



Aşı Teknolojisi ve Aşı Tipleri

Prof. Dr. Necla TÜLEK

Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi

İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji

TARİHÇE

Introduction of variolation

<http://pathmicro.med.sc.edu/ghaffar/vac023.jpg>

The wife of the British Ambassador in Turkey, in March 1717 wrote, following the variolation of her son, to a friend in England: "The small pox, so fatal, so general amongst us, is entirely harmless here by the invention of ingrafting....I am patriot enough to bring this invention into fashion in England."

- ❖ Hinc
- ❖ Çin'de
- ❖ yarar
- ❖ Anac
- ❖ Edw
- ❖ alında
- ❖ Louis Pasteur; tavuk kolerası, sarban, kuduz aşları

uygulama
n korumak için çiçek
tion"

süt işçilerinden

.....
**GEÇMİŞTE YARARLI, G
TARTIŞMALI**



İdeal Bir Aşı

- ❄ İmmünojenik olmalı
- ❄ Uzun süreli immünite sağlamalı
 - Bellek yanıt olmalı
- ❄ Güvenilir olmalı
- ❄ Saha koşullarında stabil olmalı
- ❄ Herkes için erişilebilir olmalı
- ❄ Sağlıklı olmayan kişilerde de kullanılabilirmeli



KLASİK AŞILAR

- Hayvanlarda çoğaltma
 - (vaccinia-sığır
 - Kuduz-tavşan beyni)
- Basit bakteri kültürü sonra inaktivasyon
- Yumurtada üretme (influenza, vaccinia) sonra inaktivasyon

Her m.o. kültürde üremez
Her m.o. için uygulanamaz
Laboratuvar güvenliği
Pahalı
Yeterli attenuasyon?
Soğuk zincir gerekliliği



ABD.de yıllık influenza aşısı için >100 milyon yumurta



Günümüzde ;

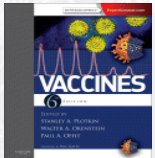
Aşı bir sağlık teknolojisi ürünüdür.

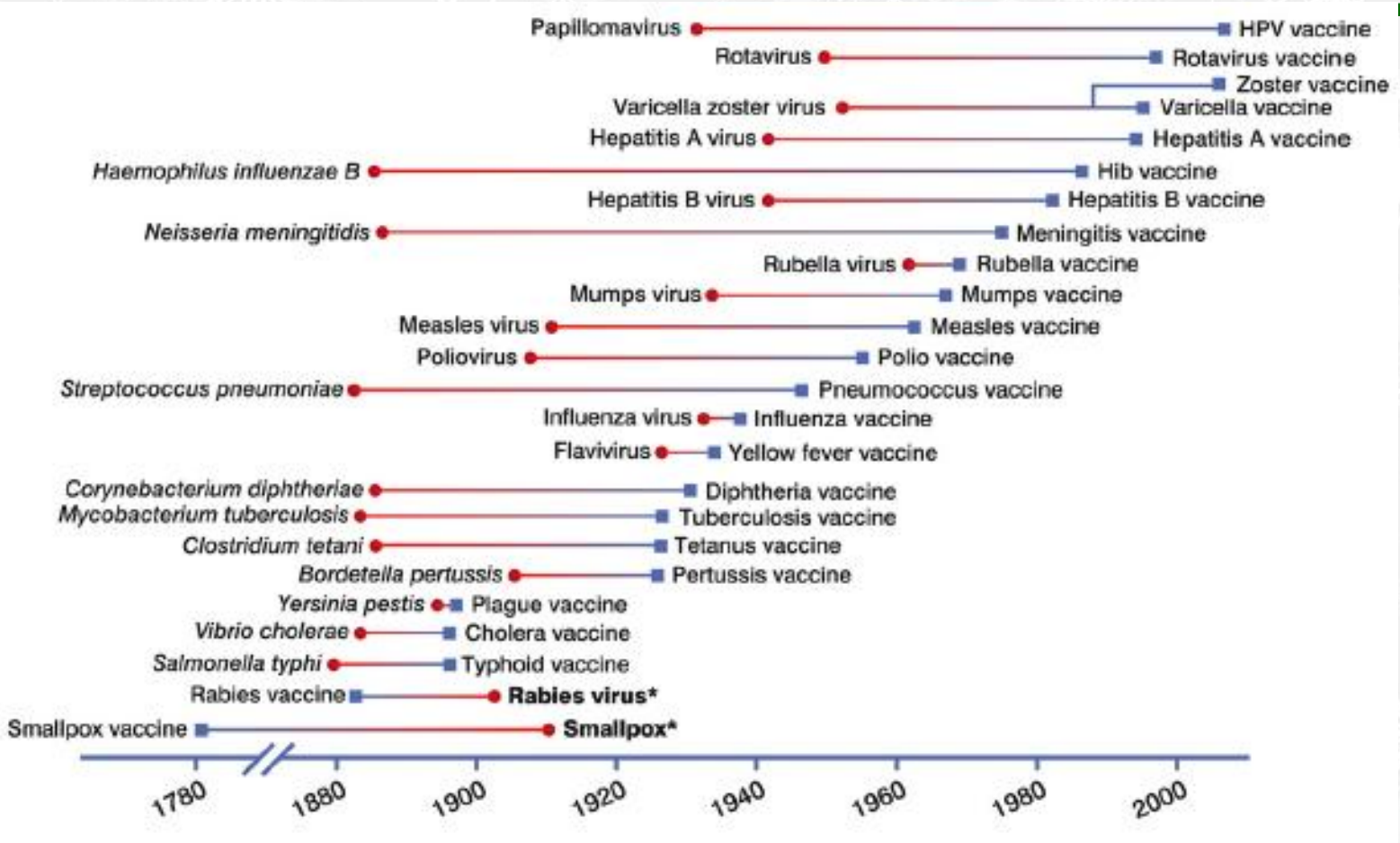


Günümüzde Aşı Teknolojisi

- ❖ İnfeksiyon dinamiği
- ❖ Moleküler biyoloji
 - Genomiks, proteomiks
 - Mikroarray
 - Rekombinant DNA teknolojisi
- ❖ Genetik mühendisliği
- ❖ Protein ve polisakkarit kimyası
- ❖ İmmunoloji
- ❖ Viroloji
- ❖ Bakteriyoloji
- ❖ Fermentasyon, makromoleküler saflaştırma, formülasyon
- ❖ Bilgisayar teknolojisinde

.....**GELİŞMELERİN ÜRÜNÜ**





*During the development of the rabies and smallpox vaccines, it was discovered that the infectious agent was not a bacterium, although viruses would not be directly observed until the 1930s



Aşı Üretimi-I

Aşıya gereksinim var mı?

İnfeksiyonun epidemiyolojisi

Hastalık yükü

Mevcut korunma -önleme -tedavi yöntemleri

Aşının etkinliği?

Yeni aşı için biyoteknolojik durum

Aşının epidemiyolojik, ekonomik etkisi

Maliyet analizi

Aşı Üretimi-II

Nasıl üretilecek?

Mikroorganizma?

Üreme?

Genleri?

Antijenik determinantlar?

Patojenitesi,toksinler?

İmmün yanıt? İmmunobiyoloji

Tasarım



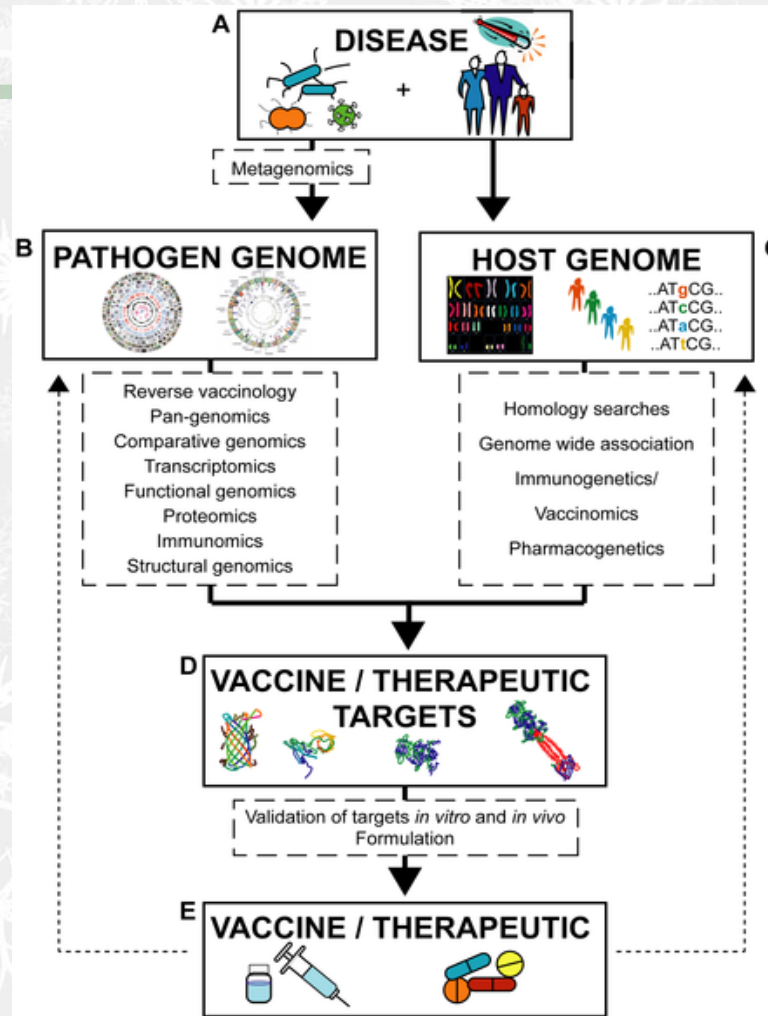
Aşı Üretimi-III; Tasarım

Klasik; rasyonel-ampirik yaklaşım

Yeni stratejiler

- ❖ Tersine aşılama
 - Mikroorganizmaları üretmeksizin, genomuna ilişkin bilgiler ve bilgisayar yardımıyla, aşıların tasarımılanması
 - Her bir Ag değerlendirilebilir, kültüre edilemeyen m.o.lara uyarlanabilir, yaygın olmayan ama immunojenik ag.ler tespit edilebilir.
- ❖ Yapısal biyoloji: Aşı gelişimi ve analizinde, aşının hedefi yapıların değerlendirilmesinde; nötralizan antikör epitoplari, reseptörler ve varyasyonlar değerlendirilebilir.

Aşı ya da ilaç üretiminde genomik bazlı yaklaşım



Seib KL, Dougan G, Rappuoli R (2009) The Key Role of Genomics in Modern Vaccine and Drug Design for Emerging Infectious Diseases. *PLoS Genet* 5(10): e1000612.

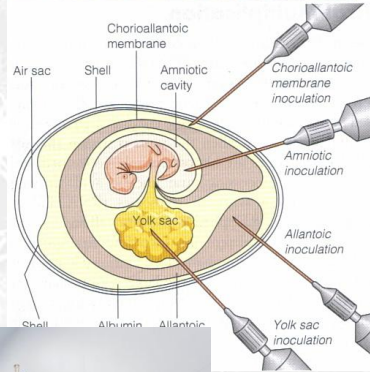
Aşı Üretimi-IV; Araştırma

Antijenin belirlenmesi

Antijenin Üretimi

(in vivo, in vitro, sentetik)

İzolasyon, inaktivasyon,
saflaştırma, formülasyon



Saflaştırma(downstream bioprocessing)teknolojisi

Kaba kontaminantlar
Mikroheterojen kontaminatlar

- ❄ Klarifikasyon
 - Santrifugasyon
 - Filtrasyon,ultrafiltrasyon
- ❄ Afinite veya iyon exchange kromatografi
- ❄ Polisaj (nano-ultrafiltrasyon cihazlar)





Aşı İçeriği

Antijen

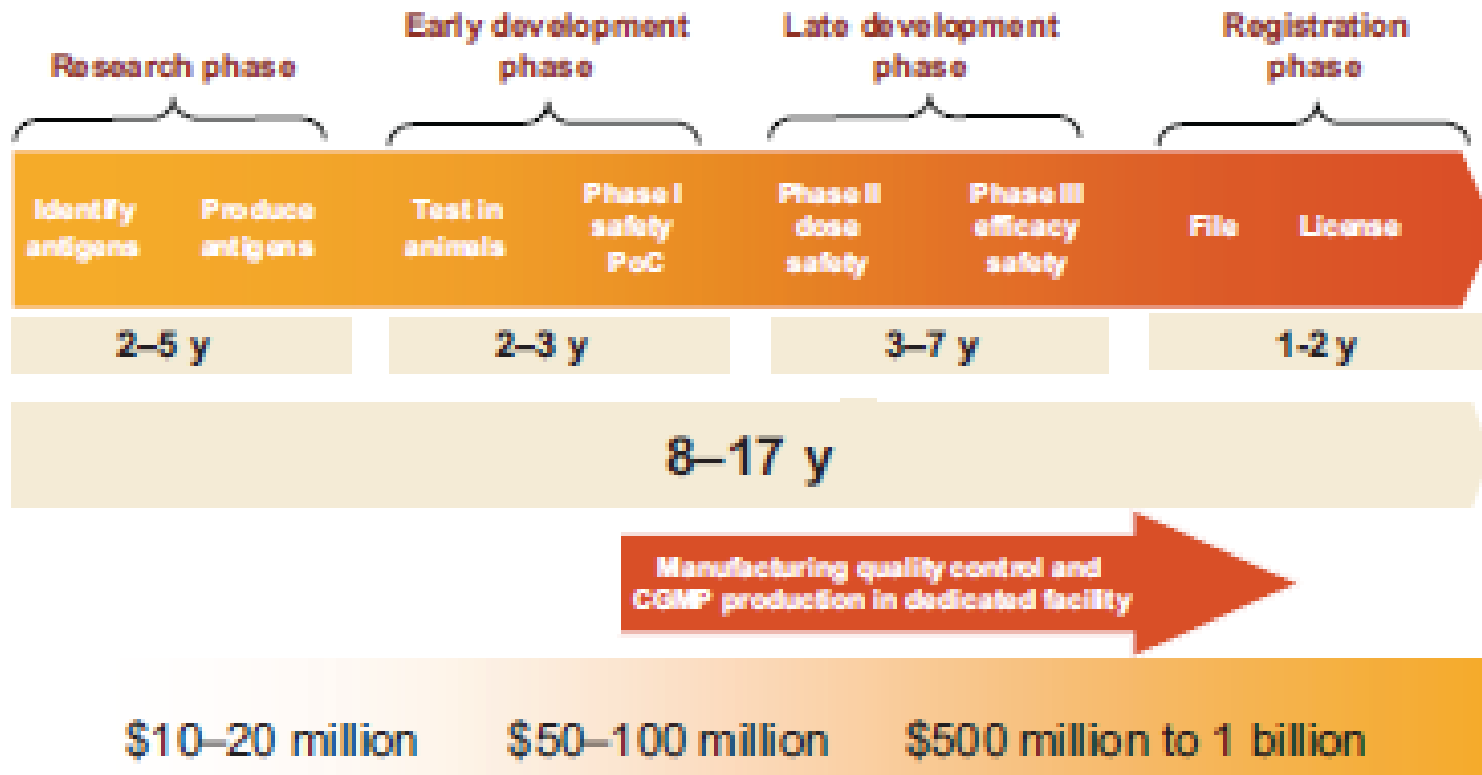
Koruyucu maddeler/a.b.

Stabilizatör

Adjuvant

Kalıntılar

Aşı araştırma-geliştirme



Kullanım sonu değerlendirme



GÜNÜMÜZDE AŞI ÜRETİMİNDE

- ❄ Kalite Güvencesi
- ❄ İyi Üretim Pratiđi

ZORUNLUDUR

- ❄ **Proçes analitik teknoloji (PAT)**
Üretimin (tasarım, analiz, kontrol) her aşamasında zamansal kalite, performans kontrolü, böylece son ürün kalitesi



Aşı Tipleri

- ❄ **Tüm hücre aşıları**
 - Attenué canlı aşılar
 - Ölü- inaktive aşılar
 - Subunit aşılar
- ❄ **Saflaştırılmış makromoleküller**
 - Toksoid aşılar
 - Kapsüler polisakkarit
 - Konjuge aşılar
- ❄ **Rekombinat gen teknoloji aşıları**

Canlı Aşılar: Üretim

❄ Patojen (klinik izolat)



Attenuasyon



Canlı, attenue



Kültür



AŞI

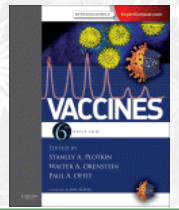
Pasajlama



Bölgeye yönelik mutagenез

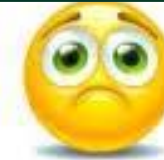
MMR, OPV, Sarı humma
Suçiçeği, rotavirus, BCG
kolera

Canlı Aşılar



| | Preklinik evre | Klinik evre | Lisans | Aşı |
|---------------------------------|----------------|-------------|--------|---|
| Klasik virüs | | | | |
| Hücre kültüründe attenuasyon | | | X | Kızamık, kabakulak, polio, suçiçeği, sarı humma |
| Reassorted genom | | | X | Rotavirus, influenza |
| Diğer türlerden varyant | | | X | Çiçek |
| Isıyla seçilmiş mutantlar | | | X | Kızamıkçık, influenza |
| Isıyla seçilmiş mutantlar | | X | | RSV |
| Rekombinant virüs | | X | | HSV |
| Rekombinant viral vektör | | X | | HIV, Ebola, CMV |
| Klasik bakteri | | | X | BCG, S. Typhi |
| Rekombinant bakteri | | X | | Kolera, Şigella |
| Rekombinant bakteriyel vektör | | X | | <i>S. typhi</i> , <i>V. cholerae</i> <i>S. flexneri</i> , BCG <i>Strep. gordonii</i> <i>L. monocytogenes</i> |

Canlı Aşıların Özellikleri

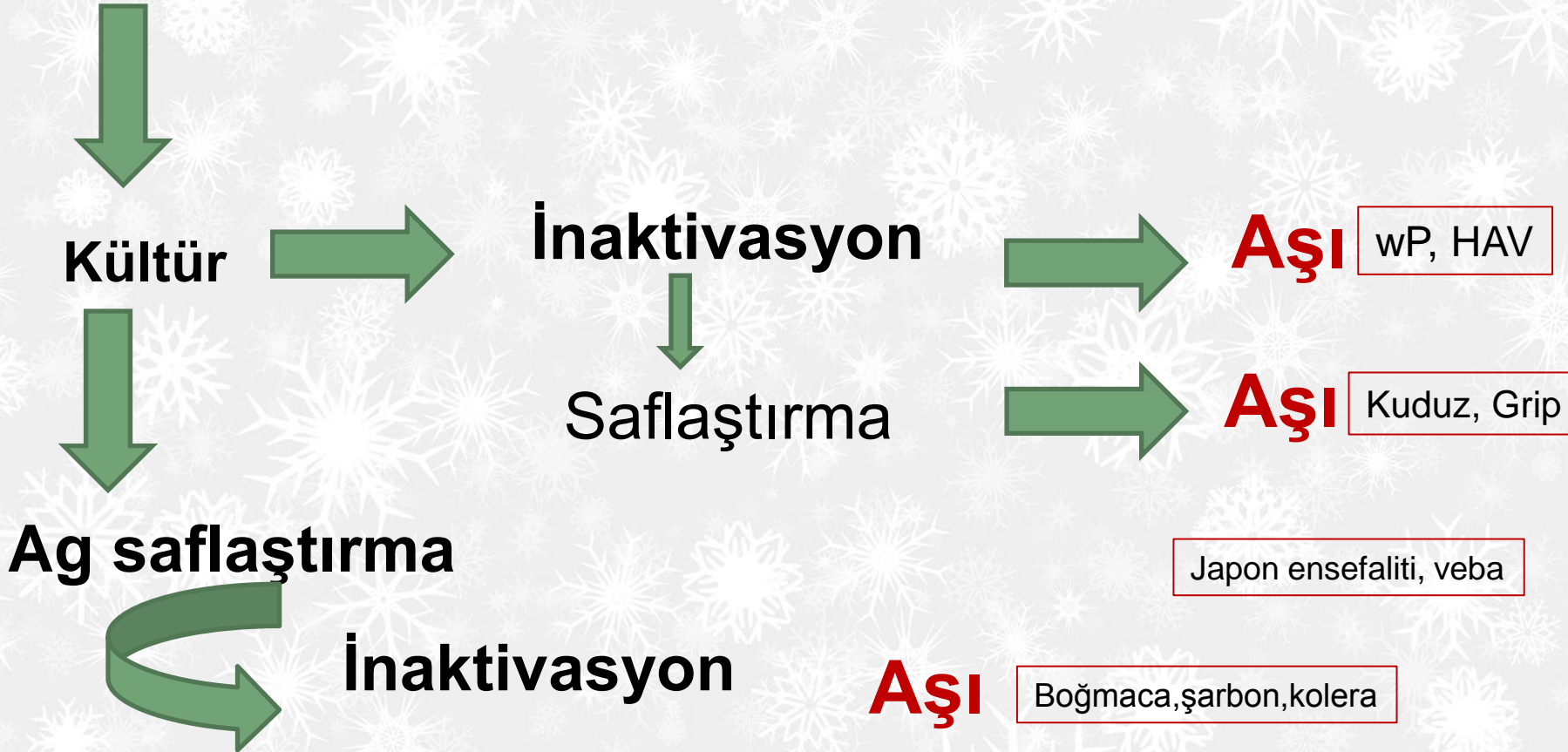


- ❄️ Virülansı azaltılmış patojenler
- ❄️ Bazı virüsler için üretimi kolay
- ❄️ Hafif enfeksiyona neden olabilir
- ❄️ Güçlü immün yanıt oluşturur
 - Hücresel, humoral
- ❄️ Temas immünitesi oluşturabilir

- ❄️ Bakterilerde zor
- ❄️ Hastalığa neden olabilecek virülansta modifiye mikroorganizm olabilir !!
- ❄️ Bağışık sistemi bozulmuş kişilerde sorun
- ❄️ Soğuk zincir önemli

İnaktive Aşılar Üretim

❄ Patojen (klinik izolat)





İnaktive Aşılar

| | Preklinik evre | Klinik evre | Lisans | Aşı |
|-------------------------------|----------------|-------------|---------------------------------|--|
| Tüm patojen | | X | X X X X X X X | Boğmaca Kolera Enterotoxigenic <i>E. coli</i> Poliovirus Influenza virus Rabies virus Japanese encephalitis virus Hepatitis A virus |
| İnsan hücresi | | X | X | Melanoma, Multipl myeloma |
| Protein bazlı Doğal | | X | X X | Pertussis HBV Kanser |
| Kimyasal inaktive | | | X | DBT |
| Genetik inaktive | | | X | Boğmaca |

İnaktive Aşıların Özellikleri



- * Tüm hücre aşıları
- * Etken fiziksel ve kimyasal olarak inaktive
- * Bakterilere daha uygun
- * Daha stabil
- * Daha güvenli
- * Transportu daha kolay



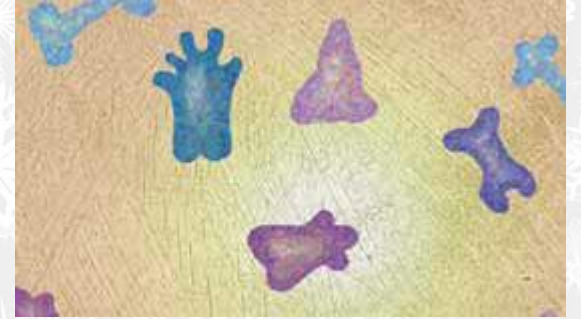
- * Yeterli immün yanıt oluşturacak antijen olmayabilir ya da antijenite değişebilir
- * Tekrarlayan dozlar gerekir
- * Çoğunlukla adjuvan içerir
- * İnflamatuar yanıtı neden olabilir

Subunit Aşılar

| | Preklinik evre | Klinik evre | Lisans | Aşı |
|--|----------------|-------------|------------------|---|
| Protein bazlı Rekombinan polipeptit | | | X X X X | HBV <i>B.burgdorferi</i> Kolera HPV HIV, HSV <i>S.pneumoniae</i> GABHS <i>N. meningitidis B</i> Allerji ,diyabet |
| Karbohidrat- polisakkarit bazlı Polisakkarit | | | X X X | Hib <i>N. meningitidis</i> Pneumococcal |
| Polisakkarit konjuge | | | X X X | Hib Pneumococcal Meningococcal Group B strep |
| Peptit Bazlı | | X | | RSV |
| B hücre epitopu | | X | | Malaria(füzyon protein,konjugat) HIV(mimetop) |
| T hücre epitopu | | X | | HIV, HBV |

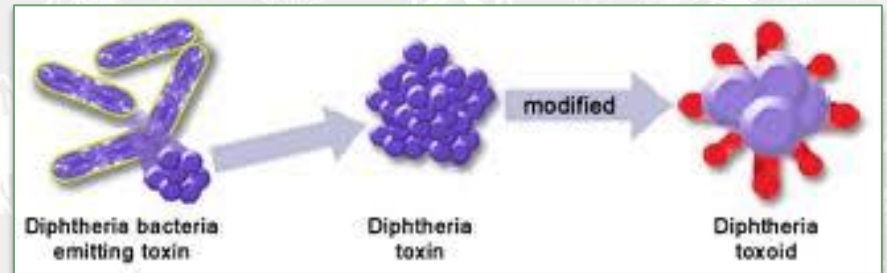
Subunit Aşıların Özellikleri

- ❄ İmmün sistemi uyaran antijenleri ya da epitoplari içerir
- ❄ Yan etki daha az
- ❄ Antijeni ayırmak zor
- ❄ Rekombinan subunit aşılar
- ❄ Adjuvan gerektirebilir



Toksoid Aşılar

- ❖ İmmüniteyi aktive etmek için kimyasal (formalin) ya da termal modifiye edilmiş toksinler kullanılır
- ❖ Bazı bakteriyel hastalıklarda
 - (difteri, tetanoz)
- ❖ Antikor aracılı immüniteyi stimüle eder
- ❖ Az sayıda antijenik determinant içerdiği için çoklu doz uygulamalarına gerek vardır.



Toksinin toksoide modifikasyonu



Kombine Aşılar

İki ya da daha fazla immunojenin fiziksel olarak tek bir preparatta olması

- ❄ Doktora geliş sayısı ↓
- ❄ Enjeksiyon sayısı ↓
- ❄ Maliyet ↓



Kombine Aşılar

- * D(d)T
- * DTB (Difteri, Tetanoz ve Boğmaca)
- * Trivalan polio aşısı
- * KKK , (Kızamık, Kızamıkçık),
- * Trivalan influenza aşısı
- * Difteri, Tetanoz, Boğmaca, Hepatit B ve Çocuk Felci
- * Difteri, Tetanoz, Boğmaca ve Hib (*Haemophilus influenzae B tipi*)
- * Hepatit A ve Hepatit B
- * Hib ve Hepatit B
- * DT/IPV
- * Td/IPV
- * Tdap/IPV
- * DTaP/IPV,
- * DTaP/Hib
- * DTwP/Hib
- * DTaP/IPV/Hib
- * DTaP/HepB/IPV
- * DTaP/IPV/HepB/Hib
- * HepA/typhoid
- * HepB/HepA
- * MnC/Hib, MnCY/Hib
- * HepB/Hib
- * MMVR

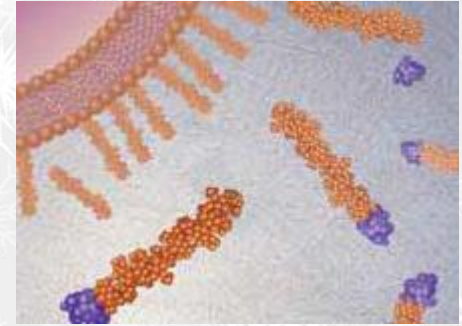


Konjuge Aşılar

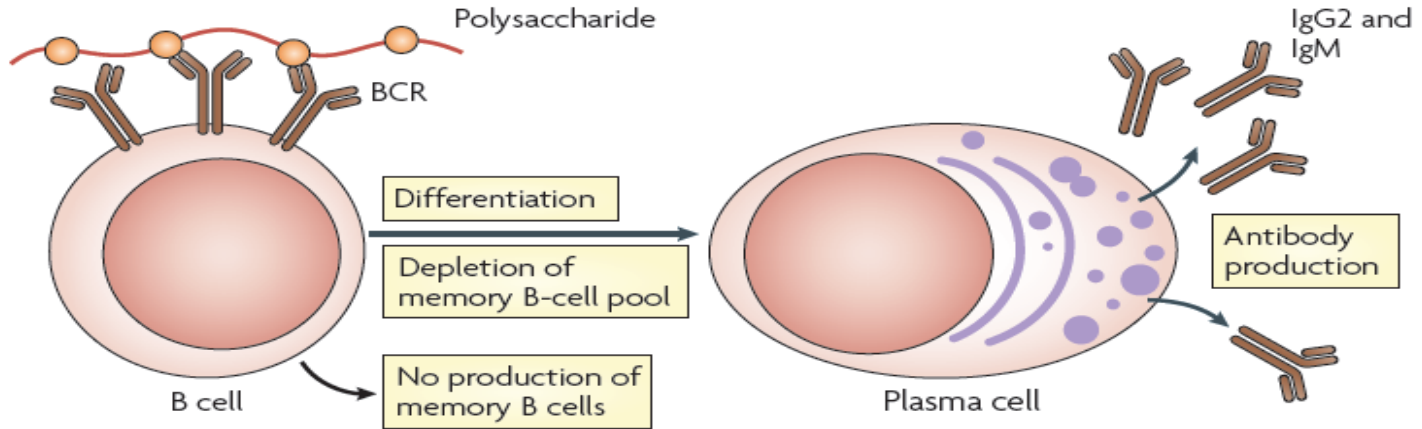
- ❖ Bakterinin polisakkaritle kaplanması, bakterinin antijenlerini örter, immün sistem tanımaz ya da yanıt vermez.
- ❖ Antijen veya toksoid şeker ya da polisakkarit yapıya bağlanır
- ❖ Konjuge edilerek immün sistemin tanınması sağlanır
 - T hücre aracılı B hücre yanıtı

Konjuge aşılar bir çeşit subunit aşı

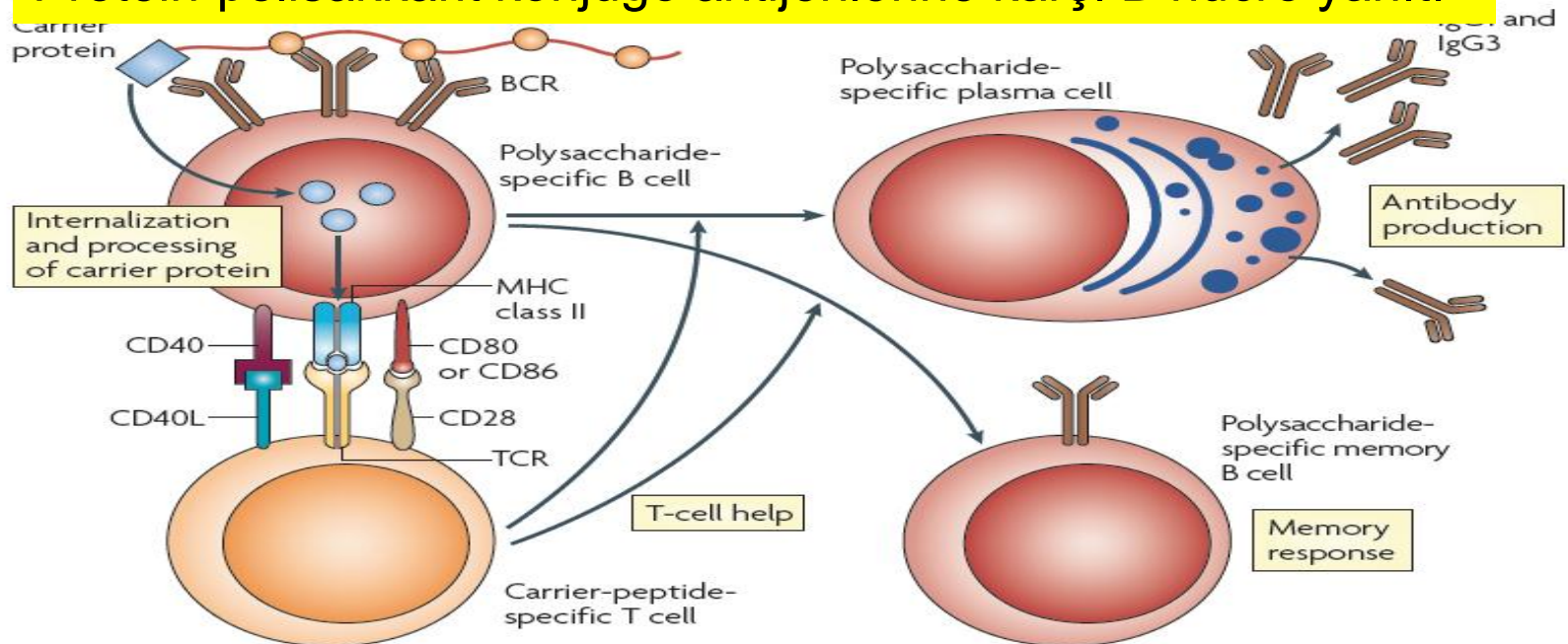
- ❖ Hib aşısı
- ❖ Pnömonokok aşısı
- ❖ Meningokok
- ❖ Herd immüniteye de katkıları var



Polisakkarit antijenlere karşı B hücre yanıtı



Protein-polisakkarit konjüge antijenlerine karşı B hücre yanıtı



Rekombinant Aşılar

Farklı üretim teknikleri var
Etkin, güvenilir,
hızlı , ucuz, aşı üretimi

İmmunojenik proteini kodlayan gen bakteri, maya veya memeli hücrelerinde klonlanabilir

□HBV

□HPV

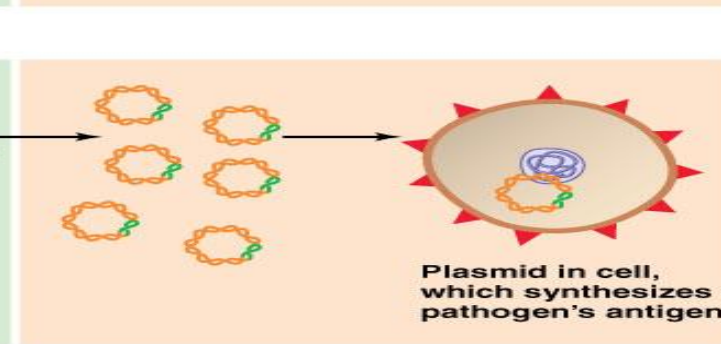
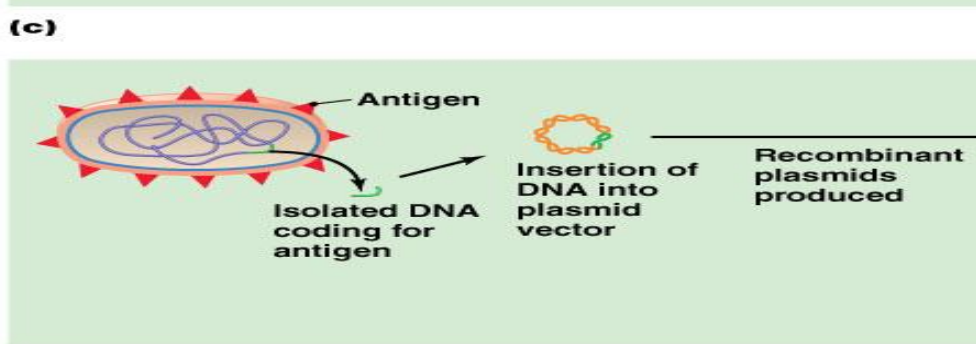
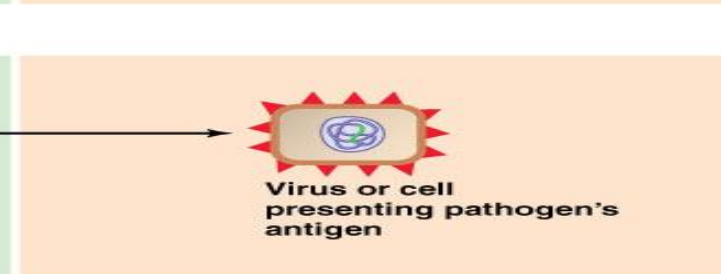
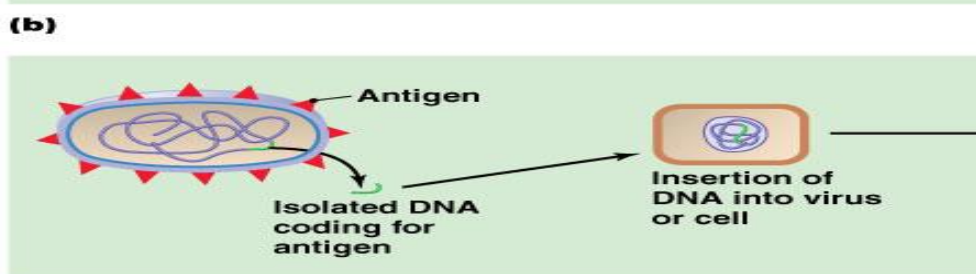
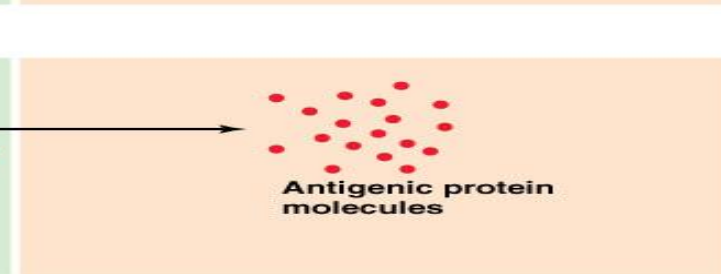
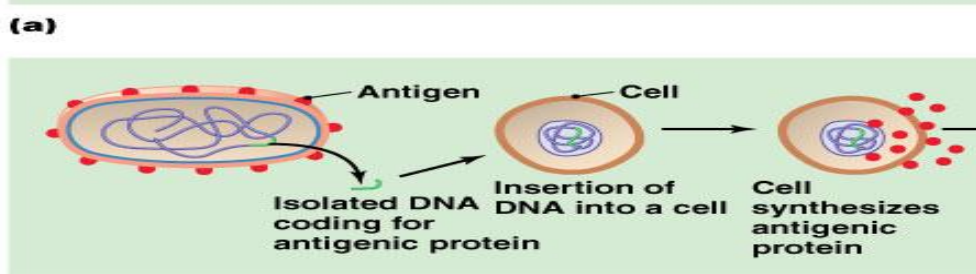
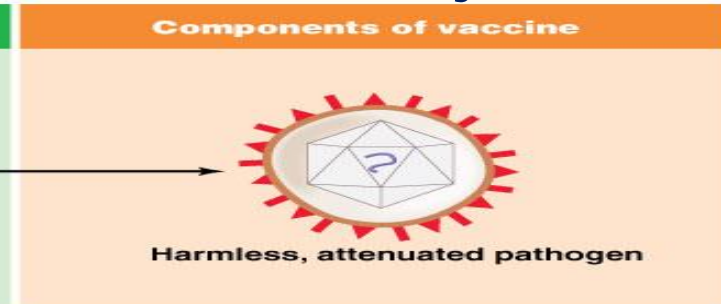
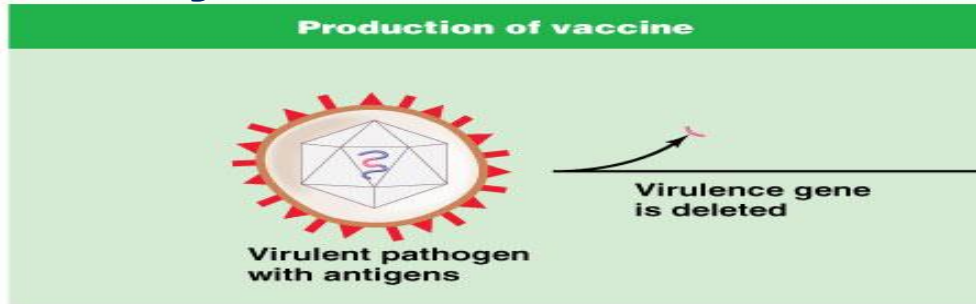
- ❁ HBsAg geninin klonlanması
- ↓
- ❁ Maya hücrelerinde ekspresyonu
- ↓
- ❁ Rekombinant maya hücreleri üretimi
- ↓
- ❁ Maya hücreleri hasatı, yüksek basınçta tahrip
- ↓
- ❁ Rekombinat HBsAg salınımı ve saflaştırılması
- ↓
- ❁ Antikor üretimi

Geleceğin Aşıları

- ❖ **DNA aşıları (herpes, HIV)**
 - Antiidiyotip DNA aşıları
- ❖ **RNA aşıları: risk daha az**
- ❖ **Rekombinant vektör aşıları (HIV, kuduz, kızamık)**
- ❖ **Multivalan subunit aşılar. Tbc,**
- ❖ **Sentetik immunodominant peptit aşıları(-MHC))**
- ❖ **Şimerik aşılar: İki infekte viral genom(Flavivirus-WNV)**
- ❖ **Tedavi edici aşılar**
 - HIV
 - Kanser
 - MS
 - Allerji
 - Alzheimer...



Aşı Üretiminde Rekombinant DNA Teknolojileri



Rekombinant vektör aşıları

▪Virülan patojenin (kanser hücresi de olabilir)majör antijenini kodlayan genler attenuue virüs ya da bakteriye verilir

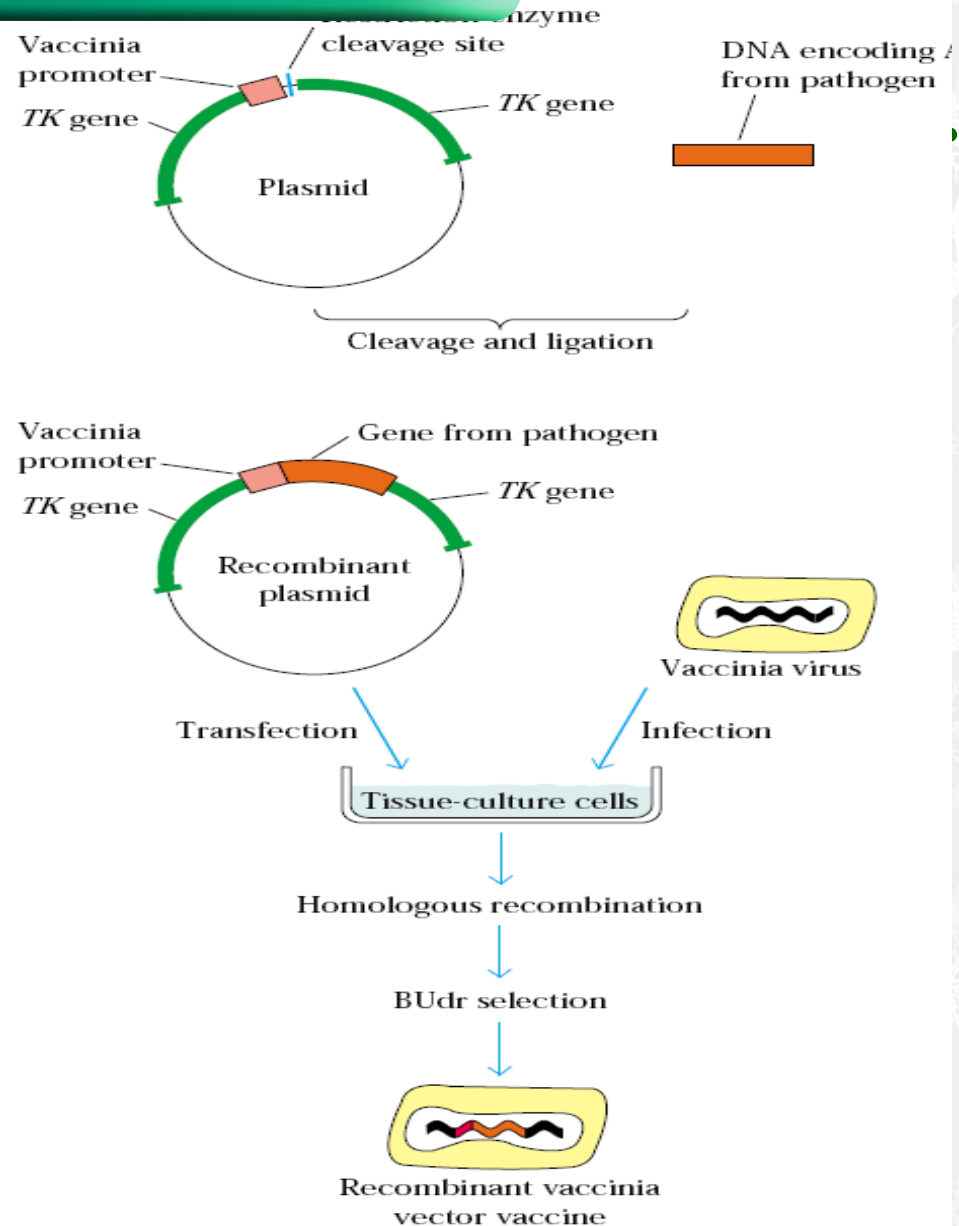
(influenza HA,NP, rabies virus G protein,HBsAg gibi)

- Vaccinia virus
- Adenovirus

▪Attenuue m.o. konakta çoğalır ve patojenin gen ürününü eksprese eder

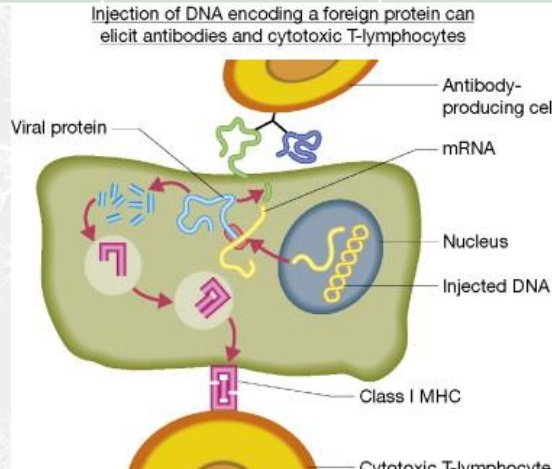
▪Güvenli.

▪Genelde antikor yanıtı daha iyi



Nükleik Bazlı Aşılar

| | Preklinik | Klinik | Lisans | Aşı |
|----------------------|-----------|-------------|--------|---|
| Çıplak DNA | | X | | İnfluenza |
| Kolaylaştırılmış DNA | | X X X | | HBV HIV Metastatik renal Ca. Influenza |
| | X | | | |
| Viral vektör | X | | | Flavivirus |
| Viral delivery | | X | | HIV, Malaria |
| Bakteriyel delivery | X | | | <i>S. flexneri</i> |



Geleceğin Aşı Uygulamaları

❄ Mukozal aşılar

- (gripte intranazal)
- Solunum yolu
- CYBH
- Gastrointestinal patojenler



❄ Oral-Yenilebilir aşılar



❄ İnjektionsuz deri "patch" aşılar





Mukoza Aşılar

- * Birçok infeksiyon mukozal yolla girer.
- * Amaç giriş yerinde etkeni durdurabilmek
- * Bazı parenteral aşılar mukozal korunma sağlanabiliyor
 - Polio, tifo, influenza
- * Çok az protein ulaştığı yerde güçlü yanıt oluşturabiliyor.
- * Bakteriyel komponentler ve bakteriyel toksinlerle daha iyi yanıt
 - Kolera toksini (CT), ısıya labil enterojenik *E. coli* (LT)
- * Antijen-adjüvan kullanımı ve aşı iletim sistemi gerekli
 - ISCOM-Immünstimulan kompleksler (ISCOM); lipit taşıyıcı.
 - Lipozom-Lipozom içeren protein antijenler
 - Nanopartiküller

Mukoza Aşılar

| Kolera | Oral | İnaktive <i>V. cholerae</i> , CLB | |
|-----------|------------|---|--|
| | Oral | Canlı attenue <i>V. cholerae</i> O1 | |
| Tifo | Oral | Canlı attenue <i>S. typhi</i> | |
| | Parenteral | Purifiye Vi polisakkarit | |
| Rotavirus | Oral | Canlı, attenue, mono-valan rotavirus | |
| | Oral | Canlı attenue pentavalan | |
| İnfluenza | İntranazal | Canlı attenue, trivalan | |
| Polio | Oral | Canlı attenue monovalan, bivalan, trivalan (Sabin) suşlar | |
| | Parenteral | İnaktive trivalan | |

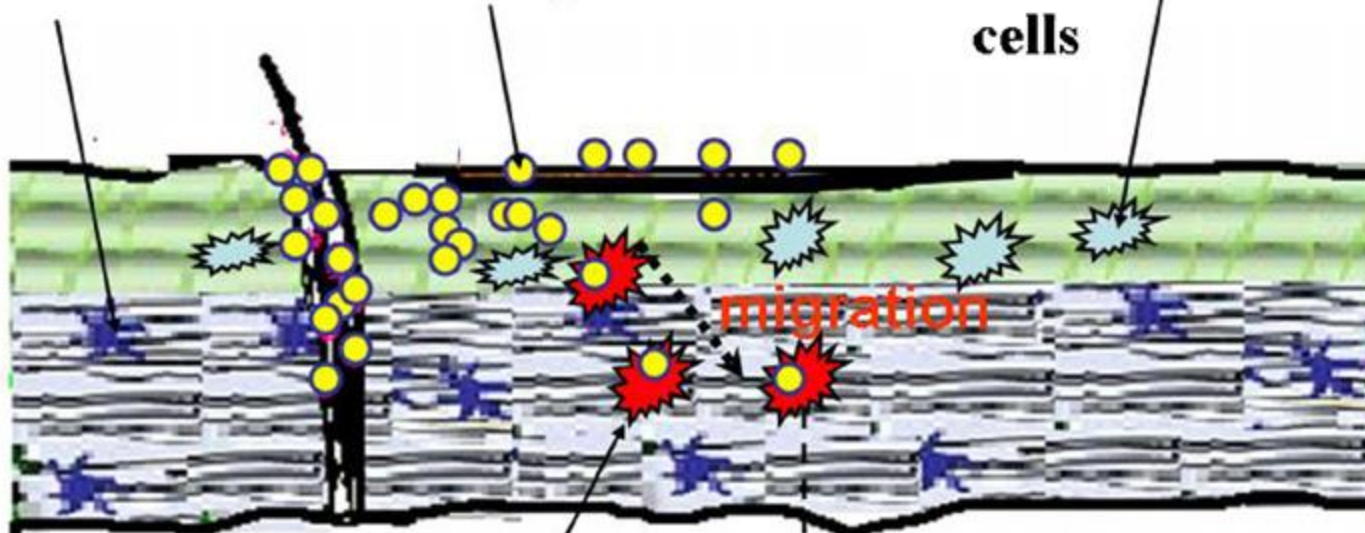
Etkin antijen taşıma sistemi ve adjuvanlara ihtiyaç var

Transkutanöz Aşılar

dendritic cells

antigen

Langerhans cells

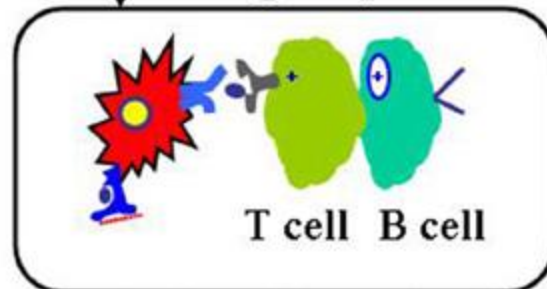


epidermis

dermis

Activated Langerhans cell with antigen

Antigen presentation



Adaptive immunity

Draining Lymph Node

Transkutanöz Aşı Çalışmaları

| Formülasyon | Antijen | Hastalık |
|--|--|------------------|
| Suspansiyon | Tetanoz anatoksin ve inaktive influenza A ve B Ag fragmanları | Influenza |
| Solüsyon | Hemagglutinin ve nörominidaz yüzey antijenleri | Influenza |
| Solüsyon | Protektif antijen | Şarbon |
| Mikro iğne | İnaktive A/Aichi/2/68 (H3N2) influenza virus, Formalin-inaktive influenza H1N1 A/PR/8/34 virus | İnfluenza |
| Hidrojel patch | Tetanoz ve difteri toksoidi | Tetanoz-difteri |
| Vezikül formasyonu, mikro iğne dizisi | Difteri toksoidi | Difteri |
| Patch | Enterotoksijenik E. coli toksini | Turist diyaresi |
| Patch | Canlı attenuue kızamık virüsü | Kızamık |
| DNA-chitosan kompleksi-düşük basınçlı gen silahı | Japon ensefaliti virüsü | Japon ensefaliti |
| Nanopartiküller-lipozom | | |





TEŐEKKÜRLER...