı koruma oluşumu
- İnfluenza virusu gibi antijenik değişkenliğe sahip etkenlere karşı oluşan yüksek koruma raporları
- Şempanzelerde HIV'nun heterolog suşuyla şekillenen enfeksiyona karşı koruyucu immünite oluşumu
- Etkene maruz bırakılma sonrası yapılan aşılamayla farelerde süregelen mikoplasmal pnemoninin ortadan kalkması

DNA Aşılarının Kullanım Alanları

- Bakteriyel enfeksiyonlar
- Viral enfeksiyonlar
- Paraziter enfeksiyonlar
- Tümörler

Bakteriyel İnfeksiyonlar

- Brucellosis
- Lyme Hastalığı
- Mycoplasmosis
- Salmonellosis
- Tetanoz
- Tuberculosis

Diğer DNA Aşıları

Viral Enfeksiyonlar

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

Paraziter Enfeksiyonlar

- Schistosoma japonicum
- Leishmania major
- Plasmodium yoelii

Tümörler