

YENİ NESİL AŞILAR

Yeni Nesil Aşılar

- Modifiye canlı aşılar ve inaktif (ölü) aşılar bugüne kadar birçok infeksiyöz hastalığın kontrolünde başarılı olmuşlardır. Ancak, her zaman için daha etkin, daha ucuz ve daha güvenli aşı üretimine ihtiyaç duyulmaktadır.
 - Yeni Nesil Aşılar:
 - **Gen Klonlaması ile Hazırlanan Aşılar** (antijenler),
 - **Genetik Olarak Attenu Edilmiş Organizma Aşıları**
 - **Canlı Rekombinant Organizma Aşıları**
- olarak sınıflandırılmaktadır.

Gen Klonlaması ile Hazırlanan Aşılar (antijenler) (I. Kategori Aşılar)

- Gen klonlaması yüksek miktarda saflaştırılmış antijen üretimi amacıyla kullanılmaktadır.
- Gen klonlamasının ilk aşaması ilgili antijeni kodlayan DNA'nın izolasyonudur. Bu DNA daha sonra bir bakteri, maya veya başka bir hücreye aktarılarak bu hücrelerde rekombinant antijenin ekspresyonu (üretilecek sergilenmesi) sağlanır.
- Bu şekilde geliştirilen ilk aşı **Şap Hastalığı Virusu'**ndan hazırlanmıştır. Bu virusun yapısı çok iyi bilinmektedir.
- Mevcut antijenleri arasında **VP1** antijenini (**koruyucu antijen**) kodlayan genlerin haritaları çıkartılmıştır.

- İlk olarak şap virusunun **RNA genomu** izole edilir ve **reverz transkriptaz** enzimi kullanılarak DNA'ya transkripte edilir (RNA'nın komplementeri sentezlenerek cDNA elde edilir).
- Daha sonra bu DNA **restriksiyon endonüklez enzimleri** ile sadece VP1 antijenini kodlayan geni kapsayacak fragment elde edilecek şekilde kesilir.
- VP1'i kodlayan DNA sonra bir **plazmide** aktarılır.
- Bu plazmid ise ***Escherichia coli*** bakterisine (**rekombinant bakteri**) aktarılarak bakteri suşu üretilir.
- Bu rekombinant bakteri üredikçe fazla miktarda VP1 üretir.
- Üretilen antijen toplanır, saflaştırılır, ve bundan bir aşı geliştirilir.

- Bu işlem etkili bir işlemdir, çünkü mililitresinde 10^{12} mikroorganizma yoğunluğu sağlanacak şekilde üretilen 10 lt hacmindeki *E. coli*'den **4×10^7 doz şap aşısı** hazırlanabilmektedir.
- Bununla birlikte bu aşı ile oluşturulan bağışıklığın düzeyi aynı virusun inaktif aşısıyla elde edileninden daha düşüktür ve benzer bir koruma sağlanması için 1000 kat yüksek dozda uygulanmasına gerek duyulmaktadır.

Genetik Olarak Attenue Edilmiş Organizmalar (II. Kategori Aşılar)

- Uzun süreli ve tekrarlayan doku kültürü pasajları genetik mühendisliğin basit (primitif) bir formu olarak değerlendirilebilir. Bu uygulamanın beklenen ve istenilen sonucu hastalığa neden olmayan bir organizmanın üretilmesidir. Bunu sağlamak her zaman mümkün olmamakta ve bu şekilde oluşturulan bir **mikroorganizmanın virulent hale geçmesi (reversiyon)** her zaman için bir risk taşımaktadır.
- Ancak, moleküler genetik tekniklerini kullanmak suretiyle bir organizmanın genleri modifiye edilip o organizmanın geriye dönüşümsüz (irreverzibl) bir şekilde attenue edilmesi sağlanabilir. Bu şekilde hazırlanan aşılar **II. Kategori Aşılar** olarak tanımlanmaktadır.

Canlı Rekombinant Organizmalar (III. Kategori Aşılar / Vektör Aşılar)

- Protein antijenlerini kodlayan genler çeşitli organizmalara direkt olarak klonlanabilmektedir (**rekombinasyon**).
- Proteinlerin saflaştırılarak kullanılması yerine, oluşturulan bu rekombinant organizmalar da aşı olarak uygulanabilmektedir.
- Bu aşılar **III. Kategori aşılar** olarak tanımlanmaktadır.
- Deneysel olarak hazırlanmış rekombinant aşılarda bu amaçla **adenoviruslar, herpesviruslar, BCG** veya ***Salmonella*** gibi bakteriler kullanılırken, bu amaçla en yaygın kullanım alanı bulmuş aşılarda ise **sığır çiçek virusu (vaccinia virus), tavuk çiçek virusu (fowlpox)** ve **kanarya çiçek virusu (canarypox)** gibi çiçek viruslarından faydalanmaktadır.

- Bu viruslar **derinin çizilmesi** veya **ağız yoluyla** kolaylıkla uygulanmaktadır.
- Bu viruslar büyük genoma sahip olup, yeni bir genin genoma eklenmesine (**insersiyon**) (bu virus genomlarının yaklaşık %10'luk porsiyonuna yabancı DNA eklenebilir) izin vermekte ve bu genlerin kodladığı antijenler yüksek düzeylerde eksprese (üretilip hücre yüzeyinde sergilenebilmekte) edilebilmektedir.
- Dahası, bu şekilde üretilen rekombinant proteinler çiçek virüsü içerisinde glikozilasyon ve membran transportu gibi uygun işlem aşamalarını da geçirmektedir.