

REKOMBİNANT AŞILAR

Prof.Dr. Adil Denizli
Hacettepe Üniversitesi Kimya Bölümü Biyokimya ABD.
Doç.Dr. Sinan Akgöl
Arş.Gör. Nevra Öztürk
Adnan Menderes Üniversitesi Kimya Bölümü Biyokimya ABD.

Tek bir viral ya da bakteriyel proteini çok miktarlarda üretmek amacıyla maya ya da bakterilerden faydalanarak üretilen aşılarda rekombinant aşılardır. Bu üretilen protein daha sonra saflaştırılıp, hastaya enjekte edilir ve hastanın bağışıklık sistemi, hastalık yapan proteine karşı antikorları üretilip, insanları doğal hastalıklara karşı korur.

Aşı, kan yoluyla vücudumuza enjekte edildikten sonra enfeksiyonlara karşı koruyucu antikorlar oluşturabilmek için bağışıklık sistemimizi uyaran antijenik bir karışımdır. Antijenik maddeler normalde enfeksiyon ajanının inaktive edilmiş şeklidir. Rekombinant DNA teknolojilerinden önce iki tip aşı kullanılmaktaydı. Bunlar inaktif ve aktif aşılardır. İnaktif aşılarda çeşitli enfeksiyon etkenlerinin kimyasal maddelerle inaktive edilmesi ile elde edilirler. Aktif aşılarda ise doğal ve yapay yöntemler uygulanarak zayıflatılmış mikroorganizmalardan hazırlanırlar. İnaktif aşılarda bazı dezavantajları vardır. Bunlar:

- ❖ Çok miktarda kullanma gereksinimi,
- ❖ Genellikle iki ya da üç doz halinde verilmesi,
- ❖ Hazırlamalarının zor ve zaman alıcı olması,
- ❖ Kısa süre için bağışıklık sağlamaları,
- ❖ Aşı sonrası yan etkiler göstermeleri,
- ❖ İyi inaktive edilemedikleri durumlarda enfeksiyona yol açabilmeleri,
- ❖ Muhafazalarının zor olması,
- ❖ Yapısının inaktive edici maddelerle bozulabilmesidir.

Aktif aşılarda da bazı dezavantajları vardır:

- ❖ Vücutta üreyerek çeşitli hastalıklara neden olabilirler,
- ❖ Üretildikleri ortamda başka virüslerle ve bakterilerle kontamine olabilirler,

**Özel amaçlar için
üretilen rekombinant
aşılarda koruyucu
etkileri diğer aşılara
göre fazladır.**



- ❖ Kısa süre muhafaza edilebilirler,
- ❖ Titrelerinin ayarlanmasında zorluklar vardır,
- ❖ Aşı şuşları antijenik özelliklerini kaybedebilir,
- ❖ Aşı kombinasyonları genellikle sınırlıdır.

Tek bir viral ya da bakteriyel proteini çok miktarlarda üretmek amacıyla maya ya da bakterilerden faydalanarak üretilen aşılarda rekombinant aşılardır. Bu üretilen protein daha sonra saflaştırılıp, hastaya enjekte edilir ve hastanın bağışıklık sistemi, hastalık yapan proteine karşı antikorlar üretilip, insanları hastalıklara karşı korur.

Rekombinant Aşıların Tarihçesi

1970'lerde ve 1980'lerin başında bir vektöre yerleştirilmiş genler kullanılarak bağışıklık sistemi üzerine araştırmalar başlatılmıştır. 1990'ların başında, bu genlerin protein ürünlerinin aşılamada kullanılabileceği düşünülmüştür. Araştırmacılar ilk başlarda endişeliydiler, çünkü yapılacak olan aşı patojenlere karşı korumalıydı. 1992'de deney hayvanlarıyla çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Daha sonraki birkaç yıl içinde hücrelere dağılabilen DNA aşılarda geliştirilmiş ve bu aşılarda kemirici hayvanlar üzerinde denenmiştir. Çeşitli patojenlere ve kansere karşı B hücrelerini, sitotoksik T hücrelerini ve yardımcı T hücrelerini uyarak bağışıklık yanıtı oluşturmuştur. 1990'ların ortalarına kadar deney hayvanları üzerinde rekombinant aşı çalışmaları devam etmiştir. 1995'in başlarında HIV genleri taşıyan plazmidler rekombinant aşı uygulaması ilk kez bu hastalığı taşıyan insanlara enjekte edilerek yapılmıştır. 1996'da insanlar üzerinde çalışmalar artarak devam etmiştir. Daha sonra, HIV ya da grip proteinlerini kodlayan genler sağlıklı insanlara enjekte edilmiştir. Daha sonra, uçuk, hepatit B, malaria paraziti gibi viral hastalıklar ile kolon ve prostat kanserinden korunmak için aşılarda geliştirilmiştir. Her ne kadar kanser viral bir hastalık olmasa da vücudun bağışıklık sistemini etkileyen önemli bir hastalıktır.

Aşıların Rekombinant Proteinler Gibi Üretilmesi

Eğer belirli bir virüsün antijenik proteinini kodlayan genlerin tespiti yapılabilir ve bir vektör içine konulabilirse, hayvan proteinlerinin sentezi için kullanılan yöntemlerle aşı olarak kullanılabilecek rekombinant proteinler üretilir. Antijeni taşıyan bu vektör aşı olarak kullanılabilir ve kasa enjekte edilebilir ya da gen tabancası denilen bir cihazla deri içine püskürtülebilir.



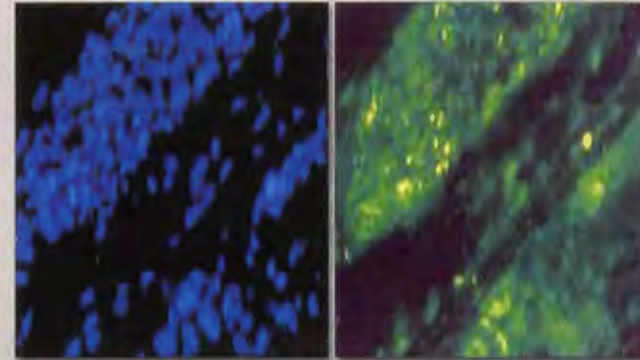
Şekil 1: Antijeni taşıyan vektörün aşı olarak kasa enjekte edilmesi ve gen tabancası denilen bir cihazla deri içine püskürtülmesi.

Bu alanda gen klonlamasının kullanılmasıyla, virüs-spesifik antikorların bazen sadece virüslere değil aynı zamanda izole edilen virüs bileşenlerine de cevap verebilme yeteneğinde sentezlenebildiği keşfedilmiştir. Bu, özellikle virüsün kılıfında var olan proteinlerin saflaştırılmasıyla gerçekleştirilir. Eğer belirli bir virüsün antijenik proteinini kodlayan genler saptanabilir ve bir vektör içine konulabilirse, hayvan proteinlerinin sentezi için kullanılan yöntemlerle aşı olarak kullanılabilecek rekombinant proteinler üretilir. Bu aşıların normal virüs partikülünden serbest olabilmeleri ve büyük miktarlarda elde edilebilmesi gibi avantajları vardır.

Bu araştırmadaki en fazla başarı hepatit B virüsü üzerinde elde edilmiştir. Hepatit B dünyanın pek çok yerinde bulunan, karaciğere yerleşen ve kronik enfeksiyon sonrası karaciğer kanserine neden olan bir virüsdür. Hepatit B'ye yakalanıp iyileşmiş bir insanın gelecek enfeksiyona bağışıklığı oluşur, çünkü kanı bir virüs kılıfı proteinini olan hepatit B yüzey antijenine (HBsAg) karşı antikorlar içerir. Bu protein 2 µm boyutunda plasmid vektör aracılığıyla hem *Saccharomyces cerevisiae*, hem de çin hamster yumurtalık hücrelerinde sentezlenebilmektedir. Her iki durumda da protein büyük miktarlarda elde edilebilmektedir ve deney hayvanlarına enjekte edildiğinde hepatit B'ye karşı koruma sağlayabilmiştir.

HIV virüsüne karşı da bir rekombinant aşı geliştirilmiştir. Mavi etiketli soldaki şekil aşısız kas hücrelerini, yeşil etiketli sağdaki şekil ise HIV virüsü taşıyan rekombinant aşı enjekte edilmiş kas hücrelerini göstermektedir. Bu yeşil yerler viral gene spesifik HIV proteinleri ile kaplanmış kas hücrelerine aittir. Bu fotoğraflar, bu bağışıklık cevabı uyarmak için ihtiyaç duyulan proteinlerin rekombinant aşılar ile sağlanabileceğinin bir ispatı olarak çekilmiştir.

Üretilen protein, hastaya enjekte edilir ve hastanın bağışıklık sistemi, hastalık yapan proteine karşı antikorlar üretip, insanları hastalıklara karşı korur.



Şekil 2: Mavi etiketli soldaki şekil aşısız kan hücrelerine aittir. Yeşil etiketli sağdaki şekil ise HIV virüsü taşıyan rekombinant aşı enjekte edilmiş kas hücrelerine aittir.

Rekombinant HBsAg'nin aşı gibi kullanılmasının başarısının anahtarı, virüsler için doğal enfeksiyon sürecinin olağanüstü özelliğinden kaynaklanır. Enfekte olmuş bireylerin kanı sadece 42 nm yarıçapındaki bozulmamış hepatit B partiküllerini içermez, aynı zamanda tamamen HBsAg protein moleküllerinden oluşmuş 22 nm boyutlarındaki küreler de içerir. Bu 22 nm boyutlarındaki kürelerin montajı, hem maya hem de hamster hücrelerinde HBsAg sentezi sırasında gerçekleştirilir ve bu küreler rekombinant aşının etkili bir bileşenidir. Böylelikle rekombinant aşı, doğal enfeksiyon sürecinin herhangi bir kısmını taklit eder ve antikor üretimini uyarır. Ama küreler uygulanabilir virüsler gibi olmazlarsa aşı tek başına hastalık yapmaz. Hem maya hem de hamster hücrelerindeki aşılar insanlara uygulanabilirlik için geliştirilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü bunların kullanımını doğal aşılama programları ile geliştirmektedir.

Transgenik Bitkilerde Rekombinant Aşılar

Rekombinant aşıların sentezi için transgenik bitki kullanımını eczacılıkta oldukça önemli gelişmeler yol açmıştır. Bitkilerin büyümesi ve mahsulünün kolayca yapılması, dünyanın pek çok yerinde özellikle rekombinant protein üretiminin ekonomik nedenlerden dolayı zor yapıldığı yerlerde, bu teknolojinin uygulanabilir olmasını sağlar. Eğer rekom-

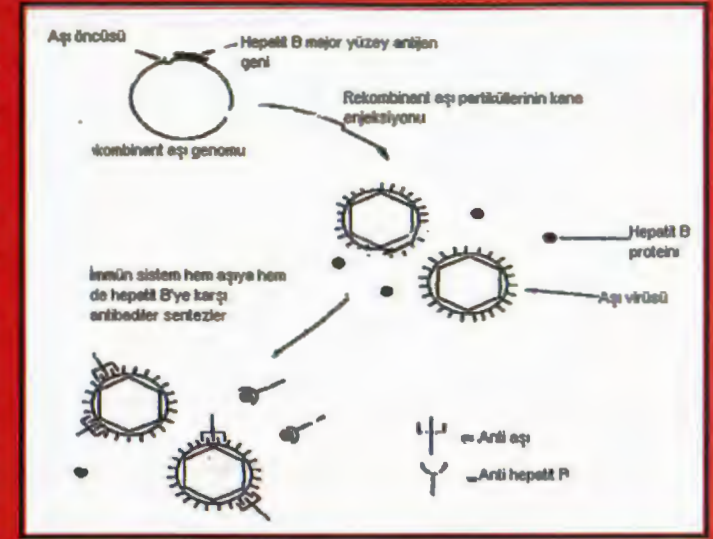
binant bir aşı ağız yoluyla alımdan sonra etkili olabiliyorsa bağışıklık ya sadece yenebilen kısımdan ya da transgenik bitkinin tümünden sağlanır. Bu yaklaşımın uygulanabilirliği, HBsAg ve kızamık virüsü kılıf proteinleri gibi aşı deneyleri ile kanıtlanmıştır. Deney hayvanlarının transgenik bitkilerle beslenerek bağışıklık kazanması sağlanmıştır. Ayrıca bu girişim çeşitli aşıları taşıyabilen bitkilerin yapımında da kullanılabilir, böylece belli hastalıklara karşı bağışıklık tek bir kaynaktan elde edilebilir. Bu teknolojiyle ilgilenen şirketlerin karşılaştığı temel problem hedef hastalığa karşı oluşturulacak rekombinant aşı için gerekli olan bitkilerin yetersizliğidir. Aşının ürününün tamamen etkili olabilmesi için yenilen bitkinin yaklaşık yüzde 8-10 arasında çözünabilir protein içermesi şarttır. Ancak bu miktar pratikte oldukça azdır (yaklaşık yüzde 0,5 kadar). Ayrıca değişik bitkilerin ürünlerinin değişkenliği de önemlidir. Bitki çekirdeğinden çok kloroplast genomunda klonlanan genin yerinin belirlenmesi ile kısmen bir çözüm sağlanabilir. Bu sayede rekombinant proteinlerden daha yüksek saflıkta ürünler elde edilebilir. Fakat, kloroplastta üretilen proteinler glikozilanamazlar, bu yüzden post-translasyonel modifikasyona ihtiyaç duyan bu aşılar bu yolla üretildiklerinde etkin olamazlar. Bunlar genellikle viral kılıf proteinleridir, ama kolera gibi hastalıklara bağışıklık sağlayabilen bakteri yüzeyi proteinleri kullanılabilir.

Canlı Rekombinant Virüs Aşıları

Frengi aşısı gibi canlı aşı virüslerinin kullanılması 1796'lara dayanır, bu virüsün canlılara zararlı olduğunu ilk bulan Edward Jenner'dır ve daha tehlikeli frengi virüslerine karşı bağışıklık sistemini uyarabilmiştir. Aşı terimi aşılamadan gelmektedir ve 1980'de tüm dünyada bu sayede frenginin kökü kurutulabilmiştir.

Rekombinant aşı virüsünün canlı aşılar olarak çeşitli hastalıklara karşı kullanılabilmesi fikri son yıllarda oldukça gündemdedir. HBsAg gibi bir virüs kılıf proteinini kodlayan bir gen aşı öncüsü kontrolü altında aşı genomuna bağlanırsa gen daha sonra ifade edilir.

Kana enjekte edildikten sonra Rekombinant virüsün replikasyonu sadece yeni aşı partikülleri sağlamaz aynı zamanda büyük miktarlarda major yüzey antijeni sağlar. Bu sayede hem frengi hem de hepatit B'ye karşı dünyada bağışıklık sağlanmıştır. Bu tekniğin dikkate alınır bir potansiyeli vardır. Çok sayıda yabancı genler taşıyan rekombinant aşı virüsleri üretilip hastalıklı deney hayvanlarında kullanılmıştır. Geniş spektrumlu aşılar tek bir rekombinant aşının gösterisiyle kaldırılmıştır, örneğin maymunlarda görülen hastalıklar için HBsAg ve herpes simplex virüs glikoprotein ve grip virüsü heamagglutinin bağışıklık için kullanılmıştır. Kuduz glikoproteinlerini taşıyan aşı virüsleri çalışmaları virüsü replike olmaktan koruyan timidin kinaz enzimi için aşı geninin silinmesini gösterir. Bu, canlı aşı yapılan hayvanların inek frengisinin



herhangi bir formunu geliştirme olasılığından kaçınmak için yapılır, normal aşılarla hastalık oluşur. Günümüzde bu canlı virüs aşıları Avrupa ve Kuzey Amerika'da kuduz kontrolü için kullanılmaktadır.

Kaynakça

1. Genetic Vaccines B. Weiner and C. Kennedy, Scientific American, 1999.
2. Gene Cloning and DNA Analysis, TA Brown, Blackwell Publishing, 2001.



ikram sorunlarınıza lezzetli çözümler



**HER YERDE
HER ANDA
HER KOŞULDA
İKRAM HİZMETİ**

Tel : 0312 395 44 50 (pbx) Faks : 0312 395 44 51

www.aysegulerlercatering.com