

Rekombinant Aşılar

Mehmet Aytar^{1*}, Gamze Başbülbul^{2,3}

Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji AbD, Aydın
Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Aydın
Adnan Menderes Üniversitesi, Rekombinant DNA ve Rekombinant
Protein Uygulama ve Araştırma Merkezi, Aydın

ÖZET

Aşılar çok eski bir tarihe sahiptir. İnsanlar çeşitli enfeksiyonlardan korunmak için aşılama yöntemini kullanmış ve geliştirmişlerdir. Günümüzde aşılar klasik ve biyoteknolojik aşılar olarak ikiye ayrılır. Rekombinant aşılar mikroorganizmanın tamamı yerine küçük bir parçasını içeren aşılar ve günümüzde yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. Örneğin ülkemizde de kullanılmakta olan Hepatit B aşısı rekombinant bir aşıdır. Dahası, parazitler, virüsler ve bakteriler ile ilgili birçok rekombinant aşı çalışması yapılmaktadır. Gelecek için umut vadeden aşı adayları üretilmiştir. Örneğin: Hepatit B virüsü, zika virüsü, chikungunya virüsü, *Salmonella typhimurium*, *Brucella abortus*, *P. falciparum*, HCV, ASFV, HPV, *Mycobacterium tuberculosis*, *Trypanosoma cruzi*, leptospirosis vb. mikroorganizmalara karşı rekombinant aşı stratejileri geliştirilmiştir.

AŞILARIN TARİHİ

Canlılarda hastalıklardan korunmak amacıyla bağışıklık kazanmalarını sağlayan biyolojik maddelere aşı denir. Son 200 yıldan bu yana başlıca canlı, ölü, toksoid ve polisakkarit aşıları ile aşılama sonucu enfeksiyonların büyük bir kısmı kontrol altına alınabilmiştir. Yeni aşıların geliştirilmesi için denenen farklı teknolojiler arasında sentetik peptidler, DNA aşıları ve rekombinant-vektör aşıları umut verici seçeneklerdir [1].

Aşılama terimi *Vaccinae* virüs isminden türemiştir. 7. Yüzyılda, Hindistan'da Budist keşişlerinin yılan ısırıklarına karşı yılan zehri içmeleri, ikinci bin yılda, çiçek aşısı olarak Orta Asya'da *Variolae* virüsünün sebep olduğu çiçek hastalığının kurutulmuş püstüllerinin aşılamada kullanılması ilk denemelere örnek olarak verilebilir. 1798'de İngiltere'de Edward Jenner çiçek hastalığı virüsüyle yakından ilişkili olan *cowpox* virüsüne karşı aşılama deney sonuçlarını yayınlamıştır. 19. yy'in sonlarında Louis Pasteur diğer hastalıklara aşılama fikrini uygulamıştır. Hastalık yapan organizmaların laboratuvar ortamında zayıflatılabileceğini göstererek, 1885'de ilk defa hayvanlarda *anthrax* (şarbon) ve tavuk kolerasına karşı aşıların etkisini kanıtlamıştır. 1886'da

* Yazışmalardan sorumlu yazarın e-posta adresi: maytar90@gmail.com

Amerika'da Daniel Elmer Salmon ve Theobald Smith, öldürülmüş hastalık yapan mikroorganizmalardan aşı üretilebileceğini göstermişlerdir. 20. yüzyılın başlarında ise Toksoid aşılar geliştirilmiştir.

Tetanoz ve Difteri aşıları bu tip aşılardır. 20. yüzyılın sonlarına doğru yenilikçilik atağı yapılmıştır. Proteinlerin polisakkaritlere konjugasyonu, virüs benzeri partiküllerin montajı, rekombinant organizma üretimi bunlardan en önemlileridir [2].

Rekombinant ürünü aşılarda mikroorganizmaların antijenik komponentleri çıkarılması, sonra alıcı bir hücreye (bakteri, maya) transferi, gen ürünü antijenik proteinin ekspresyonunun sağlanması, hücrelerde biriken proteinlerin elde edilmesi, bunların deneme hayvanlarına verilerek bağışıklık kazandırılması amaçlanır. Hepatit B ve Grip aşıları bunlara örnek verilebilir [1].

REKOMBİNANT AŞI ÜRETİMİ

Rekombinant DNA teknolojisi kullanarak üretilen aşılar rekombinant aşılar olarak adlandırılır. Rekombinant aşılar iki ana kategoride sınıflandırılabilir [3].

- 1- DNA aşıları
- 2- Rekombinant (protein subunit) aşıları

DNA Aşıları

Bu aşılar hastalık-ajan proteinini kodlayan geni içeren sentetik DNA'dan oluşur. *E. coli* 'de çoğaltılmış sentetik DNA içeren plazmid DNA'lar aşı olarak kullanılır. Sonra bu plazmid DNA'lar enjeksiyon için izole edilir ve saflaştırılır. Elde edilen çıplak DNA genellikle kas içi ve deri içine enjekte edilir. Antijen (DNA) viral enfeksiyona benzer bir şekilde doğrudan ifade edilir ve konakta immün tepkiyi başlatır [3].

DNA aşıları tek bir antijenik genle monovalent olarak hazırlanabileceği gibi, birden fazla enfeksiyona karşı multivalent olarak hazırlanabilir (kombine aşı). Eğer bir virüsün, birden fazla alt tipleri varsa, bunlara ait antijenik komponentler aynı plazmide monte edilerek bivalent veya multivalent DNA aşıları da hazırlanabilirler. DNA aşıları avantaj olarak soğuk zincir gerektirmezler [1].

DNA aşıları, şimdiye kadar insan ve hayvanlarda hastalık oluşturan bazı viral ajanlar (HIV, influenza virusu, hepatit virusları, HSV, kuduz virusu, retrovirus, vs.), bakteriler (*Mycoplasma pulmonis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Brucella abortus*, *Salmonella typhi*, vs.) ve parazitler (*Plasmodium yoelii*, *Schistosoma japonicum*, *Leishmania major* vs.) için denenmiştir. Tümörler üzerinde de çalışmalar yapılmaktadır [4].

Rekombinant (Protein Alt-ünite) Aşılar

Bu aşılar patojenik organizmanın sadece bir parçasını içeren subunit aşılardır [3]. Günümüzde araştırma altında olan aşılardan çoğu bu tür saflaştırılmış rekombinant proteinler ya da antijenlerin altünitelerine dayanmaktadır. Şu anda insanda kullanılan en iyi rekombinant protein aşılarından biri Hepatit B aşısıdır [3].

Hepatit B Virüsü için aşı, maya ekspresyon sisteminden HBV yüzey antijeni (HBsAg) eksprese edilerek üretilir. Maya, antijeni saflaştırmayı kolaylaştıran kültür süpernatantına salgılar ve daha yoğun üretilir. Maya tabanlı aşılar güçlü bir hücresel bağışıklık üretirler [3,5].

REKOMBİNANT ALT-ÜNİTE AŞILARIN KLASİK AŞILARA GÖRE AVANTAJLARI

Rekombinant alt-ünite aşilar koruyucu yanıt oluşturmeyan farklı antijenik moleküller içermemelerinden dolayı immün tepkinin sadece koruyucu nitelikli saf antijenlere yönlendirilmesini sağlarlar. Ayrıca, aşı içeriklerinin bağışıklığı baskılayıcı veya zararlı yan etkiler oluşturan komponentlerden arınmış olması ve standart antijen üretiminin güvence altına alınması bu aşiların avantajları arasındadır [6].

Rekombinant proteinlere dayanan aşilar, çoğu tek başına uygulandıklarında zayıf immünojenisiteye sahiptir. Ve böylece daha uzun süreli bir bağışıklık oluşturmak için yardımcı maddelerin kullanılmasını gerektirir. Bunlar adjuvantlardır. Latince “Adjuvare” kelimesinden türer ve yardım anlamına gelir. Adjuvan olarak kullanılan maddeler, genelde: alimunyum tuzu, AS04, MF59’dur [3].

İnsanlar için kullanılan rekombinant aşilar Tablo 1’ de gösterilmiştir.

Tablo 1. İnsanlarda Kullanılan Rekombinant Aşilar [7]

İnsanlarda kullanılan lisanslı ya da geliştirilmiş aşilar		
Organizma ya da Patojen	Tip	Lisanslı ya da Geliştirilmiş
Virüs		
Adenovirüs 4 ve 7	canlı zayıflatılmış	2011
Influenza (nazal sprey)	canlı zayıflatılmış	2009
Kızamık	canlı zayıflatılmış	1963
<i>Polio Sabin(OPV)</i>	canlı zayıflatılmış	1960
<i>Rotavirüs</i>	canlı zayıflatılmış	1998
<i>Rotavirüs Pentavalent</i>	canlı zayıflatılmış	2006
<i>Rubella</i>	canlı zayıflatılmış	1969
<i>Varicella zoster</i>	canlı zayıflatılmış	1995
<i>Yellow fever</i>	canlı zayıflatılmış	1953
<i>Hepatit A</i>	inaktif ya da ölü	1995
<i>Hepatit B</i>	inaktif ya da ölü	1981
<i>Influenza (enjeksiyon)</i>	inaktif ya da ölü	1945
<i>Japanese encephalitis</i>	inaktif ya da ölü	1992
<i>Polio Salk (IPV)</i>	inaktif ya da ölü	1955
<i>Hepatit B</i>	Rakombinant	1986
<i>Human papilloma quadrivalent</i>	Rekombinant	2009
<i>Influenza</i>	Rekombinant	2013
Bakteri		
<i>Tuberculosis</i>	canlı zayıflatılmış	1927
<i>Typhoid</i>	canlı zayıflatılmış	1896
<i>Anthrax</i>	inaktif ya da ölü	1970
<i>Cerebro-spinal meningitis</i>	inaktif ya da ölü	1975
<i>Cholera</i>	inaktif ya da ölü	1896

İnsanlarda kullanılan lisanslı ya da geliştirilmiş aşılar		
<i>Pertussis</i>	inaktif ya da ölü	1918
<i>Plague</i>	inaktif ya da ölü	1897
<i>Rabies</i>	inaktif ya da ölü	1970
<i>Diphtheria</i>	Toxoid	1923
<i>Tetanus</i>	Toxoid	1927
<i>BCG</i>	Rekombinant	1990
<i>Meningococcal</i>	Rekombinant	2014
<i>Pneumococcal 13-valent</i>	Konjuge	2010

Tablo 2. Türkiye'deki Aşılama Kronolojisi [8]

1930'lar	Çiçek Aşılması
1937	Difteri, Boğmaca Aşılması
1952	BCG Aşılması
1963	Oral Polio Aşılması
1968	DBT Aşılması
1970	Kızamık Aşılması
1981	Genişletilmiş Bağışıklık Programı
1985	Türkiye Aşı Kampanyası
1995	Polio Ulusal Aşı Günleri
1996	Kızamık Hızlandırma Kampanyası
1997	Polio Mop-up
1998	Hepatit B Aşılması
2003	Kızamık Okul Aşı Günleri
2005	Kızamık Aşı Günleri
2006	Kızamıkçık, Kabakulak ve Hib (menenjit) aşısının programa eklenmesi, Hepatit B adolesan aşılamaının başlatılması
2008	Pentavalan Aşı (Beşli Karma)
2005-2009	İlk ve ortaöğretim yaş gruplarının Hepatit B aşılması
2006-2009	İlk ve ortaöğretim yaş gruplarının Kızamıkçık aşılması
2008 Kasım	Konjuge Pnömonokok Aşısının (KPA) takvime girişi (Mayıs 2008 doğumlular)
2009 Şubat	MNT Eliminasyonu
2010 Haziran	İlköğretim 1. sınıfta Td ve OPA yerine DaBT-İPA uygulamasına geçilmesi
2011 Nisan	7 bileşenli KPA dan 13 bileşenli KPA nın uygulamaya geçilmesi
2012 Ekim	Hepatit A aşısının takvime eklenmesi (Mart 2011 doğumlular)
2013 Ocak	Suçiçeği aşısının takvime eklenmesi (Ocak 2012 doğumlular)

Yukarıdaki güncel Tablo 2'e göre Türkiye'de kullanılan rekombinant aşı Hepatit B aşısıdır.

REKOMBİNANT AŞILAR İLE İLGİLİ YAPILAN BAZI ÇALIŞMALAR

Ergin ve ark., (1996) sıtmanın dünya genelinde artışına bağlı olarak yeni sıtma aşıları geliştirilmesi üzerinde çalışıldığını ve rekombinant DNA teknolojisi uygulanarak, alt ünite aşılarının geliştirilmesinin mümkün olduğunu aktarmışlardır. Bu amaçla parazitin pre-eritrositik, merozoit, eritrositik ve gametosit devre antijenlerine karşı aşı

geliştirme çalışmaları bulunduğunu ve bundan başka olarak parazitin seksüel üremesini engelleyen “transmission blocking” aşılar geliştirildiğini söylemişlerdir. Bu aşılar sayesinde sivrisinek kişiden kan emdiğinde kandaki antikolar parazitin gelişimini bloke eder ve bu şekilde bulaşma halkası kırılabilir. Pfs 25 yüzey proteini umut vaat eden aşılardan biridir [9].

Wu ve ark.,(2008) sıtma ile ilgili yaptıkları rekombinant aşı çalışmasında, Pfs25 ve Pvs25 sırasıyla *P. falciparum* ve *P. vivax* olan malaria parazitlerinin sivrisinek aşaması yüzey proteinlerini **transmission blocking** aşılar olarak dizayn etmişlerdir. Pfs25'in yoğun olarak bağışıklık sağladığı görülmüştür. Pfs25/ISA51 aşısını kullanarak insanda transmission blocking bağışıklığını uyarmanın mümkün olduğunu ortaya koymuşlardır [10].

Jones ve ark., (2013) alfalfa mozaik virüsü kılıf proteinine kaynaşmış Pfs25 proteinini tasarlamışlardır. Bu virüs benzeri partiküller (VLP) tütün bitkisinde üretilmiştir. Pfs25-CP VLP rekombinant transmission blocking aşısı olarak yüksek potansiyele sahiptir [11].

Chagas hastalığına karşı umut vaat eden bir aşı olarak, *Trypanosoma cruzi*'ye karşı rekombinant subunit aşı için Nt-Cz (Cruzipainin N-terminal domaini) (sistein proteaz) ve ASP-2 (amastigote yüzey proteini) proteinlerini içeren kimerik protein tasarlanmıştır. Ve buna ek olarak STING agonist yeni adjuvant olarak interferon genlerini uyarıcı (halkasal dinükleotit) kullanılmıştır. Böylece güçlü bağışıklık elde edilmiştir. Aşı nazal yolla verilmiştir [12].

Kandilci ve ark. (1995) tarafından 36 Diş Hekimliği Fakültesi öğrencisinde rekombinant Hepatit B aşısının ilk üç dozda etkinliğinin kendi toplumumuza göre değerlendirilmesi yapılmıştır. Her aşı dozundan bir ay sonra kan örneği alınarak koruyucu antikor düzeyleri araştırılmıştır. Birinci, ikinci ve üçüncü aşıları takiben elde edilen serokonversiyon (kan serumunda antikoların gelişmesi) oranları sırasıyla % 36, % 88 ve % 100 olarak saptanmıştır [13].

Yetişkinlerin yüzde 5' inde ticari rekombinant hepatit B aşısı yetersiz kaldığı için yeni bir strateji ortaya konmuştur. Rekombinant aşıların hepsi alüminyum bazlı adjuvantlara sahiptir. Sitokin bazlı AI20 adjuvantı HBVaxPro© aşısına eklenerek bağışıklığın artırılması beklenmiştir. HBAI20 rekombinant aşısı yüzde 90 koruma sağlamıştır ve herhangi bir yan etkisi görülmemiştir. HBVaxPro© 58%' lik korumasına karşı HBAI20 92%' lik güçlü bir koruma sağlamıştır [14].

Hepatit C virüsü (HCV) halihazırda uygun bir aşısı bulunmayan global bir patojendir. Bu virüs genetik olarak çok farklıdır, 7 genotipe ve çok sayıda alttiplere ayrılır. E2' nin hiperdeğişken bölge 1'ine eklenen Flag tag ile 1a, 1b ve 2a genotiplerinden rekombinant HCV glikoproteinlerinin antikor oluşturma yeteneğinin analizi rapor edilmiştir. Bu modifikasyon proteinde hiçbir negatif etki oluşturmamıştır. Fareler üzerinde yapılan antikor oluşturma çalışmalarında, saflaştırılmış E2-Flag mutantları test edilen iki genotipten (1a ve 1b) HCV bulaşıcı partikülleri nötralize edebilen antikoları yüksek miktarda ortaya çıkarmıştır. Bu bulgular E1E2-Flag zarf glikoproteinlerinin HCV aşıları için önemli antijen adayları olduğunu göstermiştir [15]. Rusya ve Kafkasya'dan Avrupa ülkelerine yayılma riski Afrika Domuz Gribi Virüsü (ASFV)' e karşı koruyucu araçların ve bilginin geliştirilmesini zorunlu kılmıştır. ASFV

genomu virüs çoğalması için önemli olmayan birçok geni kodlar. NFkB ve NFAT düzenleyici A238L, Apoptoz inhibitor A224L, MHC-I antigen sunan modulator EP153R, ve Type I IFN düzenlemede ilişkilendirilen A276R genleri bunlara örnek verilebilir. Bu genlerin genotip I atasal ASFV NH/P68'in virölansı ile ilişkili olduğu hipotez edilmiştir. Spesifik markerlar içeren ve bu spesifik genlerden yoksun rekombinant NH/P68 virüsleri oluşturularak canlı, zayıflatılmış aşı prototiplerinin üretimi açıklanmıştır [16].

Erasmus ve ark.(2017) tarafından aşı geliştirmelerinde bağışıklık ve güvenlik arasında tercih yapılması gerekebileceği belirtilmiştir. Canlı-zayıflatılmış aşilar güçlü bağışıklık sunar ama güvenliği zayıftır. Ölü aşiların güvenliği yüksek ama bağışıklık için yüksek dozlar gereklidir. Rekombinant olan aşiların daha etkili olduğu gösterilmiştir. Aşı platformu olarak böceğe özgü Alpha virüs ve Eilat virüs (EILV) geliştirilmiştir. Chikungunya (CHIKV) virüsünün yapısal proteinini içeren kimerik virüs dizayn etmek için Eilat(EILV) virüsünün cDNA klonunu kullanılmıştır. Yeni oluşan rekombinant EILV/CHIKV yapısal olarak yabancı tip Chikungunya virüsüne benzerlik göstermiş ve onun gelişim safhalarını taklit etmiştir. Ama virüs yüksek derecede güvenlik sağlayan üretken çoğaltma yapamamıştır. Sivrisinek hücrelerinde üretilen EILV/CHIKV' nın tek dozu hızlı ve uzun ömürlü nötralize edici antikoları oluşturmuştur. Ve bunlar iki farklı fare modelinde tamamen koruma sağlamıştır. İnsan dışı primatlarda, viremi ve telemetrik izlenen ateşe karşı korunmuş, hızlı ve güçlü bağışıklığı ortaya çıkarmıştır. Sonuç olarak, prelinik aşı geliştirmede EILV platformu böceğe özgü virüsün ilk yapısal doğal uygulamasını sunmuş ve aşılama da böyle virüslerin potansiyel kullanımını vurgulamıştır [17].

Flavivirüs grubundan olan zika virüsüne karşı aşı çalışmasında rekombinant aşı stratejisi ortaya konmuştur. Zika virüsü anormal cenin beyin gelişimi ile ilgilidir. Öncelikli bulaş yolu *Aedes* cinsi sineklerdir. Bu virüse karşı aşı yoksunluğundan dolayı dünya çapında bir endişe vardır. Klinik olarak güvenliği kanıtlanmış "modifiye Vaccinia Ankara (MVA)" vektöründen ZIKV non-structural-1 (NS1) proteininin ifadesini kapsayan alternatif aşı stratejisi açıklanmıştır. Rekombinant MVA-ZIKV-NS1 aşı adayı bağışıklık sistemi olmayan farelerin kas içi bağışıklamasında güçlü salgısal ve hücresel yanıt sağlamıştır. ZIKV (strain MR766)'nin öldürücü beyin içi dozuna karşı %100 koruma sağlamıştır. Bu NS1 tabanlı ZIKV aşısı ve bağışıklığı olmayan fare kullanılarak ZIKV'e karşı tek dozda korumanın ilk raporu sunulmuştur [18].

Quadrivalent human papillomavirüs (HPV) rekombinant aşısı, yani dört tip [6,11,16,18 tipleri] HPV'ye etkin olan aşı, HPV' nin her tipinden rekombinant L1 kapsid proteininin kendi montajıyla formlanan virüs benzeri partiküllerden oluşur. HPV enfeksiyonunda genital bölgede lezyonlar ve siğiller görülür. Koruma için 9 yaşından itibaren iki ya da üç doz, 6 aylık sürelerde uygulanır [19].

Herpes simpleks virüsü ailesinden olan Human Cytomegalovirüs' e karşı yapılan rekombinant aşı çalışmasında CD8⁺ T hücresi bağışıklığı HCMV'den korunmada kritik rol üstlenmektedir. Human Cytomegalovirüs'ü kontrol altına almak için in vitro ortamda çoğaltılan IE1-pp65 kimerik proteini aşı tasarlanmasında umut vaat eden bir proteindir. Sonuçta yüksek oranda CD8⁺ T hücresi bağışıklığı elde edilmiştir [20].

Vemireddy ve ark. (2018) tarafından nazal aşiların geleneksel subunit aşilara alternatif olduğu açıklanmıştır. Dengue virüsü, Zika virüsünün de içinde olduğu

Flavivirüs cinsine aittir. Rekombinant tetravalent dengue antijeni kullanılmıştır. Bu da antijene özgü bağışıklığı canlandırmıştır. Nazal aşı sistemleri küçük dozlarda bile ektilidir [21].

Ebola virüsüne karşı geliştirilen bir aşı çalışmasında, insan dışı primatlarda ebola virüsüne karşı rekombinant aşı (rAd5-GP) üretimi stratejisi incelenmiştir. Ebola virüsü glikoproteinini (GP) kodlayan rekombinant adenovirüs virüs serotype 5 (rAd5) yüksek ölçüde koruyucu olduğu CD8⁺ T hücrelerinin yüksek korumanın oluşmasına aracılık ettiği belirtilmiştir. Böylece CD8⁺ T hücreleri sitotoksik granüllerini kullanarak hücresel bağışıklık sağlamıştır [22].

Koç ve ark.(2014) tüberkülozun dünya çapında önemini korumaya devam ettiğini ve halkı korumada en etkili yolun aşılama olduğunu belirtmişlerdir. Aşı geliştirme aşamasındaki pasajlar ile *M. bovis* suşunun genomunda 16 genomik bölgede (RD1-RD16 artı nRD18) delesyonlar oluşmuştur. Bundan dolayı yıllar içinde BCG nin alt-suşları ortaya çıkmıştır. Bu suşlar dünyada dağılmıştır. Bu suşlardaki temel endişe güvenli koruma sağlayamamasıdır. Aşı çalışmalarında bu durum göz önüne alınmıştır. BCG aşısının TB'un şiddetli formundan çocukları korumakta etkinliği olmasına rağmen BCG etkinliği düşük ve koruma 0 ile %80 arasında değişkendir. Bundan dolayı yeni bir TB aşısının geliştirilmesi yönünde önemli bir çaba olduğu belirtilmiştir [23].

Rekombinant altünite aşular leptospirozise (domuz çobanı hastalığı) karşı güçlü alternatifler olarak geniş bir şekilde değerlendirilmiştir. Burada leptospirozisin kontrolü ve ondan korunmak için aşı adayı olarak AddaVax adjuvant formülasyonları içeren iki rekombinant proteini değerlendirilmiştir (rErp Y-like, rLemA). Cevap baskın bir şekilde IgG2/3 üzerinde temellenmiştir. Elde edilen bulgularda LemA (%87.5 koruma oranı) ve Erp Y-like (%62.5 koruma oranı) proteinleri ölümcüllüğe karşı korumuş ama doku lezyonlarına karşı koruyamamıştır. Ayrıca, AddaVax, leptospiral aşuların bağışıklığı geliştirmesi için potansiyel yeni bir adjuvant olarak bildirilmiştir [24].

Huang ve ark. (2018), ilaç dirençli tüberkülozun ve HIV-TB ko-enfeksiyonlarının ortaya çıkmasından dolayı terapötik aşular dahil olmak üzere yeni terapötik yaklaşımlara acil ihtiyaç duyulduğunu bildirmişlerdir. Terapötik aşuların TB enfeksiyonuna karşı antijene özgü immün cevabı uyararak iyi bir strateji olduklarını ispatlamışlardır.

Huang ve ark. (2018), yaptıkları çalışmada, füzyon antijeni Ag85B-Rv3425 (A3)'i ifade eden lentiviral vektör tabanlı immunojenite ve tedavi etkisi için bir rekombinant plazmid oluşturulmuştur. In vivo ortamda plazmidle taşınan A3 ün ifade edilebildiği ve faredeki rekombinant A3 proteini ile kıyaslandığında tümör nekrozis faktör- α ve interleukin-2 üretimini daha yüksek oranda indüklediği bulunmuştur. Rekombinant plazmid ile akciğerde ve dalakta bakteriyel yük azalmıştır. Ayrıca akciğer dokularındaki TB lezyonları da azalmıştır. Sonuç olarak A3 ifade eden lentiviral vektör tabanlı rekombinant plazmidin etkili ve akut TB enfeksiyonu tedavisi için gelecek vadeden bir terapötik ajan olduğunu belirtmişlerdir [25].

Yeni rekombinant BCG (rBCG)'nin immunojenitesinin ve koruyuculuğunun araştırıldığı çalışmada, BCG'ye göre daha koruyucu olduğu ancak daha fazla çalışma yapılması gerekli olduğu bildirilmiştir. Ag85C, MPT51 ve HspX antijen epitopları

sayesinde yeni rBCG-CMX aşısı geliştirilmiş ve hastalığın akciğerdeki lezyonları ve bakteri yükünün azaldığı saptanmıştır [26].

İndriarini ve ark. (2018) tarafından yapılan tüberküloza karşı rekombinant aşı çalışmasında, *Mce1A* geninin *Mycobacterium tuberculosis*'in hayatsal faaliyetlerini kontrol ettiği tahmin edilmiştir. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing suşunun *Mce1A* geni rekombinant plazmidle *E. coli* BL21(DE3)'ye aktarılmış ve beklenenin üstünde *Mce1A* protein üretimi gerçekleşmiştir. Bu rekombinant proteinin gelecek aşı geliştirme çalışmalarına ışık olacağı düşünülmüştür [27].

Tüberküloza karşı tasarlanmış rekombinant aşı çalışmasında, *Mycobacterium tuberculosis* Ag85B₂₄₀₋₂₅₄ antijeninin p25 CD4⁺ T cell epitopunu ifade eden (rIAV) rekombinant influenza A heterolog aşısı *M. tuberculosis* 'e karşı koruma için kullanılmış ve başarılı bir koruma potansiyeli olduğu tespit edilmiştir. Günümüzdeki BCG aşısından daha etkili olduğu görülmüştür. Bir doz burun içi bağışıklama yöntemiyle rIAV X31(H3N2 strain)'i kullanılmıştır [28].

Li ve ark. (2018) çalışmasında bakterinin kendi O4 antijeni yerine Vi kapsular antijen ve O9 O-antijen üreten *Salmonella typhimurium* tasarlanmıştır. Bu canlı rekombinant zayıflatılmış *S. typhimurium* mutanti fare modeli üzerinde etkili bir aşı olmuştur. Üretilen anti-Vi ve anti-O9 antikorları *Salmonella typhimurium* ve bu antijenleri içeren diğer *Salmonella* türlerini de öldürmüştür [29].

Brucella abortus' a karşı yapılan rekombinant aşı çalışmasında bu bakteriden L7/L12 ve glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) rekombinant proteinleri üretilmiştir. L7/L12 rekombinant proteini immün sistemi uyarmada GAPDH' den daha etkili olduğu görülmüştür. Bu proteinin rekombinant aşı hazırlanmasında ve diagnostik testlerde kullanılabileceği belirtilmiştir [30].

SONUÇ

Sonuç olarak, günümüzde artık yeni nesil aşular tedavisi olmayan hastalıklar için koruyucu tedavi umudu olarak görülmektedir. Rekombinant aşular henüz yeni aşı stratejileri olmasına rağmen birçok enfeksiyon hastalığına karşı başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Hepatit B virüsü, zika virüsü, chikungunya virüsü, *Salmonella typhimurium*, *Brucella abortus*, *P. falciparum*, HCV, ASFV, HPV, *Mycobacterium tuberculosis*, *Trypanosoma cruzi*, leptospirosis vb. mikroorganizmalara karşı güçlü hücresel ve salgısal bağışıklık elde edilmiştir. Günümüzde toplumun en çok karşılaştığı enfeksiyon hastalıklarla mücadelede rekombinant aşular ile oldukça başarılı sonuçlar elde edilmekte ve aşı üretimi kolaylaşmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Altınsoy, N. 2007. Aşı Üretim Teknikleri ve Kontrolü. *AÜ Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.*
2. Plotkin, S. A. 2012. Vaccine Fact Book 2012 S.7, University of Pennsylvania
3. <https://www.genscript.com>
4. Arda M. 2000. Viral Aşular. Temel Mikrobiyoloji. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Ankara*

5. Ardiani, A., Higgins, J. P., & Hodge, J. W. (2010). Vaccines based on whole recombinant *Saccharomyces cerevisiae* cells. *FEMS yeast research*, 10(8), 1060-1069.
6. Büyüktanır, Ö. 2010 Günümüzde Biyoteknolojik Bakteriyel Aşılar. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 5(2).
7. Hudu, S. A., Shinkafi, S. H., & Umar, S. (2016). An Overview Of Recombinant Vaccine Technology, Adjuvants And Vaccine Delivery Methods. *Int J Pharm Pharm Sci*, 8, 19-24.
8. <https://www.langturk.com/turkiyede-asi-uygulamalari-ve-asilarin-tarihi-seyri/>
9. Ergin M. A., Ergüven S. 1996. Sıtma Aşıları. *Türk Hij. Den. Biyol. Derg.*, Cilt: 53, S: 41-43
10. Wu, Y., Ellis, R. D., Shaffer, D., Fontes, E., Malkin, E. M., Mahanty, S., ... & Aebig, J. (2008). Phase 1 trial of malaria transmission blocking vaccine candidates Pfs25 and Pvs25 formulated with montanide ISA 51. *PloS one*, 3(7), e2636.
11. Jones, R. M., Chichester, J. A., Mett, V., Jaje, J., Tottey, S., Manceva, S., ... & Norikane, J. (2013). A plant-produced Pfs25 VLP malaria vaccine candidate induces persistent transmission blocking antibodies against *Plasmodium falciparum* in immunized mice. *PloS one*, 8(11), e79538.
12. Alberti, A. S., Bivona, A. E., Cerny, N., Schulze, K., Weißmann, S., Ebensen, T., ... & Guzmán, C. A. (2017). Engineered trivalent immunogen adjuvanted with a STING agonist confers protection against *Trypanosoma cruzi* infection. *NPJ vaccines*, 2(1), 9.
13. Kandilci, S., Çokça, F., & Karaağaçlıoğlu, L. (1995). Rekombinant Hepatit B Aşısı İle Temas Öncesi Profilaksiste Serokonversiyon Oranlarının Araştırılması. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 48(01).
14. Koc, Ö. M., Savelkoul, P. H., van Loo, I. H., Peeters, A., & Oude Lashof, A. M. (2018). Safety and immunogenicity of HBAI 20 Hepatitis B vaccine in healthy naïve and non - responding adults. *Journal of viral hepatitis*.
15. Krapchev, V. B., Rychłowska, M., Chmielewska, A., Zimmer, K., Patel, A. H., & Bieńkowska-Szewczyk, K. (2018). Recombinant Flag-tagged E1E2 glycoproteins from three hepatitis C virus genotypes are biologically functional and elicit cross-reactive neutralizing antibodies in mice. *Virology*, 519, 33-41.
16. Gallardo, C., Sánchez, E. G., Pérez-Núñez, D., Nogal, M., de León, P., Carrascosa, Á. L., ... & Revilla, Y. (2018). African swine fever virus (ASFV) protection mediated by NH/P68 and NH/P68 recombinant live-attenuated viruses. *Vaccine*, 36(19), 2694-2704.
17. Erasmus, J. H., Auguste, A. J., Kaelber, J. T., Luo, H., Rossi, S. L., Fenton, K., ... & Frolov, I. (2017). A chikungunya fever vaccine utilizing an insect-specific virus platform. *Nature medicine*, 23(2), 192.
18. Brault, A. C., Domi, A., McDonald, E. M., Talmi-Frank, D., McCurley, N., Basu, R., ... & Guirakhoo, F. (2017). A Zika vaccine targeting NS1 protein protects immunocompetent adult mice in a lethal challenge model. *Scientific reports*, 7(1), 14769.

19. McCormack, P. L. (2014). Quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16, 18) recombinant vaccine (Gardasil®): a review of its use in the prevention of premalignant anogenital lesions, cervical and anal cancers, and genital warts. *Drugs*, 74(11), 1253-1283.
20. Nguyen, T. H., Sullivan, L. C., Kotsimbos, T. C., Schwarzer, A. P., & Mifsud, N. A. (2010). Cross - presentation of HCMV chimeric protein enables generation and measurement of polyclonal T cells. *Immunology & Cell Biology*, 88(6), 676-684.
21. Vemireddy, S., & Pallavi, P. (2018). Chitosan stabilized nasal emulsion delivery system for effective humoral and cellular response against recombinant tetravalent dengue antigen. *Carbohydrate polymers*, 190, 129-138.
22. Sullivan, N. J., Hensley, L., Asiedu, C., Geisbert, T. W., Stanley, D., Johnson, J., ... & Reimann, K. A. (2011). CD8+ cellular immunity mediates rAd5 vaccine protection against Ebola virus infection of nonhuman primates. *Nature medicine*, 17(9), 1128.
23. Koç, A. N. 2014. BCG Aşısı ve Yerine Gelecek Yeni Yaklaşımlar. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 44(4):123-131
24. Oliveira, T. L., Schuch, R. A., Inda, G. R., Roloff, B. C., Neto, A. C. P. S., Amaral, M., ... & Hartwig, D. D. (2018). LemA and Erp Y-like recombinant proteins from *Leptospira interrogans* protect hamsters from challenge using AddaVax™ as adjuvant. *Vaccine*, 36(19), 2574-2580.
25. Huang, H., Wang, F., Yang, E., Wang, H., Gao, P., & Shen, H. (2018). Assessment of recombinant plasmid expressing fusion antigen Ag85B-Rv3425 in management of acute tuberculosis infection in mice. *Experimental and therapeutic medicine*, 15(3), 3034-3039.
26. da Costa, A. C., de Oliveira Costa-Junior, A., de Oliveira, F. M., Nogueira, S. V., Rosa, J. D., Resende, D. P., ... & Junqueira-Kipnis, A. P. (2014). A new recombinant BCG vaccine induces specific Th17 and Th1 effector cells with higher protective efficacy against tuberculosis. *PLoS One*, 9(11), e112848.
27. Indriarini, D., Rukmana, A., & Yasmon, A. (2018). Cloning and expression of mce1A gene from *Mycobacterium tuberculosis* Beijing and H37RV strain for vaccine candidate development. *African journal of infectious diseases*, 12(1S), 127-132.
28. Muflihah, H., Flórido, M., Lin, L. C. W., Xia, Y., Triccas, J. A., Stambas, J., & Britton, W. J. (2018). Sequential pulmonary immunization with heterologous recombinant influenza A virus tuberculosis vaccines protects against murine *M. tuberculosis* infection. *Vaccine*, 36(18), 2462-2470.
29. Li, P., Liu, Q., Luo, H., Liang, K., Han, Y., Roland, K. L., ... & Kong, Q. (2018). Bi-valent polysaccharides of Vi capsular and O9 O-antigen in attenuated *Salmonella Typhimurium* induce strong immune responses against these two antigens. *npj Vaccines*, 3(1), 1.
30. Kazak, E., Oliveira, S. C., Goral, G., Akalin, H., Yilmaz, E., Heper, Y., & Oral, H. B. (2010). *Brucella abortus* L7/L12 recombinant protein induces strong Th1 response in acute brucellosis patients. *Iranian Journal of Immunology*, 7(3), 132.