



ANKARA ÜNİVERSİTESİ
BİYOTEKNOLOJİ
ENSTİTÜSÜ

4. ULUSLARARASI AŞI BİLİMİ KONGRESİ

Tema:

COVID-19 Aşı Teknolojileri

BİLDİRİ KİTABI ABSTRACT BOOK

4th INTERNATIONAL VACCINOLOGY CONGRESS

Theme:

COVID-19 Vaccine Technologies

Ankara Üniversitesi
Biyoteknoloji Enstitüsü
Desteği ile...

with support of
Ankara University
Biotechnology Institute...

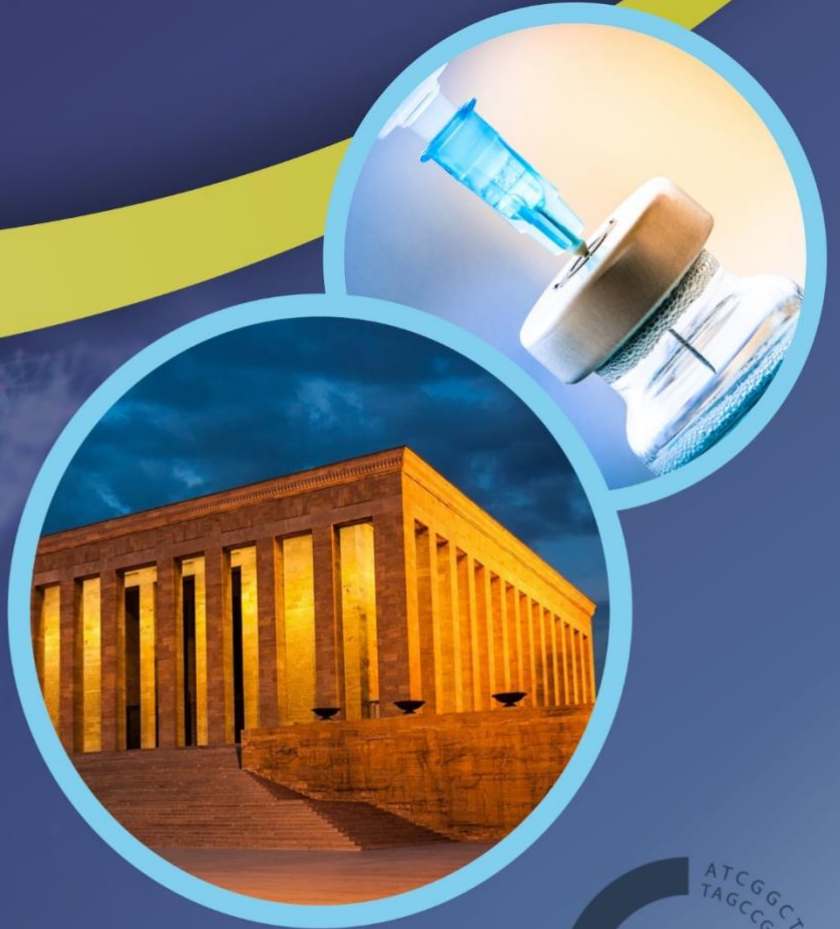
03-05 Kasım 2022
November 03-05, 2022

Ankara Üniversitesi Rektörlüğü
100. Yıl Toplantı Salonu

Ankara University Rectorate
100th Anniversary Conference Hall



www.abk2022.com



İçindekiler

DAVET YAZISI	5
KURULLAR	6
BİLİMSEL PROGRAM	7
DAVETLİ KONUŞMA ÖZETLERİ	11
DK1: COVID-19 TÜRKİYE PLATFORMU İLAÇ VE AŞI PROJELERİ	12
DK2: COVID-19'A KARŞI VLP TEKNOLOJİSİ	13
DK3: LABORATUVARDAN ÜRÜNE TURKOVAC AŞI GELİŞTİRME ÇALIŞMALARI	14
DK4: ALUM+CPC ADJUVANTLI İNAKTİF SARS-CoV-2 AŞISI	15
DK5: İNAKTİF AŞI ÜRETİMİNDE GAMA İRRADYASYON DAHA İYİ BİR SEÇENEK OLABİLİR Mİ?	17
DK6: ADENOVİRAL VECTORS FROM COVID-19 TO CANCER.....	18
DK7: COVID-19'A KARŞI REKOMBİNANT RBD BAZLI AŞI GELİŞTİRİLMESİ	19
DK8: ASC TEKNOLOJİSİ İLE YENİ NESİL AŞILAR	20
DK9: COVID-19 DNA AŞI PLATFORMU.....	21
DK10: mRNA AŞILARININ DÜNÜ, BUGÜGÜNÜ VE GELECEĞİ.....	22
DK11: PEPTİD VE PROTEİN TEMELLİ COVID-19 AŞI YAKLAŞIMI	24
DK12: AŞI ÜRETİM SÜREÇLERİNDE KALİTE DENETİMİ.....	25
DK13: COVID-19'A KARŞI EKSPRESYON SİSTEMLERİ KULLANILARAK AŞI GELİŞTİRİLME AŞAMALARI	26
DK14: IMMUNOGENICITY OF THE POLYVALENT DNA PRIME-PROTEIN BOOST HIV VACCINE (PDPHV)	27
DK15: ADVANCES IN THE DEVELOPMENT OF PARASITE VACCINES, HOW THE COVID-19 EXPERIENCE WILL ACCELERATE THEIR DEVELOPMENT	28
DK16: SENTETİK PEPTİD TEMELLİ AŞI ÜRETİMİ	29
DK17: SARS-COV-2 VİRÜSÜNE KARŞI CHALLENGE HAYVAN MODELLERİ	30
DK18: ÜLKEMİZDE KULLANILAN SARS COV-2 AŞILARI VE ANALİZ SÜREÇLERİ	31
DK19: AŞILARIN TARİHÇESİ.....	32
DK20: AŞI GELİŞTİRME VE ÜRETİM SÜRECİ: OLANAKLAR VE KISITLAMALAR	33
DK21: MAYMUNÇİÇEĞİ AŞILARI: GÜNCEL DURUM	34
DK22: İMMÜN SİSTEMİN STOKASTİK DİNAMİĞİ	35
DK23: SARS COV-2 ZARF PROTEİNİNİN (E) BACULOVİRUS EKSPRESYON SİSTEMİNDE İFADESİ VE İMMUNOJENİTESİ.....	36
DK24: DEVELOPMENT OF PLANT-BASED VACCINES AND THERAPEUTICS AGAINST COVID-19.....	37
DK25: AŞI KLİNİK ÇALIŞMALARI	38
DK26: AR-GE VE KLİNİK ARAŞTIRMALARIN ÜLKE İÇİN ÖNEMİ	39
DK27: ÜLKEMİZDE BEŞERİ AŞI ÜRETİM ÇALIŞMALARI	40
DK28: MAYA VE BAKTERİYEL EKSPRESYON SİSTEMLERİNDE ÜRÜN GELİŞTİRME: AŞI PERSPEKTİFİ ..	41

DK29: DÜNYANIN ! AŞISINI KİM ÜRETTİ?	42
DK30: AŞI ÜRETİMİ İÇİN DOĞRU HÜCRE- DOĞRU HÜCRE İÇİN DOĞRU BESİYERİ	43
DK31: VETERİNER AŞI GELİŞTİRMEDE ATA FEN DENEYİMİ	44
DK32: AŞI GELİŞTİRME ÇALIŞMALARINDA GLP KAPSAMINDA GERÇEKLEŞTİRİLEN PREKLİNİK TESTLER	45
DK33: BİYOTEKNOLOJİK ÜRÜN ÜRETİMİNDEKİ BİLEŞENLERİN FİNAL ÜRÜN KALİTESİNE ETKİSİ - EXTRACTABLE & LEACHABLES TEST	46
DK34: KUDUZ HASTALIĞINA KARŞI HÜCRE KÜLTÜRÜ TEMELLİ YERLİ AŞI GELİŞTİRİLMESİ: GÜVENLİK TESTLERİ VE İMMUNOJENİTE SONUÇLARI	47
DK35: mRNA AŞILARININ ETKİNLİĞİNİN ARTTIRILMASI: SENTETİK MRNA TASARIMI	48
DK36: RATIONAL DESIGN OF DNA ORIGAMI NANOPARTICLE-BASED ANTIGEN PRESENTATION PLATFORM AGAINST EMERGING INFECTIOUS DISEASES	49
DK37: ERIŞKİN BAĞIŞIKLAMA POLİKLİNİKLERİ GEREKLİ Mİ?	50
DK38: AŞI ARAŞTIRMA VE GELİŞTİRME'DE İMMUNOJENİSİTE VE ANALİZ	51
SÖZLÜ BİLDİRİLER	52
SB1: mRNA AŞILARINDA KONTROLLÜ ANTİJEN ÜRETİMİ İÇİN SENTETİK 5' UTR TASARIMLARI	53
SB2: ENGINEERED NANOPARTICLES IN VACCINE DEVELOPMENT	54
SB3: <i>T. GONDII</i> GRA8 DNA VACCINES	55
SB4: <i>IN SILICO</i> VACCINE DESIGN AGAINST	56
INFLUENZA A AND B VIRUSES	56
SB5: PATHOGEN SECRETORY AND SURFACE ANTIGENS IN VACCINOLOGY	57
SB6: DETERMINATION OF NON-STRUCTURAL PROTEIN LEVEL FOR TÜRKİYE FOOT-AND-MOUTH DISEASE VACCINE ANTIGENS DURING IN-PROCESS	58
SB7: NEXT GENERATION VACCINE PARADIGM: EXOSOME-VACCINE TECHNOLOGIES	59
SB8: DOWNSTREAM PROSES SÜRECİNDE İNKÜBASYON SICAKLIĞI VE MİKROFİLTASYON MEMBRANI SEÇİMİNİN REKOMBİNANT SARS-COV-2 ADENOVİRAL VEKTÖR VERİMİNE ETKİSİ	60
SB9: LARGE-SCALE PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF THE EXOSOME TRANSPORTER SYSTEM FROM THP-1 CELLS AS A NEW APPROACH TO IMMUNIZATION	61
SB10: A NOVEL STABLE TRIMERIC VACCINE ANTIGEN AGAINST THE WILD TYPE SARS-COV-2 AND DELTA VARIANT	62
SB11: EVALUATION OF IMMUNE RESPONSES AND PROTECTIVITY OF MULTIVALENT RECOMBINANT PROTEINS WITH A NEWLY DEVELOPED NANOPARTICULATE ADJUVANT SYSTEM AGAINST TOXOPLASMOSIS	63
SB12: A NOVEL APPROACH FOR <i>IN SILICO</i> DESIGN OF DNA VACCINE CANDIDATE AGAINST LATENT TOXOPLASMOSIS	64
SB13: BIOINFORMATICS ANALYSIS AND PROTEIN PRODUCTION OF RECOMBINANT PROTEIN VACCINE AGAINST TOXOPLASMA GONDII	65
SB14: DEVELOPMENT AND EVALUATION OF NANOPARTICULAR PROTOTYPE VACCINE FORMULATIONS AGAINST COVID-19	66

<i>SB15</i> : PPR (KOYUN KEÇİ VEBASI) AŞISI VE MAVİDİL AŞISININ MERİNOS IRKI KOYUNLARDA EŞ ZAMANLI UYGULANABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI	67
<i>SB16</i> : BOVİNE ROTAVİRUS VE BOVİNE CORONAVİRUS AŞI SUŞLARININ REPLİKASYON VE İNAKTİVASYON KİNETİKLERİNİN BELİRLENMESİ	68
POSTER BİLDİRİLER	69
<i>P1</i> : BOVİNE VİRAL DİYARE VİRUS YEREL AŞI SUŞLARININ (BVDV TR-21, TR-15 VE TR-26) REPLİKASYON VE İNAKTİVASYON KİNETİĞİNİN BELİRLENMESİ	70
<i>P2</i> : A DUAL FORMULATION OF SHEEPOX AND PPR VACCINES (P2VAC) PROVIDES PROTECTIVE IMMUNITY	71
<i>P3</i> : KOYUN KEÇİ ÇİÇEK AŞISI İLE AŞILANMIŞ SIĞIRLARDA LSD HASTALIĞINA KARŞI OLUŞAN İMMUN YANITIN FLOW CYTOMETRY İLE ARAŞTIRILMASI	72
<i>P4</i> : BELİRSİZ TEHLİKE: LYME	73
<i>P5</i> : İNAKTİF ŞAP AŞISI İLE ATTENÜE MAVİDİL AŞISININ KOYUNLARDA BİRLİKTE KULLANILMASI	74
<i>P6</i>: NEW GENERATION ADJUVANT NOMİNEE İN VACCİNE DEVELOPMENTS: MESOPOROUS SİLİCA NANOPARTİCLES AND PHYSİCOCHEMİCAL CHARACTERİSTİCS	75
<i>P7</i> : BOVİNE VİRAL DİYARE VİRUS YEREL AŞI SUŞLARININ (BVDV TR-21, TR-15 VE TR-26) REPLİKASYON VE İNAKTİVASYON KİNETİĞİNİN BELİRLENMESİ	76
<i>P8</i> : BIOGENIC GOLD NANOPARTICLES FROM STREPTOMYCES SP. M137-2 AS VACCINE ADJUVANTS	77
<i>P9</i> : VACCINE AS A REMEDY FOR ANTIBIOTIC RESISTANCE	78
<i>P10</i> : TOXOPLASMA GONDII VACCINE STUDIES AND INSECT CELL CULTURE	79

DAVET YAZISI

Değerli Meslektaşlarım,

Aşı Bilimi Derneği Yönetim Kurulu'nun 02.06.2022 tarihli toplantısında, 4. Uluslararası Aşı Bilimi Kongresi'ni 3-5 Kasım 2022 tarihleri arasında, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü ev sahipliğinde Başkentimizde yapılmasına karar verilmiştir. Kongremizde tamamızın "COVID-19 Aşı Teknolojileri olması" kararlaştırılmıştır. Bu kapsamda gerek ülkemizde gerekse yurtdışında bu konu üzerinde çalışan önemli bilim insanlarının kongremize davet edilmesi ile son gelişmelerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bunun yanında, genç bilim insanları için işbirliği olanakları ve yeni projelerin görüşülebileceği bir ortam oluşturulması amaçlanmaktadır. Ayrıca, genç bilim insanlarına yaptıkları bilimsel sunumlar için ödül verilmesi planlanmıştır. Kongremize bütün üyelerimizin yanı sıra yurtiçinde aşı bilimi ile ilgilenen tüm bilim insanlarının katılımının yurtiçinde aşı biliminin değerini arttıracığına inanıyoruz.

Değerli katılımınızla 4. Uluslararası Aşı Bilimi Kongresi'nin ülkemiz ve dünyada aşı bilimi alanında yaşanan büyük gelişmelere ve yeniliklere katkı sağlayacağına yürekten inanmaktayız. Kongremizde sizlerle bir arada olmaktan büyük mutluluk duyacağız.

Saygılarımızla,

YEREL KONGRE BAŞKANI

Aykut ÖZKUL

KONGRE BAŞKANI

Adnan Yüksel GÜRÜZ

KURULLAR

KONGRE DÜZENLEME KURULU BAŞKANLARI		
Adnan Yüksel GÜRÜZ		
Aykut ÖZKUL		
KONGRE DÜZENLEME KURULU		
Ahmet Efe KÖSEOĞLU	Hüsnü PULLUKÇU	
Ahmet GEDİK	Meltem TAŞBAKAN	
Aysu DEĞİRMECİ DÖŞKAYA	Mert DÖŞKAYA	
Ayşe Gülten KANTARCI	Mervenur GÜVENDİ	
Aytül GÜL	Muhammet KARAKAVUK	
Ceren GÜL	Sedef ERKUNT ALAK	
Hasan AKBABA	Seren KAPLAN	
Hüseyin CAN	Tuğba KARAKAVUK	
KONGRE BİLİMSEL SEKRETERLİĞİ		
Mert DÖŞKAYA		
KONGRE BİLİM KURULU		
Adnan Yüksel GÜRÜZ	Feyza UMay KOÇ	Mestan ÖZYER
Ahmed M. SALMAN	Gülay KORUKLUOĞLU	Muhammet KARAKAVUK
Ahmet Efe KÖSEOĞLU	Hakan AKBULUT	Mustafa KOTMAKÇI
Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU	Hakan BÜZYAKA	Mutlu TOPAL
Asuman BOZKIR	Hasan AKBABA	Nadir KOÇAK
Ateş KARA	Hasan Ersin ZEYTİN	Nesrin ÖZÖREN
Aykut ÖZDARENDELİ	Hivda POLAT	Osman ERGANİŞ
Aykut ÖZKUL	Hüseyin CAN	Saime İsmet GÜRHAN
Aysu Değirmenci DÖŞKAYA	Hüsnü PULLUKÇU	Sedef ERKUNT ALAK
Aysun DOĞAN	Işıl ERGİN	Semra AYDIN
Ayşe Gülten KANTARCI	İhsan GÜRSEL	Serap DERMAN
Aytül GÜL	İlhan BOZYİÇİT	Sevda ŞENEL
Bilge DEBELEÇ BÜTÜNER	Kadir YEŞİLBAĞ	Shan LU
Cem ERDEM	Levent YENİAY	Şaban TEKİN
Cemal ÜN	Maria Elena BOTAZZI	Şengül CAN
Doğan TAŞKENT	Mayda GÜRSEL	Tarlan MAMMEDOV
Doruk ENGİN	Mehmet İNAN	Tuba Çiğdem OĞUZOĞLU
Emel TETİK	Meltem TAŞBAKAN	Yaprak GEDİK
Elif Esin HAMEŞ	Mert DÖŞKAYA	Yücel BAŞPINAR
Ercüment OVALI		

BİLİMSEL PROGRAM

3 Kasım 2022 Perşembe

08:00 - 09:00	KAYIT	
09:00 - 09:30	Açılış Konuşmaları-Ankara Üniversitesi Rektörü	<i>Prof. Dr. Necdet ÜNÜVAR</i>
	Açılış Konuşmaları-TÜBİTAK Başkanı	<i>Prof. Dr. Hasan MANDAL</i>
	Açılış Konuşmaları-TÜSEB Başkanı	<i>Prof. Dr. Erhan AKDOĞAN</i>
09:30 - 10:50	1. OTURUM Başkanlar: Prof. Dr. Aykut ÖZKUL, Prof. Dr. Adnan Yüksel GÜRÜZ	
09:30 - 09:50	COVID-19 Türkiye Platformu Aşı ve İlaç Projeleri	<i>Prof. Dr. Şaban TEKİN</i>
09:50 - 10:10	COVID-19'a Karşı VLP Teknolojisi	<i>Prof. Dr. İhsan GÜRSEL</i>
10:10 - 10:30	Laboratuvardan Ürüne Turkovac Aşı Geliştirme Çalışmaları	<i>Prof. Dr. Aykut ÖZDARENDELİ</i>
10:30 - 10:50	Alum+CpG adjuvantli inaktif SARS-CoV-2 Aşısı	<i>Prof. Dr. Osman ERGANİŞ</i>
10:50 - 11:10	KAHVE MOLASI	
11:10 - 13:00	2. OTURUM Başkanlar: Prof. Dr. Gülten KANTARCI, Prof. Dr. İhsan GÜRSEL	
11:10 - 12:00	İnaktif Aşı Üretiminde Gama İrradyasyon Daha İyi Bir Seçenek Olabilir Mi?	<i>Dr. Derya Dilek KANÇAĞI</i>
12:00 - 12:20	COVID-19'dan kansere adenoviral vektörler	<i>Prof. Dr. Hakan AKBULUT</i>
12:20 - 12:40	Covid-19'a karşı Rekombinant RBD-bazlı aşı geliştirilmesi	<i>Prof. Dr. Mehmet İNAN</i>
12:40 - 13:00	ASC Teknolojisi İle Yeni Nesil Aşılar	<i>Prof. Dr. Nesrin ÖZÖREN</i>
13:00 - 14:00	ÖĞLE YEMEĞİ	
14:00 - 15:40	3. OTURUM Başkanlar: Prof. Dr. Asuman BOZKIR, Prof. Dr. Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU	
14:00 - 14:20	COVID-19 DNA Aşı Platformu	<i>Doç. Dr. Mert DÖŞKAYA</i>
14:20 - 14:40	mRNA aşılarının dünü, bugünü ve geleceği	<i>Doç. Dr. Nadir KOÇAK</i>
14:40 - 15:00	Peptid ve Protein Temelli COVID-19 Aşı Yaklaşımı	<i>Doç. Dr. Serap DERMAN</i>
15:00 - 15:20	Aşı Üretim Süreçlerinde Kalite Denetimi	<i>Prof. Dr. Asuman BOZKIR</i>
15:20 - 15:40	COVID-19'a karşı ekspresyon sistemleri kullanılarak aşı geliştirilme aşamaları	<i>Prof. Dr. Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU</i>
15:40 - 16:00	KAHVE MOLASI	
16:00 - 18:00	4. OTURUM Başkanlar: Prof. Dr. Aykut ÖZDARENDELİ, Doç. Dr. Semra AYDIN	
16:00 - 16:30	HIV vaccines	<i>Prof. Shan LU</i>
16:30 - 17:00	Advances in the Development of Parasite Vaccines: How the COVID-19 experience will accelerate their development	<i>Prof. Maria Elena BOTAZZI</i>
17:00 - 17:20	Sentetik Peptid Temelli Aşı Üretimi / Synthetic Peptide Based Vaccine Production	<i>Doç. Dr. Semra AYDIN</i>
17:20 - 17:40	Ülkemizde Kullanılan SARS-CoV-2 Aşılarının Analiz Süreçleri	<i>Dr. Hakan BÜZYAKA ve Dr. İlhan BOZYİĞİT</i>
17:40 - 18:00	SARS CoV-2 virüsüne karşı challenge hayvan modelleri	<i>Dr. Hivda POLAT</i>

09:30 - 10:30	5. OTURUM Başkanlar: Prof. Dr. Gülay KORUKLUOĞLU, Prof. Dr. Sevda ŞENEL	
09:30 - 09:50	Aşıların Tarihçesi	Prof. Dr. Adnan Yüksel GÜRÜZ
09:50 - 10:10	Aşı geliştirme ve üretim süreci: olanaklar ve kısıtlamalar	Prof. Dr. Sevda ŞENEL
10:10 - 10:30	Monkeypox Aşıları; Güncel Durum	Prof. Dr. Gülay KORUKLUOĞLU
10:30 - 10:50	KAHVE MOLASI	
10:50 - 12:30	6. OTURUM Başkanlar: Doç. Dr. Mert DÖŞKAYA, Doç. Dr. Hüseyin CAN	
10:50 - 11:10	İmmün sistemin stokastik dinamiği	Prof. Dr. Doruk ENGİN
11:10 - 11:30	SARS-CoV-2 Zarf (E) Proteininin Baculovirus Sisteminde İfadesi ve İmmunojenitesi	Prof. Dr. Tuba Çiğdem OĞUZOĞLU
11:30 - 11:50	Development of plant-based vaccines and therapeutics against COVID-19	Prof. Dr. Tarlan MAMMEDOV
11:50 - 12:10	Erişkin Aşılarında Faz Çalışmaları: Klinikte Neler Yapılmalı?	Prof. Dr. Hüsnü PULLUKÇU
12:10 - 12:30	Ar-Ge ve klinik çalışmaların ülke için önemi	Dr. Emel TETİK
12:30 - 13:30	ÖĞLE YEMEĞİ	
13:30 - 15:30	7. OTURUM Başkan: Prof. Dr. Kadir YEŞİLBAĞ	
13:30 - 13:50	Ülkemizde Beşeri Aşı Üretim Çalışmaları	Dr. Mutlu TOPAL
13:50 - 14:10	Maya ve Bakteriyel Ekspresyon Sistemlerinde Ürün Geliştirme: Aşı perspektifi	Nilgün ÖZDURAL
14:10 - 14:30	Dünyanın Aşısını Kim Üretti?	Dr. Hasan Ersin ZEYTİN
14:30 - 14:50	Aşı Üretimi için Doğru Hücre, Doğru Hücre için Doğru Besiyeri	Cem ERDEM
14:50 - 15:10	Veteriner Aşı Geliştirmede Ata Fen Deneyimi	Dr. Mestan ÖZYER
15:10 - 15:30	Aşı geliştirme çalışmalarında GLP kapsamında gerçekleştirilen prelinik testler	Begüm BUĞDAYCI
15:30 - 15:50	Biyoteknolojik Ürün Üretimindeki Bileşenlerin Final Ürün Kalitesine Etkisi- Extractable & Leachable test	Dr. Ali FIRAT
15:50 - 16:10	KAHVE MOLASI	
16:10 - 17:30	8. OTURUM Başkan: Prof. Dr. Aykut ÖZKUL, Prof. Dr. Adnan Yüksel GÜRÜZ	
16:10 - 16:30	Kuduz hastalığına karşı hücre kültürü temelli yerli aşı geliştirilmesi: Güvenlik testleri ve immunojenite sonuçları	Prof. Dr. Kadir YEŞİLBAĞ
16:30 - 16:50	mRNA aşılarının etkinliğinin artırılması: sentetik mRNA tasarımı	Doç. Dr. Hüseyin CAN
16:50 - 17:10	Rational Design of DNA Origami Nanoparticle-Based Antigen Presentation Platform against Emerging Infectious Diseases	Esra OKTAY
17:10 - 17:30	Erişkin Bağışıklama Poliklinikleri Gerekli mi?	Prof. Dr. Meltem TAŞBAKAN
17:30 - 17:50	Aşı Araştırma ve Geliştirme'de Immunojenisite ve Analiz	Doç. Dr. Aysu DEĞİRMENCİ DÖŞKAYA

SÖZEL BİLDİRİ OTURUMU - 1		
09:30 - 10:20	Oturum Başkanları : Prof. Dr. Gülten KANTARCI, Doç. Dr. Aysu DEĞİRMENCİ DÖŞKAYA	
09:30 - 09:40	mRNA Aşılarında Kontrollü Antijen Üretimi İçin Sentetik 5' UTR Tasarımları	Doç. Dr. Urartu Özgür Şafak ŞEKER
09:40 - 09:50	Engineered Nanoparticles in Vaccine Development	Doç. Dr. Didem ŞEN KARAMAN
09:50 - 10:00	T. gondii GRA8 DNA Vaccines	Dr. Muhammet KARAKAVUK
10:00 - 10:10	In Silico Vaccine Design Against Influenza A and B Viruses	Dr. Sedef ERKUNT ALAK
10:10 - 10:20	Aşı Biliminde Patojen Salgı ve Yüzey Antijenleri	Dr. Ahmet Efe KÖSEOĞLU
10:20 - 10:40	KAHVE MOLASI	
SÖZEL BİLDİRİ OTURUMU - 2		
10:40 - 11:30	Oturum Başkanları : Prof. Dr. Adnan Yüksel GÜRÜZ, Doç. Dr. Mert DÖŞKAYA	
10:40 - 10:50	Determination of non-structural protein level for Türkiye foot-and-mouth disease vaccine antigens during in-process	Dr. Beyhan SAREYYÜPOĞLU
10:50 - 11:00	Next Generation Vaccine Paradigm: Exosome-Vaccine Technologies	Dr. Aslı Pınar ZORBA YILDIZ
11:00 - 11:10	Downstream proses sürecinde inkübasyon sıcaklığı ve mikrofiltrasyon membranı seçiminin rekombinant SARS-CoV-2 adenoviral vektör verimine etkisi	Dr. Fatma Gizem SONUGÜR
11:10 - 11:20	Large-scale Production and Characterization of the Exosome Transporter System from THP-1 Cells as a New Approach to Immunization	Ilgın KIMIZ-GEBOLOGLU
11:20 - 11:30	A Novel Stable Trimeric Vaccine Antigen Against the Wild Type SARS-CoV-2 and Delta Variant	Aytül GÜL
SÖZEL BİLDİRİ OTURUMU - 3		
11:30 - 12:30	Oturum Başkanı : Prof. Dr. Aykut ÖZKUL, Prof. Dr. Gülten KANTARCI	
11:30 - 11:40	Evaluation of immune responses and protectivity of multivalent recombinant proteins with a newly developed nanoparticulate adjuvant system against toxoplasmosis	Selin PARMAKSIZ
11:40 - 11:50	A Novel Approach for in silico Design of DNA Vaccine Candidate Against Latent Toxoplasmosis	Ceren GÜL
11:50 - 12:00	Bioinformatics analysis and protein production of recombinant protein vaccine against Toxoplasma gondii	Tuğba KARAKAVUK
12:00 - 12:10	Development and Evaluation of Nanoparticulate Prototype Vaccine Formulations Against COVID-19	Sena AYÇİÇEK
12:10 - 12:20	PPR (Koyun Keçi Vebası) Aşısı ve Mavidil Aşısının Merinos Irkı Koyunlarda Eş Zamanlı Uygulanabilirliğinin Araştırılması	Züleyha ERGÜN
12:20 - 12:30	Bovine Rotavirus ve Bovine Coronavirus Aşı Suşlarının Replikasyon ve İnaktivasyon Kinetiklerinin Belirlenmesi	Özer ATEŞ
12:30 - 13:30	KAPANIŞ VE TEMENNİ OTURUMU	

DAVETLİ KONUŞMA ÖZETLERİ

DK1: COVID-19 TÜRKİYE PLATFORMU İLAÇ VE AŞI PROJELERİ

Şaban TEKİN

TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi, Genetik Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

COVID 19 TÜRKİYE PLATFORMU Şubat 2022 de Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı öncülüğünde kurulmuş ve TÜBİTAK tarafından Mükemmeliyet Merkezi Destekleme Programı (1004 Programı) kapsamında "Korona Virüse Yönelik Aşı ve İlaç Geliştirilmesi" isimli stratejik hedef doğrultusunda desteklenmiştir. 'Birlikte Geliştirme ve Birlikte Başarma' sloganıyla oluşturulan COVID 19 TÜRKİYE PLATFORMU kapsamında COVID 19 tedavisine yönelik 10 ilaç ve COVID 19'a karşı korunmaya yönelik 7 aşı projesi desteklenmiştir. Koordinatörlüğünü TÜBİTAK MAM'ın yaptığı Platform kapsamında 49 farklı kurum ve kuruluştan 436 araştırmacı görev almıştır. Platform kapsamında tedaviye yönelik ilaç projeleri tamamlanmış olup, 2 ilaç moleküler simülasyon ve yeniden konumlandırma projesi (Ribavirin ve Montelukast) Faz II klinik çalışma aşamasına ulaşmıştır. Platform kapsamında SARS COV-2 virüsüne karşı korunma amacıyla İnaktif, VLP, Adenoviral vektör, Rekombinat protein, Plasmid DNA, ASC Partikül ve mRNA COVID 19 aşı projeleri desteklenmiştir. Bu aşılarından VLP bazlı COVID 19 aşısı Faz IIb klinik aşamaya geçerken, İnaktif COVID 19 aşısı ve Adenoviral Vektör bazlı COVID 19 aşısı Faz I klinik aşamaya geçmiştir. Platform kapsamındaki aşı projelerinde ulaşılan başarılı sonuçlar bir yandan ülkemizin sahip olduğu insan kaynağı, bilgi birikimi ve üretim altyapısıyla yeni aşı geliştirme potansiyelini gösterirken, diğer taraftan 'Birlikte Geliştirme ve Birlikte Başarma' stratejisinin başarısını ortaya koymuştur.

DK2: COVID-19'A KARŞI VLP TEKNOLOJİSİ

İhsan GÜRSEL

İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi, İzmir, Türkiye

Mart 2020'de ilan edilen COVID-19 salgını günümüze kadar Dünyada 620 milyona yakın kişiyi hasta ederken ve 6.5 milyondan fazla cana mal olmuştur. Ülkemizde ise 17 milyon vatandaşımız SARS-CoV-2 virüsüne yakalanarak hastalığı geçirmişken, bunlar arasından 100 binden fazla vatandaşımız hastalığa yenik düşmüştür. İnsanlarımızı pandemiden korumak amacıyla TÜBİTAK tarafından oluşturulan konsorsiyumda yer alan Virüs Benzeri Parçacık (VLP) teknolojisine dayalı COVID-19'dan korunmaya yönelik geliştirilen aşı ilk yılın sonunda prelinik aşamalarını, Nobel İlaç firmasında teknoloji transferi sürecinin ardından GMP üretimini tamamlayarak yıllar sonra Türkiye'nin ilk teknolojisi yüksek inovatif aşı adayı olarak Klinik Faz I denemelerine başlamıştır.

Virüs benzeri parçacıklar (VLP) SARS-CoV-2'nin i) Spike, ii) Zarf, iii) Membran ve iv) Nükleokapsid proteinlerinden oluşmaktadır. Otantik virüsün morfolojisini taklit eden 100-120nm boyutlarında bir nanovesikül yapısıdır. Aşı formülasyonuna iki değişik adjuvant eklenerek fare, sıçan ve gelincik çalışmalarından sonra insan faz çalışmalarında immünojenisite ve güvenlik açısından test edilmiştir. Faz I ve faz II çalışmaları tamamlanan VLP aşısı Faz III'de güvenlik ve klinik etkinlik çalışmalarına başlayacaktır.

Bu sunumda, aşının prelinik fazdaki potansi, immünojenisitesi, ve sağlıklı gönüllülerdeki etkinliğine ait veriler paylaşılacaktır.

Anahtar Kelimeler: SARS-CoV-2, Virüs benzeri parçacık, COVID-19, Aşı, İmmün yanıt, Klinik faz çalışma

DK3: LABORATUVARDAN ÜRÜNE TURKOVAC AŞI GELİŞTİRME ÇALIŞMALARI

Aykut ÖZDARANDELİ

Erciyes Üniversitesi Aşı Araştırma ve Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi (ERAGEM);
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

İnsanlığın başlangıcından bugüne önemli pandemiler görülmüştür. Pandemiler birçok faktörün bir araya gelmesiyle ortaya çıkar. Bununla birlikte pandemi kaynağı olarak ortaya çıkan patojenle ilgili iki özellik önem taşımaktadır. Bunlardan ilki pandemi kaynağı patojenin insan immün sistemi için ilk kez görülen yeni bir patojen olması gerekmektedir. Diğeri ise pandemi kaynağı patojenin insandan insana kolay ve hızlı bir şekilde bulaş sağlamasıdır. Özellikle yeni/yeniden ortaya çıkan ve zoonotik kaynaklı enfeksiyonlar son yıllarda halk sağlığını tehdit etmektedir. Veba, kolera, grip, zika ve akut respiratorik sendrom koronavirüs (SARS-CoV) gibi pandemi ve epidemiler insanlığı derinden etkilemiştir. Covid-19 dünyada insan sağlığına, toplumlara ve ekonomilere büyük zarar vermektedir. Zoonotik bir hastalık olan Covid-19 hayvanlardan insanlara geçiş yapmıştır. İnsan enfeksiyöz hastalıklarının %60'ı hayvan kökenli olup daha önce bilinmeyen ve yeni ortaya çıkan insan enfeksiyonlarının %75'i hayvanlardan insanlara geçmektedir.

DK4: ALUM+CPC ADJUVANTLI İNAKTİF SARS-CoV-2 AŞISI

Osman ERGANİŞ

Selçuk Üniversitesi Aşı Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi, Konya, Türkiye

Koronavirus salgını başlaması sonrasında TÜBİTAK COVID-19 Platformu olarak Koronavirüse Yönelik Aşı ve İlaç Geliştirilmesi ana projesi kapsamında alt projelerden biri olarak "inaktif COVID-19 aşısı hazırlanması" projesi ile tüm dünyanın evlerine kapandığı, üretimlerin ve taşımanın durduğu bir ortamda kısıtlı şartlarda, ülkenin mevcut alt yapıları ve insan kaynakları ile başlanan bir ortamda; 20 hasta örneğinden 13 farklı SARS-CoV-2 virüsü izole edildi. İzole edilen virüslerin PCR ile doğrulanmaları sonrasında sekanslamaları yapılarak genetik yapıları ortaya konuldu. Hücre kültüründe üreme özellikleri de dikkate alınarak izolatlardan biri seçilerek ilerlendi. Seçilen bu suşun (D614G) dizin analiz verileri gen bankasına girildi. Yeterince virüs üretiminden sonra, virüs içeriğine ve adjuvantına göre (Alum/Alum+CpG) 5 farklı aşı formüle edilerek farelerde immünojenite (humoral ve sellüler bağışıklıkları) yönünden test edildi. Fareler, tüm çalışma boyunca izlenerek güvenlik yönünden de izlendiler. İmmünojenik potenslerine göre en iyi aşı formülasyonu belirlendi. Bu formülasyona göre hücre kültüründe sitotoksosite testleri yapıldı. Yüksek doz ve Orta Doz aşılarda, Tübitak MAM'da BSL-3 ortamda hACE2+ farelere 3 hafta aralıkla SC yolla 2 kere aşılandıktan 1 ay sonra, burundan 4 gün arka arkaya ~105 SARS-Cov-2 virüsü ile challenge yapıldı. Challenge başlangıcından itibaren 12 güne kadar yem tüketimleri, vücut ısıları ölçümleri, hastalanma ve ölüm gibi veriler ile nekropsi bulguları, organ lezyonları ve histopatolojik lezyonlar değerlendirildi ve aşısız farelerle karşılaştırılarak yüksek doz ve orta doz aşılarda koruma potansı hesaplandı. Yüksek doz aşının daha iyi koruma sağladığı tespit edildi. Tüm prelinik veriler Tübitak hakemleri tarafından değerlendirildikten sonra klinik çalışmaların desteklenmesi için TUSEB başkanlığına TÜBİTAK resmi yazı yazıldı.

Bu aşamadan sonra Klinik Faz -1 çalışma ürünü aşılarda hazırlanması için hem TITCK başvuru dosyaları hazırlandı hem etik kurul başvuruları yapıldı hem de GMP ürünü için VETAL A.Ş. ile görüşmeler hızlandırılarak TITCK'dan GMP izni alınması için çalışmalar başlatıldı. VETAL A.Ş. de GMP başvuru formları içerisinde Aşının Hazırlanma Protokolünün üretim sürecindeki tüm dökümanlara girmesi ve kalite dosyaları hazırlandı. TITCK, VETAL A.Ş. ye şartlı deneme üretim izni verdi

Aralık 2020 itibarı ile daha önceden VETAL A.Ş. ye getirilen ve prelinik aşamada tüm özellikleri ortaya konulmuş olan SARS-CoV-2 aşısı tohum suşu ile deneme üretimleri başlatıldı. Klinik araştırmada kullanılacak ilk seri aşılarda (insan için yüksek doz, düşük Doz, plasebolar (PBS, Alum+CpG) hazırlandı. Türkiye'de GLP sertifikalı 3 merkezden biri olan İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi (IBG) ile görüşerek VETAL A.Ş. de GMP ürünü olarak hazırladığımız yüksek doz aşının ve plasebo toksisite testleri IBG'de yapıldı. IBG'nin erken değerlendirme raporları TITCK başvurusunda kullanıldı. Aynı seri aşılarda genotoksosite ve sitotoksosite çalışmaları GLP sertifikalı KOBAY A.Ş. de gerçekleştirildi.

Araştırma Protokolü (ClinicalTrial.gov ve gerekli tüm evraklar ve belgeler; Prelinik çalışmalar, GMP ürünü aşılarda kalite belgeleri, Tübitak-MAM challenge raporları, Toksisite, Genotoksosite ve Sitotoksosite raporları, Ankara Şehir Hastanesi Etik Kurul izni, Gönüllüler için Sigorta belgesi, vb) ile TITCK'ya başvuruldu. TITCK onayı sonrasında Ankara Şehir Hastanesinde Faz-1 Klinik Araştırmasına başlandı. Klinik Araştırma 50 gönüllü ile çalışıldı (20 Yüksek doz, 20 Düşük doz ve 10 Plasebo Grubu) Hemen hemen her gönüllünün aşılanması sonrası sağlık verileri Bağımsız Veri İzleme Komitesi (BVİK) tarafından değerlendirildikten sonra yeni aşılarda gerçekleştirildi. Güvenlilik yönünden oldukça iyi olarak değerlendirildi. Aşı ve plasebo gruplarının 0., 21. ve 35. Gün T hücre bağışıklık verileri oldukça etkin bulundu. Aynı günlerdeki antikor verileri düşük bulundu. BVİK ile yapılan değerlendirmeler sonrasında, dolaşımdaki virüsün geçirdiği mutasyonlar da dikkate alınarak Delta varyantından yeni aşı hazırlanarak klinik çalışmaların sürdürülmesine ve devam eden klinik çalışmanın ise sonlandırılmasına karar verildi.

Anahtar Kelimeler: SARS-CoV-2 COVID-19, Aşı Geliştirme, Üretim, Faz-1



Resim-1. GMP şartlarda hazırlanan yüksek doz aşılar



Resim-2. GMP şartlarda hazırlanan düşük doz aşılar

DK5: İNAKTİF AŞI ÜRETİMİNDE GAMA İRRADYASYON DAHA İYİ BİR SEÇENEK OLABİLİR Mİ?

Derya Dilek KANÇAĞI

Acıbadem Labcell Hücre Laboratuvarı, İstanbul, Türkiye

Üretim metodunda kullanılan gama irradyasyon ile inaktivasyon önceki çalışmalarda gösterildiği gibi yeterli inaktivasyonu sağlarken kimyasal saflık sorunu taşımayan aynı zamanda kimyasal inaktivasyon metodlarına göre daha etkin immün yanıt oluşturabilen bir inaktivasyon metodudur. Gama irradyasyon ile inaktivasyonun bir diğer avantajı da ek pürifikasyon basamaklarına neden olmaması sebebiyle daha zengin viral RNA kopya sayısı/doz sayısı korunumuna imkan vermesidir. Ayrıca meydana gelen kısa zincirli RNA/DNA yapıları doğuştan gelen bağışıklığı tetikler ve son basamakta uygulanması halinde ise sterilizasyonu sağlayarak ek sterilizasyon işleminin önüne geçer. Yüksek penetrasyon kapasitesi ile gama irradyasyon yüksek hacimde viral inaktivasyona olanak sağlarken; donuk şekilde inaktivasyon da mümkündür. Ekibimiz tarafından yapılan çalışmalarda 3-65 kGy arasında gamma ışınlama ile gerçekleştirilen 5 farklı doz ışınlama ile elde edilen ürün için yapılan analizler neticesinde SARS-CoV-2'ye yönelik güvenli inaktivasyon aralığının >25 kGy üzerinde başladığını ancak 45 kGy üzerine çıktığında antijenik ekspresyon yeteneğinde, virüslerin T hücre stimülasyon yeteneğinde ve viral RNA kopya sayısında önemli azalmaya neden olduğu gözlemlenmiş olup; inaktivite açısından ve immünojenik açıdan ideal doz aralığının 25-45 kGy olduğu doğrulanmış ve literatür uygunluğu gösterilmiştir. Glutaraldehit ile inaktivasyona kıyasla gama irradyasyonun 6 kat daha yüksek oranda antijenik yapıyı koruduğu gösterilmiştir. Ayrıca gama radyasyon ile 7 kat daha yüksek viral RNA kopya sayısının korunabildiği de saptanmıştır. Sonuç olarak günümüzde gama irradyasyon ile inaktive edilmiş aşı deneyimi az olsa da gama irradyasyon uygulanabilir, geniş spektrumlu, basit ve etkili bir inaktivasyon yöntemidir.

DK6: ADENOVIRAL VECTORS FROM COVID-19 TO CANCER

Hakan AKBULUT

Ankara University Cancer Research Institute, Ankara, Türkiye

Adenoviruses (Ad) are a diverse group of double-stranded DNA viruses with more than 50 different human adenoviral serotypes. Adenoviruses are considered efficient vectors to deliver target antigens to mammalian cells. The most common human adenoviral vector serotypes used in clinical trials are Ad serotype 5 (Ad5), Ad26, Ad35, and Ad4. Besides, non-human adenoviral vectors such as chimpanzees could be used. Human Ad serotype 5 (Ad5) has a non-enveloped icosahedral nucleocapsid containing a linear, double-stranded DNA genome composed of "early" and "late" regions of approximately 36 kb. To increase the cargo capacity of the vector up to 10 kb, the genes such as E1, E2, and E4 are usually deleted. E3 genes are not required for virus replication. Therefore, vectors in which E1, E2, E4, or any combination have been deleted are replication defective. Unlike other viral vectors, they do not integrate into the host genome. Therefore, the episomal expression of transgenes makes adenoviral vectors safe for mass vaccination against viral diseases. In addition, many features of adenoviral vectors make them advantageous in gene therapy, including ease of construction, ability to grow to very high titers in cell culture, the availability of certified cell lines for large-scale production and purification, and their safety. Adenoviral vectors are widely used in vaccines and gene therapy to deliver genetic material. Adenovirus-based vaccines elicit strong and sustained innate and adaptive immune responses, especially by inducing both CD4+ T cell- and CD8+ T cell-mediated immune responses. Currently, adenovirus-based vaccines are used against various pathogens, including Mycobacterium tuberculosis, human immunodeficiency virus (HIV), Plasmodium falciparum, and SRAS-CoV-2. In addition, adenoviral vectors emerged as essential platforms for cancer immunotherapy. Recently, tumor antigen-loaded adenoviral vectors such as Muc1, and hTERT have been successfully and safely tested in phase I clinical trials in cancer. Suicide genes used as therapeutic transgenes are also under clinical testing in various trials.

DK7: COVID-19'A KARŞI REKOMBİNANT RBD BAZLI AŞI GELİŞTİRİLMESİ

Mehmet İNAN

İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi, İzmir, Türkiye
Akdeniz Üniversitesi, Antalya, Türkiye

COVID-19'e karşı aşı çok hızlı geliştirilse de üretim miktarının düşük olmasından dolayı ülkeler arasında aşıya erişimde eşitsizlik gözlenmiştir. Protein-alt birim bazlı aşuların üretimi daha kolay ve ucuz olduğundan ve özel depolama/taşıma koşulları gerektirmediğinden düşük/orta gelirli ülkeler için uygundur. Bu çalışmada, SARS-CoV-2 reseptör bağlama alanını (RBD) *P. pastoris*'te rekombinant olarak üretimi ve aşı geliştirme çalışmaları yapılmıştır. SARS-CoV-2 RBD bölgesini kodlayan DNA sekansı sentetik olarak elde edilmiş ve *P. pastoris* üretim vektörlerine klonlanmıştır. Elde edilen klonlardan en iyi üretim yapan suş küçük ölçekte seçim yapılarak, stok kültür elde edilmiştir. 5-L'lik bir ölçekte iki aşamalı beslemeli kesikli fermantasyon ve üç aşamalı saflaştırma işlemi neticesinde elde edilen nihai ürün, Alum ve CpG ile formüle edilmiştir. Potens deneyleri, SARS-Cov-2 RBD'nin, SARS-Cov-2 ile canlı tehdide karşı immüno-koruyucu olduğunu ve aşılanmış farelerde nötralize edici antikorlar ortaya çıkardığını göstermiştir.

DK8: ASC TEKNOLOJİSİ İLE YENİ NESİL AŞILAR

Nesrin ÖZÖREN

Boğaziçi Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul, Türkiye

ASC proteini ve oluşturduğu mikro-kürecikler yeni ve uluslararası patentli bir aşı teknolojisinin temelinde bulunmaktadır. Bu kararlı protein yapıların uzun süre bozulmadan tampon çözeltide kalabildikleri ve de fareye verildikten sonra iki haftaya kadar dalakta buldukları gözlemlenmiştir. Bu teknolojiyi kullanarak kuş gribi (H1N1), SARS-COV2 viral aşı çalışmalarının yanı sıra belirteç hedefli kanser immün tedavi deneyleri hayvanlarda devam etmektedir.

DK9: COVID-19 DNA AŞI PLATFORMU

Mert DÖŞKAYA

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye
Ege Üniversitesi Aşı Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi (EGE-AGEM), İzmir, Türkiye
Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Aşı Çalışmaları Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

DNA aşıları 1990 yılların başında kullanılmaya başlanmış, kısa sürede prelinik çalışmalarda gösterdiği başarı, birçok klinik çalışmaların önünü açmıştır. Uzun süredir devam eden çalışmalar DNA aşılarının, canlı aşıları olmadığından güvenli olduğunu, ciddi yan etkilerinin bulunmadığı gösterilmiştir. GMP üretimi kolay olduğundan klinik çalışmalar için kolaylıkla üretilebilirler. DNA yapısı itibarı ile oda sıcaklığına dayanıklıdır. Bu özellikleri DNA aşılarının sıcak veya soğuk iklimlerde kolaylıkla kullanılabileceğini göstermektedir. DNA aşıları hedef antijeni doğasına benzer şekilde sentezler, gerektiğinde hücre üzerinden gerektiğinde hücre dışına salgılanmasını sağlayabilirler. Bu şekilde immün sistemin her iki kolunu uyarabilir, hücre çekirdeğine yerleştiği için uzun zaman antijen salımı sağlayarak uzun süreli korunma sağlayarak tekrar tekrar aşılmanın önüne geçebilmektedir. Tek başına etkili olabildikleri için adjuvana gerek duymaz. COVID-19 pandemisi sırasında mRNA aşısı ve adenoviral vektörler ile hücreye taşınan DNA aşıları ön plana çıkmıştır. Bu tür aşıların zor iklimlerde ve uzak yerlere taşınmasındaki zorluklar sebebiyle Hindistan'da SARS CoV-2'ye karşı geliştirilen ZyCoV-D DNA aşısı insanlarda acil kullanım onayı alan ilk DNA aşısıdır. Bunun dışında birçok DNA aşısı da prelinik ve klinik geliştirme aşamasındadır. Ruhsatlı veteriner DNA aşıları piyasada satılmaktadır. Pandemi sırasında geliştirilen DNA aşısı platformumuzda, ortalama 42 gün içinde prototip DNA aşısını geliştirip, prelinik denemisini tamamlayıp, GMP üretime yönelik ölçek büyütme çalışmalarını gerçekleştirilebilmektedir. Sunumda bu platform hakkında detaylı bilgi verilecek, ülkemizde COVID-19'a karşı geliştirilen yerli DNA aşımızın immunojenisite ve challenging çalışmalarının ön değerlendirme sonuçları paylaşılacaktır.

DK10: mRNA AŞILARININ DÜNYÜ, BUGÜGÜNÜ VE GELECEĞİ

Nadir KOÇAK

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Konya, Türkiye

Aşılama, hastalık önleme ve kontrol stratejilerinde öne çıkan bir yaklaşımdır. mRNA aşıları, kanser dahil tedavisi olmayan birçok hastalık için yeni bir çözüm olabilir. mRNA aşılarının salgınları, patojenleri ve immünoterapiyi kontrol etmek için umut verici bir platform haline geldiği görülmektedir. Yüksek potansiyelleri ve hızlı gelişmeleri nedeniyle mRNA aşıları, klasik aşılarla kıyasla umut verici bir alternatif olarak düşünülebilir. Genel olarak mRNA aşıları, yüksek güvenlik, büyük potens, hızlı geliştirme ve iyileştirme, hızlı üretim ve düşük üretim maliyeti nedeniyle diğer klasik aşı platformlarından ayrılır. Son birkaç yılda, yeni ve alternatif terapötik yaklaşımlar olarak nükleik asitlerin (özellikle mRNA) kullanımı önemli ölçüde artmıştır. Özellikle SARS-CoV-2 enfeksiyonunun önlenmesi için ITV mRNA aşılarının son uluslararası onayları ve mRNA kanser aşılarının umut verici terapötik sonuçları ile yakın gelecekte mRNA bazlı aşıların klinik araştırmaları içeren çalışmaların hızlanacağı öngörülmektedir.

Keşfinden günümüze kadar aşılama, dünya çapında birçok hastalığın ve salgının yayılmasını azaltma yeteneğini kanıtlamıştır. Klasik aşılar, vücuda girer girmez patojenle yüzleşmeye hazır antikorlar üretmek ve/veya bağışıklık sistemini uyarmak için geleneksel olarak antijenlerin bölümleri de dahil olmak üzere patojenin küçük boyutlu zayıflatılmış fragmanlarını barındırmıştır. Modern aşı metodolojileri, aşı formülasyonunda patojene özgü antijenden ziyade sentetik antijenler üretmeye odaklanılır. Birçok insan mRNA aşılarının yeni keşfedildiğine ve COVID-19 pandemisiyle ortaya çıktığına inanıyor. Aslında bu teknoloji üç yıldan çok daha eskiden, nanopartiküller içinde paketlenmiş mRNA dizilerinin hücrelere ilk başarılı transfeksiyonu 1989'da literatüre geçti. 1990'ların başındaki bir çalışmada, mRNA'nın farelerin kaslarına doğrudan enjeksiyonu, enjekte edilen mRNA tarafından kodlanan proteinlerin in vivo ekspresyonu ile sonuçlandı. Bu çalışmaların, in vitro olarak üretilen mRNA'nın, canlı hücrelerin dokuları içinde proteinler üretmek için genetik bilgi sağlama yeteneğinin ön kanıtını temsil ettiği ve mRNA aşıları kavramının ortaya çıktığı yerler olduğu kabul edilir (4). Daha sonraki çalışmalar, mRNA aşılarının viral ajanlar dahil olmak üzere patojenlere karşı humoral ve hücresele bağışıklık tepkilerini indüklediğini göstermiştir. Ayrıca tümör antijenini kodlayan mRNA'nın farelerde tümör hücrelerine karşı benzer bir bağışıklık tepkisi ortaya çıkardığı gösterilmiştir.

mRNA kompleksinin doğrudan enjeksiyonu, kodlanmış proteinlerin in vivo ekspresyonunu uyarma kabiliyetini göstermiş olsa da kullanımı kolay bir yol olan in vitro transkripsiyonlu mRNA'nın basit enjeksiyondan sonra in vivo olarak protein immünojenleri üretmesine dayalı teknik, kullanımını engelleyen birçok engelin ortaya çıkması nedeniyle sınırlı kalmıştır. Bu engeller arasında, RNazların bol mevcudiyeti nedeniyle in vivo mRNA'nın kararsızlığı ve ayrıca in vivo iletiminin verimsizliği yer alır. Geçtiğimiz yıllarda, teknolojik ilerlemeler ve büyük araştırma yatırımları, mRNA'nın aşı geliştirme ve protein replasman tedavisi alanlarında umut verici bir terapötik yol olmasını sağlamıştır. Teknolojik gelişmeler, mRNA aşılarıyla ilgili engelleri de büyük ölçüde çözebildi.

Bulaşıcı hastalıklara ve bazı kanser türlerine karşı çoklu mRNA aşı platformları şimdiye kadar hem hayvan modellerinde hem insanlarda iyi sonuçlar göstermiştir. 2020'nin başlarında COVID-19 salgınının ortaya çıkıp yayılması ve buna neden olan SARS-Cov-2 virüsünün sekansının bilinmesi, mRNA aşısının klinik deneylere ilk giren aşı olması nedeniyle, mRNA aşılarının hızla geliştirilmesini sağladı.

ITV mRNA aşılarının altında yatan temel kavram, gerekli antijeni mRNA dizisinde kodlamak ve elde edilen transkripti, antijen ekspresyonuna ve antijene özgü immün yanıtın uyarılmasına izin veren güvenli ve uygun dağıtım mekanizmaları aracılığıyla hedef hücrelerin sitoplazmasına aktarmaktır. Bilinen bir protein hedefi olan herhangi bir patojen için mRNA aşılarının üretilebildiği aşı platformları esastır. Hem klinik çalışmalar hem klinik öncesi deneyler, mRNA aşılarının güvenli, güçlü ve uzun süreli bağışıklık tepkileri ürettiğini göstermiştir. mRNA aşıları, hayvan modellerinde bulaşıcı hastalık hedeflerine karşı güçlü bir bağışıklık kazanmıştır. HIV, influenza, zika, kuduz virüsü ve diğerlerine karşı daha fazla çalışmada etkinliği gösterilmiştir. Ayrıca pulmonoloji ve diğer hastalıklar gibi diğer alanlarda umut verici sonuçlar vardır.

In vitro sentetik mRNA'ya dayalı aşılar ve tedaviler sürekli olarak geliştirilmektedir ve hedeflenen mRNA iletimi, karmaşık farmakolojisi ve mRNA'nın hücrelere girişini kolaylaştırmak için yeni alternatifler bulma gibi çözülmemiş engelleri ele almak için devam eden çabalar vardır. Gelecekteki araştırmaların amacı, farklı mRNA aşı platformları tarafından uyarılan bağışıklık yollarını karşılaştırmak ve aydınlatmak, mekanizmalarını daha da netleştirmek, bu mekanizmalara dayalı mevcut terapötik yaklaşımların etkinliğini artırmak ve diğer hastalıkları ve yeni patojenite faktörlerini hedef alan yeni deneyler başlatmak olabilir.

Kaynaklar

- 1) Rabinovich NR, McInnes P, Klein DL, Hall BF. Vaccine Technologies: View to the Future. *Science*. 1994;265:1401–4.
- 2) Malone R, Felgner P, Verma IM (August 1989). "Cationic Liposome-mediated RNA Transfection". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 86 (16): 6077–81.
- 3) Wolff J., Malone R., Williams P., Chong W., Acsadi G, et al. Direct Gene Transfer into Mouse Muscle in vivo. *Science*. 1990;247:1465–1468. doi: 10.1126/science.1690918.
- 4) Martinon F, Krishnan S, Lenzen G, Magné R, Gomard E, et al. (July 1993). "Induction of Virus-specific Cytotoxic T Lymphocytes in vivo by Liposome-entrapped mRNA". *European Journal of Immunology*. 23 (7): 1719–22.
- 5) Conry R, LoBuglio A, Wright M, Sumerel L, Pike M, et al. (April 1995). "Characterization of a Messenger RNA Polynucleotide Vaccine Vector". *Cancer Research*. 55(7): 1397–400.
- 6) Kallen K, Theß A (January 2014). "A Development that may Evolve into a Revolution in Medicine: mRNA as the Basis for Novel, Nucleotide-based Vaccines and Drugs". *Therapeutic Advances in Vaccines*. 2 (1): 10–31. doi:10.1177/2051013613508729.
- 7) Pascolo S (August 2004). "Messenger RNA-based Vaccines". *Expert Opinion on Biological Therapy*. 4 (8): 1285–94.
- 8) Karikó K., Buckstein M., Ni H., Weissman D. Suppression of RNA Recognition by Toll-like Receptors: The Impact of Nucleoside Modification and the Evolutionary Origin of RNA. *Immunity*. 2005;23:165–175. doi: 10.1016/j.immuni.2005.06.008.
- 9) Norbert p; Michael J.; Frederick W.; Weissman D, (April 2018). "mRNA Vaccines — a New Era in Vaccinology". *Nature Reviews Drug Discovery*. volume 17, pages261–279 (2018).
- 10) Garde D; Saltzman J (November 10, 2020). "The Story of mRNA: How a Once-dismissed Idea Became a Leading Technology in the Covid Vaccine Race". *STAT*. Archived from the Original on November 10, 2020.
- 11) Verbeke R; Lentacker I; De Smedt; Dewitte H. (October 2019). "Three Decades of Messenger RNA Vaccine Development". *Nano Today*. 28: 100766. doi:10.1016/j.nantod.2019.100766.
- 12) Thess A., Grund S., Mui B., Hope M., Baumhof P. et al. Sequence-engineered mRNA without Chemical Nucleoside Modifications Enables an Effective Protein Therapy in Large Animals. *Mol. Ther.* 23, 1456–1464 (2015).
- 13) Naik R., Peden K. Regulatory Considerations on the Development of mRNA Vaccines. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2020:1–19. doi: 10.1007/82_2020_220.
- 14) Kauffman K., Webber M., Anderson D. Materials for non-viral Intracellular Delivery of Messenger RNA Therapeutics. *J. Control. Release* 240, 227–234 (2016).
- 15) Hinz T., Kallen K., Britten C.M., Flamion B., Granzer U. et al. The European Regulatory Environment of RNA-based Vaccines. In: Kramps T., Elbers K., editors. *RNA Vaccines: Methods and Protocols*. Springer; New York, NY, USA: 2017. pp. 203–222. *Methods in Molecular Biology*.
- 16) Conry R, LoBuglio F, Wright M, Sumerel L, Pike M, Johanning F, Benjamin R, Lu D, Curiel DT. Chara. et al. Characterization of a Messenger RNA Polynucleotide Vaccine Vector. *Cancer Res*. 1995;55:1397–400.
- 17) Yang W, Ziqi Z, Jingwen L, Xuejiao H, Yuquan W. et al. mRNA Vaccine: A Potential Therapeutic Strategy. *Mol Cancer* 20, 33 (2021). doi.org/10.1186/s12943-021-01311-z.
- 18) Li Y., Kiledjian M. Regulation of mRNA Decapping. *Wiley Interdiscip. Rev. RNA*. 2010;1:253–265. doi: 10.1002/wrna.15.
- 19) Zimmermann O., Homann J., Bangert A., Müller A., Hristov G., et al. Successful use of mRNA-Nucleofection for Overexpression of Interleukin-10 in Murine Monocytes/macrophages for Anti-inflammatory Therapy in a Murine Model of Autoimmune Myocarditis. *J. Am. Heart Association*. 2012 doi: 10.1161/JAHA.112.003293.
- 20) Leppek K, Das R, Barna M. Functional 5' UTR mRNA Structures in Eukaryotic Translation Regulation and how to Find Them. (2018). *Nat Rev Mol Cell Biol* 19:158–174.
- 21) Lei M, Yu Z, Leaf H. mRNA Vaccine for Cancer Immunotherapy. *Molecular Cancer* 2021, 20 (1) doi.org/10.1186/s12943-021-01335-5.22) Kudla G, Lipinski L, Caffin F, Helwak A, Zyllicz M. High Guanine and Cytosine Content Increases mRNA Levels in Mammalian Cells. (2006). *PLoS Biol* 4:e180.
- 23) Kimchi-Sarfaty C, Oh J, Kim I., et al.: A 'Silent' Polymorphism in the MDR1 Gene Changes Substrate Specificity. (2007). *Science* 315, 525–528.
- 24) Kormann M., Hasenpusch G., Aneja M., Nica G., Flemmer A., et al. Expression of Therapeutic Proteins after Delivery of Chemically Modified mRNA in Mice. *Nat. Biotechnol.* 2011;29:154–157. doi: 10.1038/nbt.1733.
- 25) Anderson B., Muramatsu H., Nallagatla S., Bevilacqua P., Sansing L., et al. Incorporation of Pseudouridine into mRNA Enhances Translation by Diminishing PKR Activation. *Nucleic Acids Res*. 2010;38:5884–5892. doi: 10.1093/nar/gkq347.
- 26) Goss D., Kleiman F. Poly(A) Binding Proteins: Are They All Created Equal? *Wiley Interdiscip. Rev. RNA*. 2013;4:167–179. doi: 10.1002/wrna.1151.
- 27) Pardi N, Weissman D. Nucleoside Modified mRNA Vaccines for Infectious Diseases. *Methods Mol Biol*. 2017;1499:109–21.
- 28) Arango D, Sturgill D, Alhusaini N, Dillman A, Sweet TJ, et al. Acetylation of Cytidine in mRNA Promotes Translation Efficiency. *Cell*. 2018;175(7):1872–+.
- 29) Houseley J., Tollervey D. The Many Pathways of RNA Degradation. *Cell*. 2009;136:763–776. doi: 10.1016/j.cell.2009.01.019.
- 30) Wadhwa A, Aljabbari A, Lokras A, Foged C, Thakur A. Opportunities and Challenges in the Delivery of mRNA-based Vaccines. *Pharmaceutics*. 2020;12(2):102. doi:10.3390/pharmaceutics12020102
- 31) Jan D, Daniel R, Nadja S, Ugur S, Özlem Tet al. 2021. mRNA Therapeutics in Cancer Immunotherapy. *Molecular Cancer* 20:1.
- 32) Sahin, U.; Karikó, K.; Türeci, Ö. (2014), "mRNA-based Therapeutics – Developing a New Class of Drugs", *Nature Reviews Drug Discovery*, 13 (10): 759–780, doi:10.1038/nrd4278.

DK11: PEPTİD VE PROTEİN TEMELLİ COVID-19 AŞI YAKLAŞIMI

Serap ACAR DERMAN

Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Metalurji Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İstanbul, Türkiye

Şiddetli Akut Solunum Sendromu Koronavirüs-2 (SARS-CoV-2)'nin neden olduğu COVID-19, ilk olarak 2019 Aralık ayında bildirilmiş ve sonrasında dünya genelinde çok hızlı yayılarak birçok ülkenin en önemli sağlık sorunu haline gelmiştir. Halk sağlığına ciddi bir tehdit oluşturmasının yanı sıra, ülkemizde ve dünyanın birçok ülkesinde sağlık/ekonomi/eğitim/üretim gibi birçok sektörün çalışmaları sekteye uğramıştır. Bu sebeplerle hastalığın ilk tespit edildiği tarihten itibaren insanlarda koruyuculuk sağlayacak bir aşı formülasyonun geliştirilmesi için çalışmalar yoğun bir şekilde gerçekleştirilmiştir.

Bulaşıcı hastalıklarla mücadelede en etkili yaklaşım olan aşıları kullanarak önlem almak yaklaşımıyla COVID-19 ile mücadelede de pandeminin ilk zamanlarından itibaren pek çok ülke ve firma aşı geliştirme çalışmalarına hızla başlamış ve pek çok farklı aşı yaklaşımı üzerine çalışmalar sürdürülmüştür. Yapılan yoğun çalışmalar neticesinde COVID-19'a karşı farklı aşı platformları kullanılarak farklı teknolojilere sahip (inaktive veya atenüe, nükleik asit temelli, rekombinant protein temelli, peptid temelli, virüs benzeri partikül temelli gb.) aşılar geliştirilmiş ve bazıları onaylanıp ticari olarak kullanılmaya başlanmıştır.

Tüm aşı türleri arasında subunit aşılar (rekombinant protein ve epitop bazlı peptid aşıları), nispeten düşük maliyetli üretimleri, yapısında kolay değişiklik yapılabilmesi ve özellikle güvenlikleri ile öne çıksalar da; bu aşı türlerinde adjuvanlara ihtiyaç duyulmakta ve koruyucu aktivitelerini artırmak için çoklu dozlar gerekebilmektedir.

Rekombinant protein temelli aşı yaklaşımlarında; özellikle SARS-CoV-2'ye ait antijenik tüm Spike (S) proteini ve ilgili proteinin S1 ve S2 bölgelerinin farklı hücre hatlarında rekombinant üretimi yaklaşımları gerçekleştirilirken epitop bazlı peptid aşısı yaklaşımında ise virüse ait antijenik bölgelerin peptid dizilerinin in siliko yöntemler ile tespit edilmesi ve ilgili peptid dizilerinin sentezi, karakterizasyonu ve saflaştırılması gerçekleştirilmektedir.

Anahtar kelimeler: SARS-CoV-2, COVID-19, Rekombinant protein, peptid, COVID-19 aşısı

DK12: AŞI ÜRETİM SÜREÇLERİNDE KALİTE DENETİMİ

Asuman BOZKIR

Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Ankara, Türkiye

Aşılar; canlı veya ölü antijenik organizmaları, bakteri toksinlerini, toksoidleri, bakteri ve virüslerin belirli bölgelerinden alınmış antijenik materyalleri, antijeni ifade eden vektörleri, spesifik antijenleri ifade eden plazmidli nükleik asitleri içeren ve uygulandıkları organizmada belirli infeksiyon veya intoksikasyon etkenine karşı bağışıklık sağlayan farmasötik preparatlardır. Aşıların kalitesi, güvenliliği ve etkililiği üretim koşullarındaki değişikliklere duyarlıdır. Dolayısıyla aşı preparatlarının kalitesi ve güvenliliği sadece nihai ürünün test edilmesiyle sağlanamaz, kalite ve güvenlilik İyi İmalat Uygulamaları kurallarının izlenmesine ve üretim sürecinin sıkı denetimine bağlıdır. Aşı üretimi yukarı akış ve aşağı akış prosesi olarak iki ana başlıkta gerçekleşir. Bu proseslerin değerlendirme ve doğrulaması yapılmalıdır. Örneğin; aşı üretiminde canlı veya inaktif bakteriyel veya viral vektörler kullanılmışsa Ana ve Çalışma Tohum serisi oluşturulmalı ve genetik stabilite, tohum serilerinin üretiminde kullanılan maddelerin analizi ve tohum serilerinin kalite kontrol testleri (safılık, tanıma testleri, üreme özellikleri, biyokimyasal özellikleri) yapılmalıdır. Eğer üretimde plazmid DNA kullanılmışsa (mRNA, rekombinant DNA aşıları gibi) plazmidin haritası ve tüm nükleotid dizisi ile ilgili antijenik genin diziliminin doğruluğu kanıtlanmalıdır. Üretimde kullanılan antijenlerin kimlik tayini testleri, antijen içeriği, immünojenisite, potens testleri yapılmalıdır. Hazırlanacak aşı formülasyonunun bileşimi verilerek, antijenden başlayarak nihai aşının üretimine kadar tüm aşamalar için farmasötik gelişimin ayrıntıları açıklanmalıdır. Bu süreçte üretimin tutarlılığı kanıtlanmalıdır. Etkin madde ve bitmiş ürün spesifikasyonları tanımlanarak seri analiz (pH, osmolarite, ekstrakte edilebilir hacim, adjuvan içeriği, potens, bağlanma testleri, sterilite, endotoksin/pirojenite testleri gibi), proses ve ürünle ilgili tanımlanmış safsızlık analizleri ile stabilite testleri yapılmalıdır. Aşı adaylarına ilişkin karakterizasyon ve kalite değerlendirme süreci aşı özelinde ilgili yürürlükteki mevzuat ve uluslararası rehberler (ICH, WHO, EMA, FDA, Farmakopeler vb.) doğrultusunda yapılmalıdır.

Prof. Dr. Asuman Bozkır

Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesinden mezun oldu. 1989 yılında farmasötik teknoloji alanında doktora eğitimini tamamladı. İngiltere Aston Üniversitesinde farmasötik biyoteknoloji alanında doktora sonrası çalışmalar yaptı. 1997 yılında farmasötik teknoloji doçenti, 2004 yılında profesör oldu. 1998 yılından beri Sağlık Bakanlığı TİTCK'de İlaç, Aşı ve Biyoteknolojik Ürünler Teknik İnceleme, Değerlendirme ve Ruhsatlandırma Komisyonu Üyesi, 2018 yılından itibaren TÜSEB Aşı Bilim Kurul Üyesi, 2020 yılından itibaren ise Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığı görevini sürdürmektedir. Araştırma alanları farmasötik biyoteknoloji ile ilaç formülasyonlarının tasarlanması, stabilitesi ve uygulama yollarıdır.

:

DK13: COVID-19'A KARŞI EKSPRESYON SİSTEMLERİ KULLANILARAK AŞI GELİŞTİRİLME AŞAMALARI

Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU

Atatürk Üniversitesi, Aşı Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi;
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye

COVID-19'a karşı antiviral ilaç tedavilerinin düşük etki oluşturması, hastalığın bulaşma potansiyelinin çok yüksek olması, bulaşan kitlede yaklaşık %1 ölümle sonuçlanması bu hastalığı mücadelesi zor bir konuma getirmiştir. Böyle bir salgına karşı aşılarda tarihsel olarak daha etkili bulunduğu bilinmektedir. Aşıların için de de mutasyonlara karşı daha hızlı çözüm üretilebilen rekombinat aşıların varlığı bilinmektedir. Bu bağlamda farklı mutasyonları oluşabilen COVID-19'a karşı aşı etkinliğini sürdürebilmek için rekombinant protein aşısı geliştirmek dünya sağlığı açısından önemli bir hedef haline dönüşmüştür. Merkezimizde yaptığımız çalışmamızda, COVID-19'un Spike (RBD bölgesi) ve nükleokapsid (N) proteininin rekombinant üretimi ile COVID-19'a karşı aşı geliştirdik. Bu bağlamda, COVID-19'a ait bu antijenik proteinlerin ekspresyon sistemleri kullanılarak rekombinat üretimini, saf olarak elde edilmesini ve üretilen proteinlerin antijenik özelliklerini ve aşı olarak kullanılma kapasitelerini araştırdık. Sonuçta aşının üretimi için gerekli tüm basamaklar başarı ile aşılmış, üretilen ürün için nötralizasyon testlerinde de başarılı sonuçlar alınmıştır. Bu proje hedefleri itibarıyla beklenen etkili ve yan etkisi düşük ürün üretimi açısından çok başarılı bulunmuştur. Bu çalışma TUSEB 8822 nolu proje tarafından desteklenmiştir.

DK14: IMMUNOGENICITY OF THE POLYVALENT DNA PRIME-PROTEIN BOOST HIV VACCINE (PDPHV)

Shan LU

University of Massachusetts Medical School, USA

Low immunogenicity and poor cross reactivity are two major hurdles to the development of an effective HIV vaccine. HVTN 124 Trial, a phase I randomized placebo-controlled study in healthy adult volunteers, evaluated the safety and immunogenicity of the 2nd generation of PDPHV administered in two regimens: DNA prime (Months 0, 1 and 3) with protein boost (Months 6 and 8) or co-administration of DNA and protein vaccines (Months 0, 1, 3, 6 and 8). Both regimens were safe and tolerated. Both elicited high frequency of serum IgG responses (80-100%) with titers above 10,000 AUC against gp120/gp140 antigens from diverse viral subtypes (Clades A, B, C, AE, BC and M consensus). High titer IgG responses were present in 67-100% volunteers against gp70-VIV2 antigens from subtypes A, B, C, and AE. Positive neutralizing antibody activity was detected against both Tier 1A and Tier 1B viruses across Clades B, C, AE and AG. Potent and cross-reactive ADCC activity was identified with the highest response rate against the subtype AE CM235 (100%). Notably, ADCC was significantly higher in prime-boost regimen than co-administration. Similarly, the prime-boost elicited Env-specific CD4⁺ T cells in 100% volunteers compared to 38% in the co-administration regimen. In summary, the PDPHV vaccine was immunogenic in nearly all recipients, who exhibited a wide range of cross-reactive antibody and cellular immune responses. The finding that prime-boost regimen induced broader and higher level immune responses than the co-administration regimen pointed the direction of future studies.

DK15: ADVANCES IN THE DEVELOPMENT OF PARASITE VACCINES, HOW THE COVID-19 EXPERIENCE WILL ACCELERATE THEIR DEVELOPMENT

Maria Elena BOTAZZI

Pediatrics and Molecular Virology & Microbiology, Baylor College of Medicine, USA
Texas Children's Hospital Center for Vaccine Development, USA

For the last two decades, the National School of Tropical Medicine and its Center for Vaccine Development in Houston, Texas has operated with the mission to develop and test new low-cost and effective vaccines against emerging, parasitic and neglected tropical diseases, build capacity for vaccine development locally and with foreign nations and guide and influence vaccine policy and advocacy. This approach relies on the need for international diplomacy, solidarity, and cooperation. This presentation will provide an overview of the past, present and future of Parasite Vaccine Development. Specifically, a behind the scenes vignette of the case study of a recombinant protein-based vaccine technology, suitable for global access will be used to highlight how the COVID-19 experience will accelerate the development of parasitic vaccines.

Keywords: Diplomacy, COVID-19, parasitic vaccines

DK16: SENTETİK PEPTİD TEMELLİ AŞI ÜRETİMİ

Semra AYDIN

Hacettepe Üniversitesi Aşı Enstitüsü, Aşı Teknolojisi Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

SARS-CoV-2, 2019'un sonlarında Wuhan'da ortaya çıkıp ve hızla yayılarak pandemiye dönüşmüştür. Salgından yaklaşık bir yıl sonra binlerce bireysel mutasyon tanımlanmaya başlanmış ve özellikle yüzey glikoproteinini olan ve viryonlara karakteristik dikenli şeklini veren spike (S) geninde meydana gelen mutasyonlar birçoğu endişe verici suşların ortaya çıkmasına neden olmuştur (<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/variant-classifications.html>). Delta (B.1.617.2) varyantı 2020'nin sonunda ortaya çıkmış ve 2021'in ortalarında küresel anlamda baskın suş haline gelmiştir. Spike (S) glikoproteininde ve nükleoproteininde (N) meydana gelen mutasyonların, atasal Wuhan-Hu-1 virüsüne göre bulaşıcılığı, replikasyon kinetiğini ve viral yükleri açısından değişiklik gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca, N-terminal alanındaki ve reseptör bağlama alanındaki çoklu S mutasyonlarının, bağışıklıktan kaçışını desteklemektedir. Omicron varyantı; diğer varyantlar ile örtüşen bazı delesyonlar ve 30'dan fazla mutasyon, (örneğin, N501Y, 69-70del, K417N, T95I, T478K, G142D/143-145del, N655Y, N679K, P681H vb.) içermektedir. Bu mutasyonların artan bulaşıcılık, daha yüksek viral bağlanma afinitesi ve daha yüksek antikor kaçışına yol açtığı bilinmektedir (1-3).

Genom sekansı analizleri, rekombinant DNA teknolojileri ve bilgisayar temelli insliko yaklaşımlar ile patojenlerin gen yapıları hakkında elde edilen bilgiler, varyant serotipler veya korunmuş antijenler kullanılarak daha etkili aşı adaylarının geliştirilebilmesi için antijen tahminlerine olanak sağlamaktadır. Epitoplar, patojen organizmanın yüzeyinde bulunan ve konakçı antikorları tarafından tanınan antijenik belirteçlerdir. 8-11 amino asit uzunluğundaki ekstrasellüler peptitler MHC I sınıfı moleküllerine bağlanırlar ve CD8+ T hücre reseptörleri tarafından tanınırlar. Nispeten uzun 12-25 amino asitlik peptidler ise intraselüler olarak parçalanırlar ve MHC sınıf II molekülleri ve dolayısı ile CD4+T hücre reseptörleri tarafından tanınırlar (4-6). Konakçı hücre tarafından antijenlerin tanınması CD8+ T hücrelerinin sitotoksik T lenfositleri haline gelmesine ve CD4 T hücrelerinin ise T helper (yardımcı) hücrelere dönüşmesine olanak sağlar. Hücre aracılı bağışıklık tepkilerinin aktive olması sitokin üretimine ve B hücrelerinin uyarılmasına yol açar Sentetik peptid temelli aşı sistemleri özellikle ortaya çıkan yeni varyantların kolayca dâhil edilebilmesi ve patojenin yalnızca bağışıklık yanıtı ile ilgili seçilmiş epitoplarını içermesi sebebi ile COVID-19'a karşı güvenli ve etkili bir aşı geliştirilmesine olanak sağlayabilecek niteliktedir (7-10).

KAYNAKÇA

1. Walls, A.C., et al., (2022) SARS-CoV-2 breakthrough infections elicit potent, broad, and durable neutralizing antibody responses. *Cell*. 185(5): p. 872-880.e3.
2. Yu, J., et al., Neutralization of the SARS-CoV-2 Omicron BA.1 and BA.2 Variants. *N Engl J Med*, 2022. 386(16): p.1579-1580.
3. Maxmen, A., (2022) Are new Omicron subvariants a threat? Here's how scientists are keeping watch. *Nature*, 604(7907): p. 605-606.
4. Peters B, Nielsen M, Sette A (2020) T cell epitope predictions. *Annu Rev Immunol* 38:123-145.
5. Oyarzún P, Ellis JJ, Bodén M, Kobe B (2013) PREDIVAC: CD4+ T-cell epitope prediction for vaccine design that covers 95% of HLA class II DR protein diversity. *BMC Bioinformatics* 14:52.
6. Sanchez-Trincado JL, Gomez-Perosanz M, Reche PA (2017) Fundamentals and methods for T-and B-cell epitope prediction. *J Immunol Res*. Article ID 2680160, 14
7. Pcylik M, Gorska S, Brzozowska E, Dobrut A, Ciekot J, Gamian A, Brzychczy-Włoch M. (2018). Epitope mapping of streptococcus agalactiae elongation factor tu protein recognized by human sera. *Front Microbiol* 9:125.
8. Schlingmann B, Castiglia KR, Stobart CC, Moore ML (2018) Polyvalent vaccines: High-maintenance heroes. *PLoS Pathog*. 14(4): e1006904
9. Sette A, Rappuoli R (2010) Reverse vaccinology: developing vaccines in the era of genomics. *Immunity* 33:530-541.
10. Patronov A, Doytchinova I (2013) T-cell epitope vaccine design by immunoinformatics. *Open Biol* 3:120139.

DK17: SARS-COV-2 VİRÜSÜNE KARŞI CHALLENGE HAYVAN MODELLERİ

Hivda POLAT

TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi, Genetik Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsü, Kocaeli, Türkiye

In vivo meydan okuma (challenge) deneyleri, bir ürüne giden yolda faz çalışmalarından önceki son aşamadır. Etkinlik, aday ilaç veya aşı ile hastalık etkeninin uygun model hayvanlara aynı anda veya arka arkaya verilmesiyle ölçülür. Aday bir aşı veya ilacın etkinliği önce farelerde, ardından daha büyük model hayvanlarda gösterilir. Pandeminin başından beri SARS-CoV-2 araştırmalarında hayvan modeli olarak K18-hACE2 transgenik fareler, altın Suriye hamsterleri, yaban gelinciği ve insan olmayan primatlar (NHP'ler) kabul görmüş ve kullanılmıştır.

Altın Suriye hamsteri, SARS-CoV-2 enfeksiyonu için iyi bir modeldir çünkü viral replikasyonu iyidir ve akciğerlerde pnömoni gibi patolojik lezyonlara rastlanılmaktadır. Üst solunum yolları hastalıklarında gelinciklerin SARS-CoV-2 replikasyonunu desteklediği ve akciğer yüzey alanının %5-10'unu içeren multifokal pulmoner lezyonlar geliştirdiği gösterilmiştir. İnsanlarla yüksek fizyolojik ve filogenetik benzerlikleri nedeniyle insan olmayan primatlar (NHP), SARS-CoV-2'nin etkilerini incelemek için mükemmel modellerdir ve hafif ila orta dereceli semptomlar sunar.

Corona virüsler için model hayvan çalışmaları SARS-CoV ve MERS-CoV hastalıkları zamanında başlamıştır. Bu hastalıklar da farklı fare ırkları (BALB/C, C57BL/6, B6, 129S) denenmiştir. TÜBİTAK MAM da yapılan ≤ 21 haftalık farelerle yaptığımız çalışmalarda BALB/C ve nude farelerin bu virus ile enfeksiyonda etkilenmediği ve RT PCR da viral titrenin 33-36 arası Ct verdiği görülmüştür. Bu sebeple SARS-CoV-2 hayvan modelinde kullanılan insan ACE2'sini eksprese edebilen K18-hACE2 transgenik fareler ile model çalışmasına devam edilmiştir. Yaptığımız bir başka deneyde K18-hACE2 transgenik fareler ile BALB/C farelerin karşılaştırılması yapılmıştır. Bu çalışmada da farklı SARS-CoV-2 virüs suşları ve farklı uygulama yolları karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlarda virüsün titresi, TCID₅₀ değeri ve verilme sıklığının önemi kanıtlanmıştır.

TÜBİTAK MAM BSL 3 laboratuvarlarında aşı projeleri kapsamında gelincik hayvan modeli de çalışılmıştır. Gelincik modeli aynen insanlarla benzer seyir göstermiştir. Virus saçılımı oral ve anal sekretlerle olduğu, alınan örneklerin PCR da çalışılması ile gösterilmiştir. Aşılanan hayvanlarda insanlardaki gibi 2-6. günlerde viral titrenin yoğunlaştığı ve 8. gün itibarıyla viral titrenin azalmaya başladığı gösterilmiştir. Buna paralel aşılınmayan hayvanlarda virus azalması 10-12. gün itibarıyla başladığı ve viral titre hastalığın her gününde aşılanan hayvanlara göre daha yüksek olduğu kanıtlanmıştır.

DK18: ÜLKEMİZDE KULLANILAN SARS COV-2 AŞILARI VE ANALİZ SÜREÇLERİ

İlhan BOZYİĞİT, Hakan BÜZKAYA

Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu (TİTCK), Ankara, Türkiye

Analiz ve Kontrol Laboratuvarları Dairesi Başkanlığı; görev alanına giren ilaç, ilaç etken ve yardımcı maddeleri, aşı, immunserum, biyoteknolojik ürünler, geleneksel bitkisel tıbbi ürünler, kozmetik ürünler, homeopatik tıbbi ürünler, ileri tedavi tıbbi ürünleri, tıbbi cihazlar, insan vücuduna doğrudan temas eden biyosidal ürünler ve özel amaçlı diyet gıdalarının analizlerini yapmakla görevli *ULUSAL REFERANS LABORATUVARLARIDIR*.

Referans Laboratuvarlarımız Cumhuriyetin ilk yıllarına kadar uzanan köklü bir geçmişe sahiptir. Yıllar içerisinde organizasyonel ve mevzuatsal değişiklikler yaşanmış ve bu doğrultuda gerekli uyumlaştırma çalışmaları yapılmıştır. Kurumumuz Analiz ve Kontrol Laboratuvarları Dairesi Başkanlığı, Sıhhiye ve Gölbaşı Yerleşkelerinde yaklaşık 21.000 m² alanda hizmet vermektedir. ISO 17025 kalite yönetim sistemi, RHSMB döneminden günümüze kadar resmi olarak işletilmektedir.

Laboratuvarlarımıza ithal ruhsatı, imal ruhsatı, piyasa kontrolü/piyasa gözetim denetimi, şikâyet, seri serbest bırakma ve satın alma amacıyla gönderilen ürünlerde kalite kontrol analizleri tarafımızca yapılmaktadır.

Ülkemizde üretilen veya primer ve sekonder ambalajı ülkemizde yapılan aşı ve immun serumların ilgili yasal mevzuat çerçevesinde kalite kontrol analizleri yapılarak serbest bırakma sertifikası / Seri Serbest Bırakma Uygunsuzluk belgeleri düzenlenmektedir.

Genişletilmiş bağışıklama programında kullanılan aşuların kalite kontrol analizleri; Ulusal ve Uluslararası Farmakopeler, Dünya Sağlık Örgütü teknik rapor serileri ve firma yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Bu kapsamda, SARS CoV-2 aşularında fizikokimyasal, genel güvenilirlik ve etkililik yönüyle kalite kontrol testleri yapılmaktadır.

Dünya Sağlık Örgütü tarafından listelenmiş otoriteler arasında yer alma hedefimize yönelik EDQM OMCL ağına katılım çalışmaları kapsamında başvurular yapılmış olup süreç devam etmektedir.

DK19: AŞILARIN TARİHÇESİ

Adnan Yüksel GÜRÜZ

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye
Ege Üniversitesi Aşı Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi (EGE-AGEM), İzmir, Türkiye
Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Aşı Çalışmaları Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Tam veya Acil kullanım Onayı, dünya ve ülkelerin yasal otoritelerince verildikten sonra kullanıma giren güncel aşilar insan ve hayvanları enfeksiyon ajanlarına karşı korumanın en etkili yoludur. Aşilar enfeksiyonlara karşı direnç oluşturmak için konağın doğal savunmasını kullanarak, hedef antijene karşı konak bağışıklık sistemini hazır hale getirir. Aşiların temel amacı konak mikroorganizmayla karşılaştığında olası enfeksiyon veya komplikasyona yol açmadan immün yanıt oluşturmalarını sağlamaktır.

Aşılamanın zaman yolculuğu yaparsak, ilk duraklarımızdan biri 17. yüzyıl Çin'inin de bir Budist Manastırı olacaktır. Budist rahiplerin yılan zehrine karşı bağışıklık kazanmak için yılan zehri içtiklerini görürüz. Yolumuz buradan Osmanlı Sarayına uzanacaktır (1717-1721). İngiliz büyükelçisinin eşi Lady Mary Montagu (1689-1762), Britanya'daki arkadaşlarına yazdığı mektupta çiçek hastalığına karşı "aşılama" (variolyasyon) çalışmalarından bahsetmiştir. Leydi Montagu (ki kendisi ve aile üyeleri çiçek hastalığına karşı İstanbul'da aşılanmıştır) İngiltere'ye dönüşünde Osmanlı'da gördüğü tekniği yaygınlaştırmak için kampanya yürütmüştür. Onun mektupları, Türkiye ve Avrupa'daki en eski aşı belgeleri olarak kabul edilmektedir.

Aşının Doğudan, Batıya doğru seferinde durağımız İngiltere, 1796'da Çağdaş aşı biliminin kurucusu olarak kabul edilen Edward Jenner'ın 13 yaşında bir çocuğa sığır çiçek virüsü aşılamaının insan çiçek hastalığına karşı koruyuculuğunu göstermesi kendisini modern aşılama tarihindeki en popüler kişi yapmıştır. Bu aşının 1798'den beri sistematik olarak uygulanmasıyla, çiçek hastalığı 1979'da küresel olarak ortadan kaldırılabilmiştir.

Yolumuz 19. yüzyıla geldiğinde aşilar o zaman göre çok büyük aşamalar kaydetmeye başladı. 1885 yılında kuduz aşısı, 1897-1904 yıllarında sırasıyla canlı atenüe kolera aşısı ve insanlarda inaktive şarbon aşısı geliştiren Dr. Louis Pasteur'u parlayan yıldızlardan biri olur. 19. yüzyılın sonlarında icat edilen Veba aşısı, 1890-1950 yılları arasında, halen etkin olarak kullandığımız Bacillis-Calmette-Guerin (BCG) aşısı gibi bakteriyel aşı gelişimi insanların canına can katmıştır.

20. yüzyıla doğru ilerlerken, 1923'te Alexander Glennie tetanoz toksinini formaldehit ile etkisiz hale getirerek etkin bir tetanos aşısı kullanıma sokmuş, aynı yöntemi uygulayarak geliştirilen difteri aşısı 1926'da yaşamımıza girmiş, 1948'de ilk tam hücre aşısı olan Boğmaca aşısı yaratılmıştır.

Viral doku kültürü yöntemlerinde (1950-1985) 20. yüzyıl gelişimine geçerken, Salk (inaktive) çocuk felci aşısı ve Sabin (canlı zayıflatılmış oral) çocuk felci aşısını geliştirdi. Bu aşiların kitlesel kullanımı sonrası çocuk felci virüsünü dünyanın % 99'undan yok edilmiştir.

Son 50 yılda ya mevcut yöntemleri değiştirerek ya da yeni biyoteknolojik platformlar kullanılarak geliştirilen bir çok aşı insan ömrünün uzatan en önemli sağlık keşifleri arasında yerini almıştır. Bu yeni teknikler, aşiları tasarlamak, üretmek ve uygulamak için gereken süreyi yıllardan aylara kısaltmıştır. COVID-19 pandemisi ile birlikte SARS-CoV-2 ve olası yeni ortaya çıkabilecek hastalıkların üstesinden gelmek için konvansiyonel ve yenilikçi biyoteknolojik platformlar birlikte kullanılmaktadır.

DK20: AŞI GELİŞTİRME VE ÜRETİM SÜRECİ: OLANAKLAR VE KISITLAMALAR

Sevda ŞENEL

Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye
Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığı (TÜSEB), Aziz Sancar Araştırma Merkezi, Ankara, Türkiye

Aşı geliştirme çalışmaları son derece uzun, meşakkatli ve yüksek maliyetli bir süreçtir. Öte yandan enfeksiyona neden patojenlerin birçoğunun zaman içinde yapılarında değişikliklerin olması ve paraziter enfeksiyonlarda olduğu üzere bir çoğunun çok aşamalı yaşam döngüsüne sahip olmaları bu enfeksiyonlara karşı etkililiği ve koruyuculuğu yüksek bir aşının geliştirilmesini kısıtlamaktadır. Aşı çalışmalarda temel hedef, kalitesi, etkililiği ve güvenliliği garanti edilmiş bir aşı üretilmesidir. Son yıllarda yüksek saflıkta aşılardan geliştirilmesiyle aşının güvenliliği artırılmakla birlikte immunojenisitetleri zayıflamaktadır. Bu nedenle adjuvant kullanımı gerekmektedir. Günümüzde bu alanda çok sayıda çalışmalar sürdürülmekte olmasına karşın, güvenlilik nedeniyle ürünle birlikte onay alan adjuvan sayısı ne yazık ki çok kısıtlıdır. Dünyada halihazırda aşısı olmayan ya da mevcut aşının etkililiği, koruyuculuğu düşük olan çok sayıda enfeksiyon hastalığı bulunmaktadır. Bu nedenle her türlü kısıtlamaya rağmen aşı çalışmaları yoğun olarak sürdürülmesi önemlidir. Bu engelleri aşarak mümkün olan en kısa zamanda bir aşının ürüne dönüşmesinde en önemli husus, bu çalışmaların Ar-Ge aşamasından itibaren akademi, endüstri, kamu işbirliği ile gerçekleştirilmesidir. Bu sayede hem bilimsel hem mali hem de üretime yönelik planlamalarla doğru ve hızlı bir şekilde ilerlemek mümkün olacaktır. Bunun yanısıra aşının üretiminde hem ekipman hem de kapasite yönüyle deneyimli insan gücü, uygun tesisin mevcut olması, üretim için gerekli hammaddelerin (hücre hatları, adjuvant vb) kesintisiz tedariki de ürüne ulaşılmasında diğer önemli hususlardır. Aşı geliştirilmesi ve üretiminin her aşamasında düzenleyici (WHO, TİTCK, EMA, ICH) kılavuzlarının gerekliliklerinin de göz önünde bulundurulması olmazsa olmaz bir koşuldur. Sunumumda, ulusal ve global düzeyde aşı geliştirilmesinden ürüne kadar geçen süreçte mevcut olanaklar ve kısıtlamalar vurgulanacak ve alınması gereken eylemler tartışılacaktır.

DK21: MAYMUNÇİÇEĞİ AŞILARI: GÜNCEL DURUM

Gülay KORUKLUOĞLU

Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Ulusal Viroloji Referans Laboratuvarı Çankaya, Ankara, Türkiye

İlk olarak Afrika'da görülen Maymunçiçeği vakaları şu anda tüm dünyada yakından izlenen bir salgın halini almış ve ülkemizde de vakalar saptanmıştır. Enfeksiyona *Poxviridae* ailesindeki *Orthopoxvirus* cinsinin bir üyesi olan maymunçiçeği virüsü neden olur. Maymunçiçeği salgınlarının kontrolü öncelikle hastaların gözetimi, temas takibi, izolasyonu ve bakımı gibi temel halk sağlığı önlemlerine dayanır. Korunmada çiçek aşısı yapılırken maymunçiçeği hastalığına karşı da bir miktar koruma sağlaması beklenir ancak etkinlik verileri sınırlıdır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) şu anda toplu aşılama önermemektedir.

Temaslı vakalar için, hastalığın başlamasını önlemek için ideal olarak ilk maruziyetten sonraki dört gün içinde, uygun bir ikinci veya üçüncü nesil aşı ile temas sonrası önleyici aşılama önerilir. Birincil koruyucu aşılama riskli davranış gösteren bireyler (homoseksüel bireyler vb.) veya birden fazla seks partneri olan kişiler, ortopoksvirüslerle çalışan laboratuvar çalışanları ve hastaları takip eden sağlık profesyonelleri ile maruz kalma riski yüksek kişiler için önerilir.

Aşılama programları, kapsamlı sürveyans ve temas takibi ile desteklenmelidir. 1980'de sona eren Çiçek Eradikasyon Programı kapsamında kullanılan birinci nesil aşılar, mevcut güvenlik ve üretim standartlarını karşılamadıkları için maymunçiçeği enfeksiyonu için şu anda önerilmemektedir. Daha sonraki yıllarda yeni ve daha güvenli ikinci ve üçüncü nesil aşılar geliştirilmiştir.

İkinci nesil aşılar:

ACAM2000 (Emergent BioSolutions) : Ana stok ABD, Avustralya ve Singapur'da bulunmaktadır. Daha önce lisanslı buzağı lenfinden üretilen aşıdan (Dryvax) plak saflaştırılmasıyla elde edilen ve Vero hücrelerinde kültürlenmiş replike olabilen / canlı bir Vaccinia virüsü çiçek aşısıdır.Yapılan klinik çalışmalardan bildirilen ciddi yan etkiler; miyoperikardit, kardiyomiyopati ve nadiren ciddi sekeller, örneğin yaygın aşı, egzama aşısı ve ensefalopatidir.

Üçüncü nesil aşılar:

MVA-BN (Bavarian Nordic): Ana stok Avrupa ve Kanada'da bulunmaktadır.Canlı ancak replike olmayan Modifiye Vaccinia Ankara virüsü ile geliştirilmiştir. MVA-BN aşısı, alerjisi olan herhangi bir kişide dikkatli kullanılmalıdır. Aşının uygulanmasıyla ilişkili en yaygın yan etkiler; enjeksiyon bölgesi reaksiyonları (ağrı, kızarıklık, şişme, sertleşme, kaşıntı) ve sistemik kas ağrısı, baş ağrısı, yorgunluk, mide bulantısı, kas ağrısı ve titreme gibi reaksiyonlardır. Atopik olan kişiler daha yoğun lokal cilt reaksiyonları (kızarıklık, şişme ve kaşıntı gibi) yaşayabilir.

LC-16 (KM Biologics): Ana stok Japonya'dır. Minimal replike olan vaccinia suşu kullanılarak hazırlanmaktadır.Bağışıklığı baskılanmış veya atopik dermatiti olan kişilerde , hamilelikte kontrendikedir. Aşının uygulanmasından sonra görülen yan etkiler; lenfadenopati, ateş, yorgunluk, döküntü, aşılama yerinde eritem, eklem ağrısıdır.

Kaynaklar

1. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/maymunçiçeği>.
2. <https://www.who.int/emergencies/situations/maymunçiçeği-oubreak-2022>.
3. <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-MPX-surveillance-2022.1>.
4. <https://www.england.nhs.uk/national-infection-prevention-and-control-manual-for-england/>.

DK22: İMMÜN SİSTEMİN STOKASTİK DİNAMİĞİ

Evren Doruk ENGİN

Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara, Türkiye

HücreSEL biyolojik süreçlerde oluşan pertürbasyon ve fluktuasyonlar, düşük konsantrasyonda bulunan moleküllerin olasılıksal etkileşimine bağlanmaktadır. Transkripsiyonel ve translasyonel olaylardaki rassallığın, aynı genotipe sahip hücre topluluğunu oluşturan bireylerin heterojen fenotipik özellikler göstermesine neden olduğu uzun bir süredir bilinmektedir. Bununla birlikte, stokastik davranışın modellenmesinde kullanılan yöntemlerin yüksek hesapsal yoğunlukta olması nedeniyle, pratik olarak az sayıda etkileşen molekül için uygulanabilir durumdadır. Buna ek olarak, biyolojik sistemlerin herhangi bir andaki durumunu ölçmek için kullanılan yöntemlerdeki ölçüm belirsizliği, tahmin ufkumuzu sınırlandırarak, sonraki durumların öngörülebilirliğini kısıtlamaktadır. Tek hücre omik yöntemlerinde sağlanan gelişmelere rağmen, bu yöntemlerin destrüktif olması, temporal veri elde edilmesini olanaksız kılmaktadır.

Bu çalışmada, biyolojik sistemlerde ölçüm ve modelleme konusunda karşılaşılan zorlukların aşılması için stokastisite kaynaklarının belirlenmesine yönelik yazılımsal bir yaklaşım önerilmektedir. Bu yaklaşımda, hücre proteomunda yer alan proteinler arası etkileşimler ve gen regülasyon ağının oluşturabileceği muhtemel devrelerin ortaya çıkarılması hedeflenmiştir. Bu amaçla, Uniprot veritabanında yer alan insan, fare ve rat proteomlarından protein kayıtları XML formatında indirilerek, çok kipli veritabanı ArangoDB'ye depolanmıştır. Protein – protein etkileşin grafını oluşturan kenarlar IntAct veritabanından, transkripsiyon faktörü – gen – miRNA etkilşim grafını oluşturan kenarlar ise RegNetWork veritabanından elde edilmiştir. Veritabanının oluşturulması için veri ayıklama ve hazırlama algortimaları Scala dilinde yazılmıştır. Devrelerin keşfedilmesi için ise ArangoDB'nin sağladığı graf geçiş (graph traversal) algoritmalarından yararlanılmıştır.

Geliştirilen yazılım ve veritabanı ile, hücrelerin stokastik davranışından sorumlu olabilecek devrelerin, tek hücre transkriptomik verileri ile birlikte analiz edildiğinde, transkripsiyon faktörü ve miRNA aracılı gen ifade regülasyonunu katmanı ve post-translasyonel modifikasyonlar (çoğunlukla fosforilasyon ve defosforilasyon) katmanı düzeylerinde operasyonel (amplifikatör) üniteler şeklinde soyut bir modellemesinin yapılması amaçlanmıştır.

DK23: SARS COV-2 ZARF PROTEİNİNİN (E) BACULOVİRUS EKSPRESYON SİSTEMİNDE İFADESİ VE İMMUNOJENİTESİ

Tuba Çiğdem OĞUZOĞLU, İlke KARAYEL HACIOĞLU, Alireza HANİFEHNEZHAD, Saber Delpasand KHABBAZİ, Zihni DEMİRBAĞ, Aykut ÖZKUL

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Coronavirüsler, SARS, MERS ve bugün de COVID-19 pandemisi ile hiç tahmin edilmeyen bir öneme sahip olmuşlardır. Çin'de Aralık 2019'da başlayan salgın, oldukça yüksek bulaşma hızı ile tüm dünyaya yayılmış, Kasım 2022 itibariyle milyarlarca insanı enfekte ederek yaklaşık 6.5 milyon kişinin ölümüne sebep olmuştur. Ezber bozan bu pandemik enfeksiyon nedeniyle bilim insanları, enfeksiyonla mücadelede kullanılacak tedavi seçeneklerini araştırmaya ve bağışıklık sağlayacak aşılardan geliştirilmesine odaklanmıştır.

Araştırma grubumuzca, COVID-19 enfeksiyonu etkeni SARS-CoV-2'nin zarf (envelope-E) proteininin rekombinant olarak baculovirus ekspresyon sisteminde üretimi ve üretilecek bu proteinin deney hayvanlarında immun yanıtı uyarıp uyarmayacağını araştırılması hedeflenmiştir. Bu amaçla; Türkiye orijinli SARS-CoV-2 saha suşlarından yaklaşık 228 baz çiftlik viral zarf genini kodlayan bölge Baculovirus ekspresyon sisteminde rekombinant protein olarak elde edilmiş ve ifnar farelerde immunizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen proteinin immun yanıtı uyardığı belirlenmiş olup, COVID-19 enfeksiyonu ile mücadelede kullanılacak aşı geliştirme ve/veya antikor tanıya yönelik indirekt tanı metodlarına ham madde olma potansiyeli bulunduğu belirlenmiştir. Bu çalışma, Ankara Üniversitesi ve Karadeniz Teknik Üniversitesi araştırmacıları tarafından yürütülmekte olup, TÜBİTAK-TOVAG 1001 projesi olarak desteklenmiştir.

DK24: DEVELOPMENT OF PLANT-BASED VACCINES AND THERAPEUTICS AGAINST COVID-19

Tarlan MAMMEDOV

Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Antalya, Türkiye

SARS-CoV-2 is a novel and highly pathogenic coronavirus, which has caused an outbreak in Wuhan City, China, in 2019 and then spread rapidly throughout the world. Although several COVID-19 vaccines are currently available for mass immunization, they are less effective against emerging SARS-CoV-2 variants, especially the Omicron. We successfully produced receptor-binding domain (RBD) variants of spike (S) protein of SARS-CoV-2 and an antigen cocktail in *Nicotiana benthamiana*, which are highly produced in plants and elicited high-titer antibodies with potent neutralizing activity against SARS-CoV-2. Based on the neutralization ability, we demonstrated that plant produced RBD and cocktail-based vaccine candidates are highly effective against SARS-CoV-2, independently of its emerging variants, including the Omicron (B.1.1.529). Our pre-clinical data support that plant produced RBD and cocktail-based antigens are most promising vaccine candidates and can be used as universal vaccines against all variants of SARS-CoV-2.

DK25: AŞI KLİNİK ÇALIŞMALARI

Hüsnü PULLUKÇU

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye
Ege Üniversitesi Aşı Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi (EGE-AGEM), İzmir, Türkiye

Aşı çalışmaları son dönemde en ilgi çeken konuların başında gelmektedir. Bir aşı geliştirilmesi oldukça bilgi, deneyim ve teknoloji gerektirmektedir. Elde edilen bir aşının klinik yararı da çok zorlu bir süreç ile belirlenebilmektedir. Bilindiği üzere dört adet faz çalışmaları ve post marketing çalışmalar ile durum netleşmektedir.

Faz 1 çalışmaları zorluk derecesi en yüksek olan çalışmalardır. Sağlıklı gönüllüler yirmi dört saat gözlem altında tutulabilecek bir merkezde sadece bu işle görevli sağlık personeli ve çalışma ekibi ile takip edilmelidirler. İzin aşamaları zor, kabulden sonraki aşamaları da tecrübe gerektiren çalışmalardır. Az sayıda merkezde bu çalışmalar yapılabilir.

Faz 2 çalışmalar, faz 1 de ciddi yan etki olaylarının bulunmadığı ve etkinliğin iyi olduğu gösterilen çalışmaların devamı niteliğindedir. Burada ilgili aşıya gereksinim duyan (endikasyonu olan) hastalar gönüllü olarak alınmaktadır. Hasta sayısı faz 1'e göre daha yüksektir. Yine farmakokinetik ve farmakodinamik çalışmalar, mikrobiyolojik yöntemler için kan örnekleri alınmaktadır. Gerekli diğer örnekler için de donanımlı bir çalışma ekibi gereklidir. Alınan örneklerin ilk işlemde geçirilme aşamasında santrifüj, soğutmalı santrifüj, buz dolabı, eksi 20 derece ve eksi 80 derece derin dondurucular, mikropipetler vb. gibi birçok alete ihtiyaç olabilir. Bunlar için de yine donanımlı bir laboratuvar olmalıdır.

Faz 3 çalışmalar nispeten diğerlerine göre daha kolaydır. Daha fazla gönüllü hasta sayısı yapılmaktadır. Ancak Faz 2'dekine benzer bir donanım gerektirir.

Faz 4 çalışmalar ise ilaca/aşıya ruhsat verildikten sonra daha nadir yan etkilerin ve klinik yaralanmanın yüksek miktarda hasta sayısı ile değerlendirilmesine olanak veren çalışmalardır.

Tüm çalışmalarda deneyimli araştırma ekibi çok önem taşımaktadır. İyi klinik uygulamalar, iyi laboratuvar uygulamaları vb. gerekli sertifikasyon programlarını tamamlamış, birbiriyle uyumlu ekip elemanları uygun ve güvenli veri toplanmasını sağlayacaktır. Hekim, hemşire, laboratuvar teknisyeni, veri giriş elemanı gibi birçok farklı uzmanlık gerektiren araştırma ekipleri ile ülkemizde çok miktarda aşı/ilaç çalışmaları yapılabilir.

DK26: AR-GE VE KLİNİK ARAŞTIRMALARIN ÜLKE İÇİN ÖNEMİ

Emel TETİK

Sanofi Klinik Araştırmalar Birimi (Türkiye ve Orta Doğu Ülkeleri)

Pandemi sürecinde bir kez daha gördük ki, insan sağlığını daha iyi noktalara taşımak, yaşamı güçlendirmek için yeni ilaçlara, yeni aşılar her zaman ihtiyaç duyacağız. Geride bıraktığımız bu zorlu 2,5 yılda, klinik araştırmacılar son derece başarılı bir sınav verdi. Klinik deneyler sayesinde, dünya çapında milyonlarca dozda hayat kurtaran aşı geliştirildi ve uygulandı. Bu noktadan yola çıkarak, yeni biyokimyasal ve farmakolojik etki mekanizmalarına sahip alternatif ilaçlar geliştirmek, bilinen ilaçların daha etkin ve daha emniyetli benzerlerini geliştirmek ve henüz tedavi olanağı olmayan ya da çok kısıtlı olan hastalıklar için yeni ilaçlar geliştirmek çok önemli. İşte tüm bunları yapabilmemizin bir ön koşulu ise klinik araştırmalar.

Klinik araştırmaların yüzde 80'i gelişmiş ülkelerde yapılıyor ve klinik araştırmalarda üniversiteler, hekimler-bilim insanları ve gönüllüler gibi ülke seçim kriterleri söz konusu. Dahası dünya ile uyumlu lokal düzenlemeler, uygun gönüllü potansiyeli, öngörülebilir onay sürelerine uyum, altyapısı yeterli hastane ve deneyimli araştırmacılar ve yetişmiş insan kaynağı da gerekiyor. Ve ekosistem klinik araştırma sayısı ve bu araştırmaların başarısı arttıkça daha da gelişiyor.

Klinik Araştırmalar ülkemiz için önemli çünkü Türkiye'deki bilimsel gelişimin artırılmasında büyük rol oynuyor. Klinik araştırmaya konu olan tedavi seçeneğine gönüllüler ve araştırmacı hekimler erken erişim imkânı buluyor. Görüyoruz ki, bu alanda başarılı olan ülkeler rekabetçi bir ortamda uluslararası düzeyde bilinirliği artıyor, buna araştırmaya katılan araştırmacı ve üniversiteler de dahil. Araştırmacılar da aslında sağlık alanında bilime, bilgi üretimine katkıda bulunmuş oluyor. Ülkemize bu şekilde Ar-Ge yatırımı olarak kabul edilen para girişi de sağlanıyor.

Farklı klinikler bir arada çalışma fırsatı buluyorlar ve çalışma metodolojisi böylece yaygınlaşıyor. Araştırma merkezlerine altyapı yatırımı yapılıyor. Araştırma merkezlerinde saha görevlisi ve hemşire gibi elemanlar kazandırılarak istihdam artırılıyor.

DK27: ÜLKEMİZDE BEŞERİ AŞI ÜRETİM ÇALIŞMALARI

Orhan Mutlu TOPAL

Emre Ecza İlaç Aşı Sanayi ve Ticaret Danışmanlık Ltd. Şti., Ankara, Türkiye

Ülkemizde yürütülen ve gerçekleştirilen beşeri aşı üretim çalışmaları hakkında bilgiler derlenmiştir. Halk Sağlığı açısından önemi dünyaca kabul görmüş beşeri aşuların stratejik bir yaklaşım ile ülkemizde üretilmesi gereklidir.

Anahtar Kelimeler: beşeri aşular, üretim

DK28: MAYA VE BAKTERİYEL EKSPRESYON SİSTEMLERİNDE ÜRÜN GELİŞTİRME: AŞI PERSPEKTİFİ

Nilgün ÖZDURAL

Atabay Kimya Sanayi Ticaret A.Ş., 41455 Gebze, Kocaeli

GMP onaylı, mikrobiyal üretime uygun ve devamlılığı olan bir tesis altyapısı ile birlikte, eğitilmiş ve deneyimli bir ekibe sahip olan Atabay'ın biyoteknoloji yolculuğu 2016 yılında ilk Milli Biyobenzer Ranibizumab projesi ile başlamıştır. Daha sonra, Temmuz 2021 de P. pastoris maya ekspresyon sisteminde rekombinant DNA teknolojisi ile SARS-CoV2 spike proteininin RBD bölgesinin COVID-19 hastalığına karşı aşı olarak kullanılması amacıyla üretilmesi için Teknoloji Transferi fazına geçilmiştir. Bu teknoloji transferinde; Atabay Biyoteknoloji, IBC ve TÜBİTAK MAM-Atabay ortaklığında yürütülen ve "Prof. Dr. Mehmet İNAN" tarafından geliştirilip prelinik denemeleri başarı ile tamamlanmış olan "SARS-CoV2 Spike Reseptör Bağlanma Bölgesi (RBD) Delta Plus Varyantı" aşısının, Atabay Biyoteknoloji bünyesinde üretimi hedeflenmiştir.

Atabay Biyoteknoloji'de iyi yapılandırılmış bir platformda "Aşı Platformu Teknolojisi" başarı ile uygulanarak, söz konusu teknoloji transferi bünyesinde, iki batch üretim gerçekleştirilmiştir. Rekombinant DNA teknolojisine dayalı bu üretimin sonucunda, yüksek verim ve saflıkta 250.000 doz COVID-19 aşı proteini (10 µg RBD protein/doz) elde edilmiştir.

Yalnızca sekans bilgisine dayanılarak gelecek nesil aşılarda üretilmesinin olası hale gelmesi, aşı üretiminin ulaştığı çok önemli bir aşamadır. Bir aşı için tasarlanıp lisanslandıktan sonra, aynı platformu kullanarak daha kısa sürede başka aşılarda geliştirilmesinde büyük kolaylıklar sağlayan ve "Aşı Platformu" denilen prosesler giderek öne çıkmaktadır. Aşı Platformunun tam olarak ne olduğu hakkında farklı görüşler olmakla beraber, bu şemsiye altındaki tüm prosesler, gelecekteki salgınlara hazır olmak yanında, nispeten kanıksanmış hastalıklar için olduğu gibi, biyoterörizm bağlantılı salgınlara karşı hızlı bir şekilde aşı geliştirebilme fırsatı sağlamaktadır. Aşı üretimiyle tüm bu olumsuzluklara hızlı bir şekilde cevap verilebilmesi için, ülke yönetimlerinin, Aşı Platformlarının kurulup geliştirilmesine, desteklenmesine, yatırımcıların mali risklerini en az düzeye indirecek tedbirlere öncelikle yaklaşması kritik derecede öneme sahiptir.

DK29: DÜNYANIN ! AŞISINI KİM ÜRETTİ?

Hasan ZEYTİN

Nobel İlaç San. ve Tic. A.Ş.

Dünyamızın ortak olarak etkilendiği Covid-19 pandemisi sağlık, ekonomi, sosyal alanlarda yaptığı değişikliklerle tarih sayfasında yerini puntolarla yazdırdı. 6,5 milyon insanı kaybettiğimiz bu hastalığı yenmek için dünya tarihinde görülmemiş bir hızla yapılan Ar-Ge çalışmalarının, hızlı üretim ve ruhsatlandırma süreçleri ile birleşmesi ile 2021 yılının ağustos ayından beri dünya nüfusunun %'68'i en az bir doz aşı ile aşılandı. Geçirdiğimiz enfeksiyonların, vurulan 12.87 milyar doz aşının ve bilemediğimiz diğer sebeplerin etkisi ile Ekim 2022 itibarı ile Covid- 19 'un üreme hızı, (bulaşmasının veya her vaka tarafından üretilen yeni enfeksiyonların sayısı) 1 in altına düştü.

Tarihin en hızlı aşılama dönemi, aynı zamanda en hızlı ve büyük çaplı ilaç/aşı üretiminin nasıl yapılabileceğini bize gösterdi. Satılan milyarlarca aşının çok büyük bir kısmı Biyoteknolojik aşı ekosisteminin yerleşmiş olduğu yaklaşık 15 ülkede yapıldı.

Ülkemizde çok hızlı bir süre içinde geliştirilen 10 un üzerinde aşı Ar-Ge projesi biyoteknolojik ilaç/ aşı üretim ve insan altyapısının olmaması nedeniyle ürüne dönüşmekte yetersiz kalmamıza neden oldu. Biyoteknolojik ekosistemini henüz olması gerektiği gibi kuramadığımız için, bütün aşı ihtiyacımızı ithal ederek 1,5 milyar doların üstünde bir ödemeyi yurt dışına gönderdik.

Dünya halkının ödediği 60 milyar dolar (2021) ile sağlık sistemleri için çok büyük bir yük olan Covid-19 aşılarının üretiminde yaşanan gelişmiş ülke ve gelişmekte olan ülkeler arasındaki farkı, biyoteknolojik ilaç, aşı üretiminin ne derece stratejik olduğunu gözler önüne serdi.

Bu tür pandemilerin önümüzdeki yıllarda tekrar oluşma riskinin gittikçe artacağı düşünülürse, ilaç ve aşı üretiminde dış ülkelere bağımlı olmamanın ne derece önemli olduğu açıktır.

Bu nedenle ülkemizin biyoteknolojik ilaç/aşı üretim kapasitesine tekrar ve acil olarak bakılması aşı ve ilaçta hammadde üretim tesislerinin sayı ve kapasite artırımı konusunda acilen çok daha fazla teşvik edici çalışmalar yapmamız hepimizin ortak görevi olmalıdır.

DK30: AŞI ÜRETİMİ İÇİN DOĞRU HÜCRE- DOĞRU HÜCRE İÇİN DOĞRU BESİYERİ

Cem ERDEM

Florabio A.Ş.

Aşı Üretimi için seçilecek olan hücre, sadece tipine göre değil, aynı zamanda performansına, verimine, endüstriyel kullanımına uygunluğuna ve hatta lisans süreçlerine göre seçilmeli, bu seçim süreci Ar-Ge çalışmasının ilk aşamasını oluşturmalıdır. Zira seçimi doğru yapılmayan hücre hattı, aşı Geliştirme çalışmasının baştan başarısız olmasındaki önemli etkidir.

Seçilecek hücrenin verimli çalışmasını sağlayacak olan en önemli etken ise o hücrenin nasıl beslendiğidir. Hücre özel olan veya en uyumlu besiyerinin kullanımı yüksek verimli aşı üretiminin en başlıca kriterlerindedir.

DK31: VETERİNER AŞI GELİŞTİRMEDE ATA FEN DENEYİMİ

Mestan ÖZYER

Atafen Aşı Üretim A.Ş., İzmir, Türkiye

Kamuda aşı üreten Enstitüler; İstanbul Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü ve Ankara Etlik Veteriner Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü ile Ankara Şap Enstitüleridir. GMP uygulama zorunluluğundan sonra Adana, Samsun ve Konya Veteriner Kontrol Enstitüsü aşı üretim faaliyetlerini durdurmuşlardır. Manisa Tavuk Aşılı Üretim Enstitüsü ise 2004 yılında Bakanlık tarafından kapatılmıştır. İzmir-Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsünde Ulusal aşı kontrol laboratuvarı olarak çalışmaktadır. Kamu Enstitülerinde halen stratejik öneme sahip 8 farklı aşı üretimi yapılmaktadır.

Özel sektörde Veteriner aşı üretimi yapan firmalar; Vetal A.Ş. Adıyaman'da (1991), Dollvet (2003) Şanlıurfa'da, Akuakim (2006) Manisa'da, Atafen (2007) İzmir'de aşı üretimi yapmaktadır. Akuakim (Manisa) ise sadece balık otovaksin aşı üretimi yapmaktadır. Atafen, Dollvet ve Vetal firmaları tarafından GMP şartlarında viral, bakteriyel, paraziter ve mantar aşılı olmak üzere yaklaşık 65 adet ruhsatlı aşı ve serum üretimi yapılmaktadır.

Veteriner Biyolojik ürünler üretimi, ruhsatlanması, başvuru dosyası hazırlanması, GMP uygulamaları, ihracat/ithalat, satış ve saha izleme gibi tüm uygulamalar Gıda ve Kontrol genel Müdürlüğü, Veteriner Sağlık Ürünleri ve Halk Sağlığı Daire Başkanlığı tarafından yürütülmektedir.

Atafen firması 2005 yılında İzmir'de, Egevet (1988) firmasının kardeş firması olarak kuruldu. Egevet/Atafen 30 yıl süresince (1990-2020) aşı ve ilaç ithal eden, veteriner hizmetleri yürüten firmalar olarak faaliyet gösterdi. Atafen A.Ş.,2008 yılında Aşı üretim işletme iznini aldı ve 2010 yılında ilk aşılı satışa sundu. 2016 yılında GMP belgesini aldı ve halen GMP şartlarında üretime devam etmektedir. Bakanlıktan ruhsatlı 10 farklı inaktif bakteriyel aşı ve 3 serum olmak üzere toplam 13 biyolojik ürün pazarlama iznine e sahiptir. Atafen ruhsatlı ürünlerinde kullanılan suşlar Cl.perfringens B-C-D, Cl.novyi tip A, Cl.chauvoei ,Cl. Septicum, Cl.haemolyticum, Cl. sordelli, Escherichia coli, P.multocida, M.haemolytica tip 1 ve 2, C.pseudotuberculosis, S.aureus anaerobiosis, S. dublin ve S. Typhimurium, Trueperella pyogenes, S. Dublin, S. Typhimurium suşlarıdır. Atafen A.Ş., 7-9 ve 10 farklı suş içeren büyük kombinasyonlu aşılı üretimini gerçekleştiren bir aşı üretim firmasıdır.

Atafen aşı geliştirme amaçlı çok sayıda TUBİTAK, TAGEM ve KOSGEB destekli projeler yürüterek sonuçlandırmıştır. Halen 3 ayrı aşı geliştirme projesi yürütmektedir.

1. TUBİTAK 1007 KAMAG projesi: "Sığırların Mastitis Enfeksiyonlarına Karşı Ulusal Suşlar ile Kombine Aşı Üretimi"
2. TUBİTAK 1501 TEYDEP projesi: "Sığırların Bakteriyel Pnömoni Etkenlerine Karşı Kombine İnaktif Aşı Üretimi"
3. KOSGEB projesi: Clostridial Enfeksiyonlara Karşı Cl. Perfringens Tip A İçeren Kombine Aşı Geliştirilmesi

TUBİTAK tarafından desteklenen Mastitis aşısı, Tarım ve Orman Bakanlığı, Gıda Kontrol Genel Müdürlüğü'nün müşteri kurum olarak önerdiği, esas olarak Türkiye'den izole edilen lokal suşlar ile hazırlanacak geniş kombinasyonlu inaktif aşının hazırlanmasını hedeflemektedir. Her 3 proje ile ülkemizde üretilmeyen ve ithalat yoluyla karşılanan aşılı yerli imkanlarla üretilmesi ve dışa bağımlılığın azaltılması hedeflenmiştir.

DK32: AŞI GELİŞTİRME ÇALIŞMALARINDA GLP KAPSAMINDA GERÇEKLEŞTİRİLEN PREKLİNİK TESTLER

Begüm BUĞDAYCI

Kobay A.Ş.

GLP (Good Laboratory Practice) ülkemizde İyi Laboratuvar Uygulamaları (İLU) olarak adlandırılmaktadır. Ülkemizde İLU faaliyetleri 09.03.2010 tarihli ve 27516 sayılı “İyi Laboratuvar Uygulamaları Prensipleri, Test Birimlerinin Uyumlaştırılması, İyi Laboratuvar Uygulamalarının Ve Çalışmaların Denetlenmesi Hakkında Yönetmelik” esaslarına göre kozmetik ürünler, pestisitler, beşeri ve veteriner tıbbi ürünleri, gıda katkı maddeleri, yem katkı maddeleri ve sanayi kimyasalları ve müstahzarları ile bunların içinde yer alan doğal ya da sentetik kimyasallar, biyolojik kökenli madde veya organizmaların fiziko-kimyasal, toksikolojik ve ekotoksikolojik testleri ile ilgili çalışmalara yönelik olarak gerçekleştirilmektedir.

İyi Laboratuvar Uygulamaları, klinik çalışmalar dışındaki sağlık ve çevre güvenliği çalışmalarının planlanması, yapılması, izlenmesi, kaydedilmesi, arşivlenmesi ve rapor edilmesi şartları ve yönetim usulleri ile ilgili bir kalite yönetim sistemidir. Bu maddelerin test edilmesinin amacı, bunların insan sağlığı ve/veya çevre açısından güvenliğine ilişkin özellikleri hakkında veri elde etmektir. İLU ilkeleri kapsamındaki klinik dışı sağlık ve çevre güvenliği çalışmaları, laboratuvar şartlarında, seralarda ve arazide yürütülen çalışmaları kapsamaktadır.

Klinik öncesi gerçekleştirilen bu çalışmalardan biri olan aşı geliştirme faaliyetleri fiziko-kimyasal, toksikolojik, biyoetkinlik ve biyogüvenlik testlerdir. Dünyada yasal zorunluluk olmasının yanı sıra veri bütünlüğü ve güvenliği sağlaması da bu testlerin İLU kapsamında gerçekleştirilmesinin temel nedenidir. Ülkemizde de aşı çalışmalarında klinik öncesi gerçekleştirilen testlerin sonuçları ilgili üretici tarafından ruhsatlandırma öncesi Sağlık Bakanlığı'na sunulmakta ve onay alınması sonrasında klinik çalışmalara geçilebilmektedir. Bu sebeple bu testlerin faz aşamalarına geçebilme yolunda onay alabilmesi için Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı gibi yetkin OECD GLP sertifikasına sahip bir laboratuvarda yapılması gerekliliği bulunmaktadır. Ülkemizde geçtiğimiz yıllarda Covid aşı geliştirme çalışmalarında birçok aşı ve ilacın GLP şartlarında prekllinik testleri Kobay A.Ş. laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Aşı, İLU, GLP, Kobay

DK33: BİYOTEKNOLOJİK ÜRÜN ÜRETİMİNDEKİ BİLEŞENLERİN FİNAL ÜRÜN KALİTESİNE ETKİSİ - EXTRACTABLE & LEACHABLES TEST

Ali FIRAT

Sartorius-Stedim Biotech
Sartonet Seperasyon Teknolojileri A.Ş. İstanbul, Türkiye

Validasyonun bir önemli basamağı da üretim prosesinden final ürüne herhangi bir maddenin geçip geçmediği, proses bileşeni kaynaklı bir kalıntı meydana gelip gelmediğinin belirlenmesidir. Bugün ilaç ve biyoteknoloji alanında kullanılmakta olan birçok polimerin kendi bünyesinden kalıntı bırakma riski bulunmakta, birçok polimer bileşeni olan filtreler de aynı riskler dâhilinde değerlendirilmektedir. Filtreyi meydana getiren, O-ring, conta, üst ve alt bağlantı adaptörleri, dış iskelet vb. bileşenler birçok farklı kimyasaldan meydana gelmekte ve bu kimyasalların üretim koşullarında ürüne geçme ihtimali bulunmaktadır.

Literatürde Extractable ve Leachable terimleri birbirine çok yakın anlamlarda kullanılsa da bunlar birbirinden farklı koşulları ifade eden terimlerdir. Extractables: Kullanılacak olan herhangi bir materyalden abartılmış koşullar altında (yüksek sıcaklık, yüksek basınç, kuvvetli solventler vb.) serbest kalma ihtimali bulunan maddelerdir. Leachables ise üretim koşulları altında (süre, sıcaklık, pH, sterilizasyon, durulama vb.) ürünün temas ettiği materyalden serbest kalarak farmasötik formüle karışabilecek maddeleri ifade eder.

Standartlardan yapılmış olan alıntılarda da görüldüğü üzere validasyonlardaki en önemli basamaklardan birini oluşturan Extractables ve Leachables testleri üretim koşullarında en kötü senaryoyu temsil etmeli ve proseste kullanılan bileşenler ile aynı yapıdaki bir test bileşeni ile gerçekleştirilmelidir. Üretim koşulları altında yapılan ekstraksiyon işlemi sonrasında, tespit edilen (eğer varsa) safsızlıklar en az iki analitik test metodu ile tanımlanmalıdır.

DK34: KUDUZ HASTALIĞINA KARŞI HÜCRE KÜLTÜRÜ TEMELLİ YERLİ AŞI GELİŞTİRİLMESİ: GÜVENLİK TESTLERİ VE İMMUNOJENİTE SONUÇLARI

Kadir YEŞİLBAĞ, Mehmet Kadir YANILMAZ, Abidin Ercan YONUCU, Mehmet BİLEN, Mehmet YALVAÇ, Murat DÖNEN, Fatma ERGİN, Doğu ULUTAŞ, Nagehan KAN

Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı, Bursa
Vetal Hayvan Sağlığı Ürünleri A.Ş., Adıyaman

Kuduz hastalığı, geçmiş 4300 yıl öncesine uzanan ölümcül seyirli bir viral zoonozdur. Nadir iyileşme vakaları bildirilmiş olsa da, klinik bulguların görüldüğü insanlarda letalite %100 olarak kabul edilir. Aşı uygulamasıyla %100 korunma sağlanabilmesine karşın her yıl yaklaşık 59.000 insan kuduz nedeniyle ölmektedir. Bu vakaların tamamı hayvan temasıyla ilişkili olup ağırlıklı bir bölümü (%99) köpek kaynaklıdır. Dolayısıyla insan kuduz vakalarının önlenmesinde en önemli uygulama köpeklerin aşılmasıdır. Günümüzde kullanılan kuduz aşları genel olarak inaktif hücre kültürü aşlarını ve kısmen rekombinant aşları kapsamaktadır. Türkiye’de halen kuduz aşısı üretimi yapılmamakta, insan ve hayvan sağlığında kullanılan kuduz aşları yurt dışından temin edilmektedir.

Kuduz aşısının yerli imkanlarla üretilmesi amacıyla başlattığımız projede kedi, köpek ve çiftlik hayvanlarında kullanılabilecek niteliklere sahip bir ürün çıkarılması amaçlanmıştır. BSL-3 koşullarında Rabies virüs- Pasteur (PV) suşu kullanılarak yapılan çalışmalar BHK-21 hücre kültürlerinde yürütüldü. Virus çoğalma ve inaktivasyon kinetikleri belirlendikten sonra, elde edilen viruslu materyalde (SVH) BEİ inaktivasyonu uygulandı. İnaktivasyon kontrol çalışmaları in vitro ve in vivo testlerle gerçekleştirildi. Alüminyum hidroksit adjuvantıyla hazırlanan aşı formülasyonu 3 seri olarak üretildi ve final ürün testleri uygulandı. Fare ve kobaylardaki güvenlik testleri yanında NIH testi uygulanarak potens tespiti gerçekleştirildi. Bu aşamalardan başarıyla geçen aşı serilerinde raf ömrü çalışmaları başlatıldı. Bugüne kadar elde edilen veriler aşının raf ömrünün 1 yıldan uzun olduğunu göstermektedir. Hedef hayvan türlerinden sığır, koyun ve atlarda zararsızlık (güvenlik) ve immunojenite testleri gerçekleştirildi. İmmunojenitenin gösterimi için FAVN testi ve blocking ELISA ile elde edilen serolojik yanıt düzeyi temel alındı. Geliştirilen aşının tüm bu türlerde aşırı doz uygulaması dâhil olmak üzere güvenli olduğu ve eşik değerinin üzerinde immunojenik yanıt oluşturduğu belirlendi. Köpeklerdeki zararsızlık testleri de başarıyla tamamlandıkça, immunojenite tespitine yönelik analizler devam etmektedir. Bu çalışmalara paralel olarak insan kuduz aşısına yönelik prelinik çalışmaları içeren ayrı bir proje daha başlatıldı. Yeni başlatılan proje kapsamında Vero hücre hattında üretilen ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) standartlarına sahip olan bir prototip aşı geliştirilmesi hedeflenmektedir. *(Bu proje TÜBİTAK-TEYDEB tarafından desteklenmektedir)*

Anahtar kelimeler: Kuduz, Aşı geliştirme, Yerli aşı, Güvenlik testi, İmmunojenite

DK35: mRNA AŞILARININ ETKİNLİĞİNİN ARTTIRILMASI: SENTETİK MRNA TASARIMI

Hüseyin CAN

Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

mRNA aşı platformu, hedeflenen antijeni kodlayabilen *in vitro* olarak üretilmiş mRNA'ların kullanıldığı rekombinant aşı geliştirme yaklaşımlarından biridir. Sentetik bir mRNA yapısı incelendiğinde dört önemli bölümden oluştuğu görülmektedir. Bu bölümler mRNA'nın 5' ucundan 3' ucuna doğru 5' başlık, açık okuma çerçevesinin her iki yanında bulunan UTR'lar (translasyona uğramayan bölge), ilgili antijeni kodlayacak olan açık okuma çerçevesi (ORF) ve poly A kuyruktan oluşmaktadır. mRNA aşı teknolojisi çok uzun yıllar önce geliştirilmiş olmasına rağmen hücre içerisindeki kararlılığının düşük olması diğer bir ifadeyle hızlı bir şekilde parçalanması sebebiyle ve yabancı olarak tanınması kaynaklı doğal immün yanıtın aktifleşmesi sonucunda protein sentezinin durdurulması gibi olumsuzluklar nedeniyle yeteri kadar ilgi görmemiştir. Bununla birlikte günümüzde mRNA sentezi sırasında modifiye edilmiş 5' başlık kullanımı, 5' UTR olarak dahili ribozom giriş bölgesi yanında KOZAK dizileri içeren Encephalomyocarditis virus (EMCV) UTR sekanslarının kullanımı, 3' UTR olarak primidin bazlarından zengin α ya da β globin mRNA UTR sekanslarının kullanımı, 64-150 nükleotit uzunluğunda bir poly A kuyruk eklenmesi gibi modifikasyonlar hücre içerisine verilen mRNA'ları daha stabil hale getirerek protein sentezi seviyelerini artırmıştır. Dahası, mRNA sentezi sırasında modifiye edilmiş nükleosidlerin kullanımı (örnek olarak; üridin yerine pseudoüridin kullanımı gibi) patern tanıma reseptörlerinin aktivasyonunu düşürerek protein sentezini dramatik olarak artırmıştır. Sonuç olarak, geliştirilmiş olan bu yeniliklerle birlikte, *in vitro* mRNA üretiminin nispeten basit ve hızlı olması, mRNA'ların bulaşıcı veya konak genomuna entegrasyon olasılığının olmaması ve hücre içine verildikten sonra belirli bir süre içerisinde parçalanması gibi özellikleri yanında insan için kullanım onayı almış olması mRNA aşı platformlarının çeşitli kanser tiplerine ve patojenlere karşı aşı geliştirilmesi için daha fazla kullanılacağını işaret etmektedir.

Kaynakça

- Kwon H, Kim M, Seo Y, Moon YS, Lee HJ, Lee K, Lee H. Emergence of synthetic mRNA: In vitro synthesis of mRNA and its applications in regenerative medicine. *Biomaterials*. 2018 Feb;156:172-193. doi: 10.1016/j.biomaterials.2017.11.034.
- Pascolo S. Synthetic Messenger RNA-Based Vaccines: from Scorn to Hype. *Viruses*. 2021 Feb 9;13(2):270. doi: 10.3390/v13020270.
- Pardi N, Hogan MJ, Porter FW, Weissman D. mRNA vaccines - a new era in vaccinology. *Nat Rev Drug Discov*. 2018 Apr;17(4):261-279. doi: 10.1038/nrd.2017.243.

DK36: RATIONAL DESIGN OF DNA ORIGAMI NANOPARTICLE-BASED ANTIGEN PRESENTATION PLATFORM AGAINST EMERGING INFECTIOUS DISEASES

Esra OKTAY, Farhang ALEM, Keziah FERNANDEZ, Aarthi NARAYANAN, Remi VENEZIANO

College of Engineering and Computing/Department of Bioengineering/Institute of Advanced
Biomedical Research, George Mason University, USA
College of Science/Center for Infectious Disease Research (CIDR), George Mason University, USA

Vaccines are powerful components of our arsenal to reduce the potential risks of being infected by pathogens and/or mitigate the severe effects of the infectious diseases. Particularly, the coronavirus disease 19 (COVID-19) pandemic has caused the death of numerous people, which obliged to take safe and effective measures immediately against emerging infectious pathogens. Here we designed a vaccine platform using DNA origami nanoparticles (DNA NPs) that are assembled using long single-stranded DNA molecule in many different configurations and size. Also, the nucleobase array along a DNA molecule contributes to the addressability and precisely control the spatial organization and stoichiometry of molecules displayed on DNA NP. Particularly, our strategy involves the arrangement and presentation of antigens and adjuvants together on the same NP in pentagonal bipyramid configuration with two faces. One face included 10-overhang for CpG adjuvants, and the other face included 10-overhang for conjugation of RBD antigens. The total coverage of NP with antigens was estimated about more than 80%. NP vaccine was found to be about 40% more stable than bare NP in physiological conditions including serum over 24-hour incubation. Also, RBD was still accessible after conjugation to NP and showed higher binding affinity to ACE2 receptors in trimeric form on NP. Based on all in vitro characterizations, we immunized mice with DNA NP vaccine via injecting two doses in three-week interval. Against live SARS-CoV-2 infection, mice immunized with RBD (tri) + CpG NP showed high survival rate throughout 15-day monitoring and durable neutralizing antibody response in two-month observation.

DK37: ERİŞKİN BAĞIŞIKLAMA POLİKLİNİKLERİ GEREKLİ Mİ?

Meltem TAŞBAKAN

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Bağışıklama, enfeksiyon hastalıklarından korunmada, ölüm ve sekellerin azaltılmasında en etkili yöntemlerden birisidir. Bağışıklama da en önemli hedefimiz hastalıkların geçirilmeden önlenmesi, mortalite ve morbiditenin azaltılması, sağlık harcamalarının azaltılması olarak sıralanabilir. Bağışıklama sadece bebek ve çocukların değil tüm yaşlardaki insanların ihtiyacıdır. **“Yaşam Boyu Bağışıklama”** ile tüm nüfusun aşılama hedeflenmektedir. İleri yaş nüfusun giderek artmasıyla, kronik hastalıklar ve kanserlerde artışın olması, immünsüprese hasta oranlarının artması, organ nakli, HIV vs gibi durumlarda erişkin bağışıklaması ayrıca önem kazanmıştır.

Erişkin aşılama, çocukluk döneminde aşılama takvimi yarım kalan veya aşının pekiştirilmesi amacıyla ek aşılamalara ihtiyacı olanlar, gebeler, yaşlılar, kronik hastalığı olanlar, bağışıklık yetmezliği bulunanlar ve diğer risk gruplarındaki kişilerin enfeksiyon hastalıklarından korunması doğrultusunda aşılamayı kapsamaktadır. Bu aşılar birinci basamak sağlık kuruluşlarında yapılabileceği gibi 2-3 basamak hastanelerde erişkin bağışıklama polikliniklerinde de yapılabilmektedir.

Erişkin bağışıklama poliklinikleri, aşı ile önlenbilir enfeksiyonlara karşı aşı farkındalığı ve bilincini oluşturmak, daha çok bireyi aşı ile koruyarak toplum ve halk sağlığına katkıda bulunmak amaçlanmaktadır. Hastanelerde rahat ulaşılabilir alanlarda kendine ait alt yapısı ve malzemesi olan birimler tercih edilmelidir. Fiziki şartlar ve mimari aşı polikliniklerinde uygun olmalıdır.

Sağlık kurumlarında erişkin bağışıklama polikliniğinin olması sayesinde risk grubundaki hastalar en kısa ve hızlı şekilde aşılama sağlanmış olur. Risk grubundaki hastaların aşılama durumu takip ve kontrolleri sağlanmış olur. Pandemi döneminde olduğu gibi, acil aşılama yapılması gereken durumlarda, hazır alt yapı sağlanmış olur.

Erişkin bağışıklama polikliniklerinde hekim ve aşı hemşiresine önemli roller düşmektedir. Aşı polikliniklerinde bulunan hekimlerin görevi, sadece aşılama değil hastanın uygulanabilecek tüm aşılar açısından risk durumunun belirlenmesi, aşı geçmişi sorgulanması, aşılarının planlanması ve aşı karnesinin oluşturulmasını kapsamaktadır.

Bağışıklama polikliniğinde çalışan hemşire ise aşılamaya yararlarını bilerek, topluma eğitim vermeli, aşı uygulama endikasyon ve kontrendikasyonlarına hakim olmalı, düzenli aşı kayıtlarını tutmalı ve aşı sonrası gelişebilecek reaksiyonlara hakim olmalıdır.

Kurumda erişkin aşı polikliniği olmasının avantajları: Kurumda tedavi ve takibi yapılan risk grubundaki hastalara, en kısa ve en güvenilir aşılama desteği sağlanmış olur. Risk grubundaki hastaların aşılama durumu takip ve kontrolleri sağlanmış olur. Enfeksiyon dışı uzmanlıkların aşı farkındalık ve bilincinin artmasına katkı sağlanır. Kurumda aşılama hizmeti de veriliyor olması, hasta kurum algısına pozitif katkı sağlar. Pandemi döneminde olduğu gibi, acil aşılama yapılması gereken durumlarda, hazır alt yapı sağlanmış olur.

Kurumda aşı polikliniğini farkındalığı ve bilinci oluşturmak için; sağlık kurumunda aşı kayıtları düzenli tutulmalıdır. Aşı olanlara aşı kartı verilmelidir. Kaçırılmış aşı fırsatları engellenmeye çalışılmalıdır.

DK38: AŞI ARAŞTIRMA VE GELİŞTİRME'DE İMMUNOJENİSİTE VE ANALİZ

Aysu DEĞİRMENCI DÖŞKAYA

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye
Ege Üniversitesi Aşı Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi (EGE-AGEM, İzmir, Türkiye
Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Aşı Çalışmaları Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Aşı ile uyarılmak üstenen immün yanıt doğalına benzer olması gerekliliği aşı araştırma geliştirme çalışmaları önünde en önemli bariyerdir. Aşının uyardığı immün yanıt yani immunojenisite aşının prelinik ve klinik çalışmalarda çeşitli yöntemler ile araştırılmaktadır. Aşının geliştirdiği immün yanıt doğalına benzer iken aynı zamanda koruyucu da olması beklenmektedir. Bu sebeple aşı çalışmalarının mutlaka challenging çalışmaları ile desteklenmesi önem kazanmaktadır. Aşı araştırma ve geliştirme hattı üzerinde tasarımılanan ve oluşturulan bir aşının immunojenisitesi in vitro ortamda değerlendirilebileceği gibi daha sık olarak in vivo modeller üzerinde test edilmektedir. Uygun hayvan modellerinin insana benzer immünolojik yanıt potansiyelinin benzer olması ise başka bir parametredir. Bu bağlamda aşı çalışmaları sırasında hedef hastalık enfeksiyöz bir ajan, kanser veya herhangi yapısal bir hastalık olması durumunda uygun hayvan modeli çok önem kazanmaktadır. Hayvan modeli belirlendikten sonra aşılama yapılması sonrası hücresel ve humoral immün yanıtın araştırılması gerekmektedir. Aşı ile uyarılan humoral immün yanıt daha çok virüslere karşı korunmada önem kazanmakta lakin hücresel immün yanıtı uyarma özelliği bulunmayan aşılarda özellikle hücre için patojenlere ve kansere karşı etkinliği azalmaktadır. Aşı çalışmalarında immün yanıtın analizinde başlıca kullanılan yaklaşımlar ELISA, Western blot, IFA, virüs nötralizasyon testi, surrogate nötralizasyon testi, sitokin ELISA, proliferasyon testi, akış sitometrisi ve ELISPOT olarak sıralanabilir. Sunumda çalışma grubumuzun Toxoplasma gondii, Her2+ meme kanseri, SARS CoV-2, Şap virüsü gibi etkenler ve hastalıklara karşı geliştirdiği aşılarda kullanılan immunojenisite testleri ve sonuçları tartışılacaktır.

SÖZLÜ BİLDİRİLER

SB1: mRNA AŞILARINDA KONTROLLÜ ANTİJEN ÜRETİMİ İÇİN SENTETİK 5' UTR TASARIMLARI

Urartu Özgür Şafak ŞEKER, **Ahmet HINÇER**, Elif DUMAN,

Bilkent Üniversitesi UNAM, Ankara, Türkiye

mRNA aşıları, Covid-19 pandemisiyle mücadelede etkin rol oynayan teknolojilerin başında gelmektedir. Dünya genelinde farklı bilim insanları tarafından geliştirilen bu aşılarda, içerdikleri antijen kodlayan bölgeler, taşıyıcı ajan tipleri ve regülasyon bölgelerindeki değişiklikler ile birbirlerinden ayrılmaktadırlar. Antijen kodlayan bölgelerde en sık tercih edilen protein, insan hücreleriyle reseptör etkileşimi sağlayan Spike proteindir. Özellikle Spike proteininin reseptöre bağlanma bölgesi (RBD) en sık mutasyon geçiren ve virüse özgü özelliklerin değişimine yol açan bölge olduğu için bu mutasyonlar ile yeni varyantlar ortaya çıkmakta, bu sebeple geliştirilen mRNA aşılarının belirli bir süre sonra geçerliliklerini kaybedebilmektedirler. Çalışmamızda kendi geliştirdiğimiz aşı adayını bu tekellikten ve sınırlamalardan kurtarmak adına Sars-CoV-2 virüsünün Nücleocapsid (N) ve RBD bölgelerinin kombinasyonunu antijen olarak kullanmak hedeflenmiştir. Bu sayede vücutta oluşturulan farklı çeşit antikoların (anti-N ve anti-RBD) oluşabilecek muhtemel varyantların immün sistemden kaçmasını önleyeceği öngörülmektedir. RBD, N ve N-RBD kombinasyonunun kodlama bölgelerini kullanarak aşı adayları oluşturulmuş, kendi geliştirdiğimiz lipid nanoparçacıklarının yanı sıra ticari ajanlar ile hücre içi analizler tamamlanmıştır. İmmün etkileri ile alakalı çalışmalar sürmektedir. Ayrıca regülasyon bölgesi olarak kullanılan 5' UTR üzerine de çalışarak:

1-Makine öğrenmesi ile daha yüksek üretim kapasitesi sunan UTRlar,

2-Doğanın rastgeleselliğini kullanarak doku tipine spesifikite sağlayabilecek UTRlar geliştirilmektedir. Özellikle üst solunum yolu virüslerine karşı üretilen aşılar ve kanser aşılarında kullanılabilecek UTR dizaynları üzerine çalışmalar devam etmektedir.

SB2: ENGINEERED NANOPARTICLES IN VACCINE DEVELOPMENT

Nursu ERDOĞAN¹, Ayşenur PAMUKÇU¹, M.baran KARAKAPLAN¹, Aylin KORKMAZ², **Didem ŞEN KARAMAN**³, Gülşah EREL AKBABA⁴

¹Biomedical Technologies Program Graduate School of Natural and Applied Sciences, Izmir Katip Celebi University, İzmir, Türkiye

²Biomedical Engineering Program Graduate School of Natural and Applied Sciences , Izmir Katip Celebi University, İzmir, Türkiye

³Department of Biomedical Engineering Faculty of Engineering and Architecture, Izmir Katip Celebi University, İzmir, Türkiye

⁴Department of Pharmaceutical Biotechnology, Faculty of Pharmacy, Izmir Katip Celebi University, İzmir, Türkiye

Vaccination is the most effective tool in defesening against malignancies such as infectious diseases and cancer. Nevertheless, the majority of vaccines suffer from evoking appropriate immune responses, formulation stability, and the requirement of multi-dose vaccine injections to elicit immune effects. In order to overcome the mentioned failures the development of efficient vaccine formulation by careful selection of a potent antigen, efficient adjuvant, and route of delivery is direly needed. Lately, the use of engineered nanoparticle delivery systems such as liposomes, polymers, micelles, virus-like nanoparticles, and inorganic nanoparticles for the delivery of active substances either a recombinant protein or a nucleic acid that encodes the antigens¹. The engineered nanoparticles mediated vaccine development brings the need of an iterative characterization strategy for the assessment of the quality, efficacy and safety of the engineered nanoparticle systems based on the measurements of physical, chemical and stability properties, in vitro and in vivo immunogenicity and toxicity. In our ongoing studies, we have investigated the potency of mesoporous silica nanoparticles (MSNs) and liposomes attributed as the excellent vehicles for gene and drug delivery because of their ease of synthesis, surface functionalization, in vitro and in vivo biocompatibility as well as stability. In detail, liposome and MSNs as novel nanovaccine systems have been designed and extensively characterized demonstrating the effectiveness of the anchorage of antigens to their surface of the liposomes and MSNs by tuning the size, porous architecture, and the surface chemistry following the pre-clinical investigation guidelines suggested by World Health Organization. Based on our results, the development of novel engineered nanoparticulates have been performed and deep analytical characterization, their antigen or gene carrying capacity, and cytotoxicity are investigated. Our preliminary investigations have demonstrated in vitro active substance delivery potency of two different engineered nanoparticle systems.

Keywords: nanocarriers, mesoporous silica nanoparticles, liposomes ,vaccine

SB3: T. GONDII GRA8 DNA VACCINES

Tuğba KARAKAVUK¹, Ceren GÜL¹, Aytül GÜL², Sedef ERKUNT ALAK³, Muhammet KARAKAVUK^{3,4}, Hüseyin CAN^{3,5}, Aysu DEĞİRMENÇİ DÖŞKAYA^{3,6,7}, Ahmet Efe KÖSEOĞLU⁸, Tolga OVAYURT⁹, Cemal ÜN^{3,5}, Adnan Yüksel GÜRÜZ^{3,6,7}, Mert DÖŞKAYA^{3,6,7}

¹Department of Biotechnology, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Ege University, Izmir, Türkiye

²Department of Bioengineering, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Ege University, Izmir, Türkiye

³Ege University Vaccine Development, Application and Research Center (EGE-AGEM), Izmir, Türkiye
⁴Ödemiş Vocational School, Ege University, Izmir, Türkiye

⁵Department of Molecular Biology, Faculty of Science, Ege University, Izmir, Türkiye

⁶Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Ege University, Izmir, Türkiye

⁷Department of Vaccine Studies, Institute of Health Sciences, Ege University, Izmir, Türkiye

⁸Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Engineering and Natural Sciences, Biruni University, İstanbul, Türkiye

⁹Department of Biomedical Engineering, Faculty of Engineering, Katip Çelebi University, Izmir, Türkiye

T. gondii is an obligate intracellular zoonotic parasite that infects humans and animals. While the causative agent is usually asymptomatic in people with a healthy immune system, it causes life-threatening clinical findings in people with a weak immune system. In addition, when pregnant women are infected with the agent, it can pass to the baby and cause embryonic death, abortion, mummy fetus, or congenital anomalies. The agent also affects farm animals by infecting them. The disease is an important cause of abortion in sheep and goats and has been identified as the second most common cause of abortion in studies conducted in Great Britain. For all these reasons, the development of *T. gondii* vaccines is of great importance for human health as well as livestock economy. GRA proteins are secreted to modify the parasitophorous vacuole interior of *T. gondii* tachyzoites and to proliferate and survive the parasite. These proteins are highly immunodominant and induce strong antibody response. In previous studies, it has been stated that the GRA8 protein is an indicator of acute infection. For this reason, it has been suggested that it can be used to distinguish between acute infection and chronic infection. In addition, microarray studies have shown that GRA8 protein stimulates both cellular and humoral immune responses. There are two *T. gondii* GRA8 DNA vaccine studies in the literature. In the first study, the humoral and cellular immune response was investigated in the DNA vaccine made using the DsRed2 plasmid. After three intramuscular inoculations with two-week intervals, mice were inoculated intraperitoneally with 10³ tachyzoites of the *T. gondii* RH strain. As a result of the study, it was revealed that DNA vaccine increased the cellular and humoral immune response. It was determined that the vaccine group survived longer than the control groups after challenge. In another study carried out by our study group, DNA vaccine was created by removing the intracellular and transmembrane regions of *T. gondii* GRA8 protein, and it was administered to mice twice at 2-week intervals. Similar to natural contamination, tissue cysts were given orally. As a result of the study, it was determined that the protection was 70%. As a result of all these studies, it is thought that GRA8 protein may be successful as a vaccine in humans and animals. In addition, *T. gondii* GRA8 DNA vaccine to be applied in sheep will both eliminate economic losses and make a great contribution to public health by reducing the disease in sheep.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, GRA8, DNA vaccine, Mouse model

SB4: IN SILICO VACCINE DESIGN AGAINST INFLUENZA A AND B VIRUSES

Sedef ERKUNT ALAK¹, Hüseyin CAN^{1,2}, Gülay KORUKLUOĞLU³, Ayşe Başak ALTAŞ³, Fatma BAYRAKDAR³, Ahmet Efe KÖSEOĞLU⁴, Aytül GÜL^{1,5}, Ceren GÜL⁶, Tuğba KARAKAVUK⁶, Muhammet KARAKAVUK^{1,7}, Aysu DEĞİRMENCİ DÖŞKAYA^{1,8,9}, Hüsnü PULLUKÇU¹⁰, Meltem IŞIKGÖZ TAŞBAKAN¹⁰, Cemal ÜN^{1,2}, Adnan Yüksel GÜRÜZ^{1,8,9}, Ercüment KARASULU¹¹, Mert DÖŞKAYA^{1,8,9}

¹Ege University Vaccine Development, Application and Research Center (EGE-AGEM), İzmir, Türkiye

²Department of Molecular Biology, Faculty of Science, Ege University, İzmir, Türkiye

³Republic of Türkiye, Ministry of Health, General Directorate of Public Health, National Virology Reference Central Laboratory, Ankara, Türkiye

⁴Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Engineering and Natural Sciences, Biruni University, İstanbul, Türkiye

⁵Department of Bioengineering, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Ege University, İzmir, Türkiye

⁶Department of Biotechnology, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Ege University, İzmir, Türkiye

⁷Ödemiş Vocational School, Ege University, İzmir, Türkiye

⁸Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Ege University, İzmir, Türkiye

⁹Department of Vaccine Studies, Institute of Health Sciences, Ege University, İzmir, Türkiye

¹⁰Ege University Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases, İzmir, Türkiye

¹¹Ege University Research and Application Center of Drug Development and Pharmacokinetics, İzmir, Türkiye

Influenza viruses are RNA viruses belonging to the Orthomyxoviridae family. There are four types of influenza viruses known as A, B, C and D. Human influenza A and B viruses cause seasonal epidemics of disease (known as flu season). Hemagglutinin (H) and neuraminidase (N), two proteins found on the surface of viruses, are used to categorize influenza A viruses into different subtypes. There are 11 distinct neuraminidase and 18 distinct hemagglutinin subtypes. Although more than 130 influenza A subtypes have been detected in nature to date, there are many more subtype combinations considering the virus's tendency to reassortment (swap gene segments). The current subtypes of influenza A viruses routinely circulating in humans are: A(H1N1) and A(H3N2). Seasonal flu vaccines are formulated to protect against influenza viruses known to cause epidemics, including H1N1, H3N2 and B influenza strains. The World Health Organization closely monitors the changes in the virus and makes annual recommendations for vaccine content. Every year, the vaccine content is prepared taking into account the recommendations of the World Health Organization. Vaccines contain two strains of influenza A and one or two strains of influenza B (trivalent or quadrivalent) strains. In order to design a universal vaccine, it is a major importance to take into consideration the widely spread influenza strains that cause seasonal flu epidemics. Thus, H1N1, H3N2 and B influenza strains recommended by the World Health Organization to be used in influenza vaccines between 2008-2022 were retrieved from GISAID. Additionally, influenza strains isolated in Turkey during 2018-2019 flu epidemics were obtained from General Directorate of Public Health of Turkey. Using reverse vaccinology approaches, the sequences were analyzed and B/T cell epitopes were predicted for each sequence. The rare epitopes were eliminated and the conserved, overlapped epitopes were used to design a vaccine candidate protein for each influenza type (H1N1, H3N2 and Influenza B). Epigraph, a bioinformatics tool, was also used to analyse obtained influenza sequences for the prediction of vaccine candidates. According to results, protein sequences that represent each influenza type were obtained similar to epitope analyses results and linkers were used to design a fusion vaccine candidate protein.

Keywords: Influenza, vaccine, universal, Epigraph

References

- Bullard, B.L., et al. (2021). Epigraph hemagglutinin vaccine induces broad cross-reactive immunity against swine H3 influenza virus. *Nature communications*, 12(1), 1203. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21508-6>
- CDC. (2021). Types of Influenza Viruses. Last accessed: 16th October 2022, Available from: <https://www.cdc.gov/flu/about/viruses/types.htm>
- Chen, X., et al. (2013). Fusion protein linkers: property, design and functionality. *Advanced drug delivery reviews*, 65(10), 1357–1369. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.039>
- Jahnke L, et al. (2020). Creation of an Influenza B Epigraph Vaccine. Poster presentation, UNL Spring Research Fair, University of Nebraska-Lincoln, Lincoln, Nebraska.
- Theiler, J., et al (2016). Epigraph: A Vaccine Design Tool Applied to an HIV Therapeutic Vaccine and a Pan-Filovirus Vaccine. *Scientific reports*, 6, 33987. <https://doi.org/10.1038/srep33987>
- WHO, (2018). Influenza (Seasonal). Last accessed: 16th October 2022, Available from: [https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(seasonal\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal))

SB5: PATHOGEN SECRETORY AND SURFACE ANTIGENS IN VACCINOLOGY

Ahmet Efe KÖSEOĞLU

Biruni University, Faculty of Engineering and Natural Sciences, Department of Molecular Biology and Genetics, İstanbul, Türkiye

Infectious diseases caused by pathogens are a global health problem, and pathogens are exposed to and adapt to the host organisms' constant immune stress. In particular, parasitic pathogens such as *Plasmodium falciparum*, *Trypanosoma brucei*, and *Leishmania donovani*, and viral pathogens such as dengue (DENV), Zika (ZIKV), and chikungunya (CHIKV) cause millions of cases and thousands of deaths. A vaccine is a biological product that stimulates the immune system and causes a protective effect against a pathogen or its antigen. Vaccines have the potential to save millions of lives each year. Although traditional or conventional vaccine development studies take about 10 years, with advances in genome sequencing in parallel with computer technology, pathogen genomes can be screened, and the most appropriate antigenic/immunogenic regions (epitopes) can be predicted as a result of bioinformatic analysis, also called reverse vaccinology. The most important part of this process is the selection of the antigenic vaccine antigen and the design of the vaccine molecule, and especially the secretory and surface antigens of the pathogens are targeted due to the possibility of encountering the immune system. Another important point is that under the selection pressure of the host immune system, the conserved regions of the antigen molecule in pathogen isolates around the world should be targeted as vaccine-candidate regions due to the antigenic diversity in which the secretory and surface antigens of pathogens are constantly changing. In recent years, there are also studies targeting the vector's secretory and surface antigens, which are called transmission-blocking antigens, against vectors transmitting pathogens instead of individual pathogen antigens. In conclusion, due to all these advantages, as long as the pathogen and vector genomes continue to be sequenced in the future, new secretory and surface antigens that are vaccine candidates will be discovered and vaccine studies will gain momentum in the fight against pathogens.

Keywords: pathogens, vaccine, secretory antigen, surface antigen, reverse vaccinology

References

- Coelho, C. H., Rappuoli, R., Hotez, P. J., & Duffy, P. E. (2019). Transmission-blocking vaccines for malaria: time to talk about vaccine introduction. *Trends in parasitology*, 35(7), 483-486.
- Delany, I., Rappuoli, R., & Seib, K. L. (2013). Vaccines, reverse vaccinology, and bacterial pathogenesis. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 3(5), a012476.
- Lempereur, L., Larcombe, S. D., Durrani, Z., Karagenc, T., Bilgic, H. B., Bakirci, S., ... & Shiels, B. (2017). Identification of candidate transmission-blocking antigen genes in *Theileria annulata* and related vector-borne apicomplexan parasites. *BMC genomics*, 18(1), 1-14.
- Pollard, A. J., & Bijker, E. M. (2021). A guide to vaccinology: from basic principles to new developments. *Nature Reviews Immunology*, 21(2), 83-100.
- Rinker, D. C., Pitts, R. J., & Zwiebel, L. J. (2016). Disease vectors in the era of next generation sequencing. *Genome Biology*, 17(1), 1-11.
- Rollenhagen, C., Sørensen, M., Rizos, K., Hurvitz, R., & Bumann, D. (2004). Antigen selection based on expression levels during infection facilitates vaccine development for an intracellular pathogen. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(23), 8739-8744.
- Schneewind, O., & Missiakas, D. (2011). Structural vaccinology to thwart antigenic variation in microbial pathogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(25), 10029-10030.
- Shaw, W. R., & Catteruccia, F. (2019). Vector biology meets disease control: using basic research to fight vector-borne diseases. *Nature microbiology*, 4(1), 20-34

SB6: DETERMINATION OF NON-STRUCTURAL PROTEIN LEVEL FOR TÜRKİYE FOOT-AND-MOUTH DISEASE VACCINE ANTIGENS DURING IN-PROCESS

Beyhan SAREYYÜPOĞLU¹, Can ÇOKÇALIŞKAN¹, Aydın ÇOŞKUNER¹, Veli GÜLYAZ²

¹Şap Enstitüsü, Ankara, Türkiye

²Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Şanlıurfa, Türkiye

Foot-and-mouth disease (FMD) is a highly contagious viral disease which affects cloven-hooved animals causing serious economic losses. FMD virus belongs to the family Picornaviridae. It has an approximately 8 kB RNA genome encoding a single polyprotein that is cleaved into 12 different proteins (structural-SPs and nonstructural proteins-NSPs) with the help of viral proteases. Since the NSPs are clarified during the vaccine production, vaccinated animals elicit antibodies only against SPs, but FMD-infected animals elicit antibodies against both SPs and NSPs. Developed from this principle, Differentiating Infected from Vaccinated Animals (DIVA) tests are used to differentiate the vaccinated animal from the infected one. These tests are used in the sero-surveillance activities of endemic countries. Purification of FMD vaccines began in 1989 with the elimination of cell culture allergens from the vaccine. In later years, the World Organisation for Animal Health (OIE) also declared that it is necessary to investigate the purity of FMD vaccines by testing for antibodies against NSPs. This is first performed on the in vivo animal experiment test declared by OIE. However, after that, in-vitro tests have been developed through the gaining importance of 3R (refine-reduce-replace animals) principles. There are two test kits to determine the NSP protein level in-process samples in the world. Here, it was aimed to analyze NSP levels of FMD vaccine samples via the first developed test kit (chemiluminescent filtration assisted -ELISA based) and determined NSP limits for vaccine samples. For this purpose, a total of 94 vaccine samples in different steps of vaccine production were analyzed. In conclusion, it was determined that 70 ng NSP for the polyethylene glycol (PEG) concentrated vaccine samples and 30 ng NSP for the vaccine antigen mixture samples as the maximum acceptable NSP level. In conclusion, it is the first study to reveal the NSP level of FMD vaccine samples under in-vitro conditions. The chemiluminescent FAL-ELISA test kit is capable of determining the NSP purity of the Türkiye-FMD vaccine samples.

Keywords: Determination, FMD, in-process, NSP, test

SB7: NEXT GENERATION VACCINE PARADIGM: EXOSOME-VACCINE TECHNOLOGIES

Aslı Pınar ZORBA YILDIZ¹, Burçak YAVUZ², Esra ENGÜR¹, Emrah Şefik ABAMOR³, Adil ALLAHVERDİYEV⁴

¹İstinye Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

²Altınbaş Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

³Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

⁴The V. Akhundov National Scientific Research Medical Prophylactic Institute , Bakü, Azerbaycan

Introduction and Aim: Vaccine technology has been the basis of both individual and social protective immunity since the discovery of the smallpox vaccine .In particular, the Covid-19 pandemic has shown us that vaccines based on inactivated or attenuated single peptide or viral vectors produced by conventional methods provide limited and short-term protection. Exosomes, which are engineering products also used in the Covid-19 pandemic, have attracted attention by stimulating cellular and humoral immunity and creating enhanced immune memory. Could this make them a suitable candidate for a vaccine?

Findings: Although exosomes were thought to be cellular waste in the first years of their discovery today they are bioactive nanocargoes measuring 40 to 200 nm, which have been proven to play a role in cell-to-cell communication and are associated with many physiological and pathological functions. Moreover, it is seen that the treatment of diseases can be used in illuminating the pathological processes of diseases and developing disease diagnosis models, and developing mRNA, miRNA, nucleic acid, protein, lipid transport, and drug delivery system..Exosomes, which are already known to have anti-tumorogenic responses, have been shown in this study to be a cell-free vaccine candidate with antiparasitic immunoprophylaxis activity.

Conclusion: Exo-vaccine studies with *Toxoplasma gondii*-derived antigens (Exo-TAg) , *Salmonella sp.* and Covid-19 provide solid evidence highlight that exosomes can be used more effectively in next-generation vaccine and antitumor technologies as targetable nanocargoes. As a result, current cell-free vaccine technologies approaches will bring expanded Exo-libraries and viable vaccine formulations in line with Industry 5.0 in the future.

Keywords: exosomes, vaccine, nanobiotechnology

SB8: DOWNSTREAM PROSES SÜRECİNDE İNKÜBASYON SICAKLIĞI VE MİKROFİLTRASYON MEMBRANI SEÇİMİNİN REKOMBİNANT SARS-COV-2 ADENOVİRAL VEKTÖR VERİMİNE ETKİSİ

Fatma Gizem SONUGÜR, Cansu BABAHAN, Samira ABDİ ABGARMİ, Hakan AKBULUT

Ankara Üniversitesi, Ankara, Türkiye

Devam eden SARS-CoV-2 pandemi süreci, güvenli ve etkili aşuların geliştirilmesi ve bunların tüm dünyaya ulaştırılmasıyla kontrol altına alınabilir. Adenoviral tabanlı aşular, vektör inşalarının hızlı yapılabilmesi, doğrulanabilirliğinin kolay olması, büyük ölçekli üretim sürecinde yüksek titrelere çoğaltılabilmeleri ve insan uygulamaları için güvenli olmaları nedeniyle büyük önem taşımaktadır. Adenoviral vektörler için downstream proses basamaklarının verimlilik oranları hala büyük ölçüde değişmektedir. Bu çalışmada, upstream proses sürecinde üretilen adenoviral vektör taşıyan hücrelerin, downstream proses sürecinde farklı hücre parçalama yöntemleri ve mikrofiltrasyonunun viral vektör verimi üzerindeki etkisini araştırmayı amaçladık.

Fiziksel hücre parçalama yöntemlerinden tekrarlı dondur-çöz işlemi ile kimyasal yöntem olan Tween-20 deterjanı aracılığıyla hücre membranlarının parçalanma performansını karşılaştırdık. Ek olarak, hücre parçalama yönteminin, inkübasyon sıcaklığının ve inkübasyon süresinin viral DNA konsantrasyonuna (vDNA/mL) etkisini araştırdık. Upstream proses sürecinde üretilen hücreler, oda sıcaklığında ve 37°C'de 1, 2 ve 4 saatlik sürelerle inkübe edildi. İnkübasyon sonrası örnek grupları Polietersülfon (PES) ve Sürfaktansız Selüloz Asetat (SFCA) membranlar ile mikrofiltrasyonları yapıldı. Virüs verimi ve enfektivitesi, qPCR ve immüno-titrasyon deneyleri ile test edildi.

Sonuç olarak, hücre parçalama yönteminde Tween-20 deterjanı kullanıldığında, hücre kaynaklı genetik materyalin elimine edilmesi için gerekli olan denaraz enzimi için 37°C'de inkübe edildiğinde, 2 saatlik inkübasyonun en iyi virüs verimi ve enfektivitesine ulaşıldığını göstermektedir. İnkübasyon süreci boyunca oda sıcaklığı tercih edilecekse, 4 saatlik inkübasyon süresinde çalışılması daha iyi sonuç göstermektedir. Çalışmada kullanılan rekombinant adenoviral vektörün Faz-1 klinik çalışma (NCT05526183, 21 Ocak 2022) süreci devam etmektedir.

Anahtar kelimeler: SARS-CoV-2, Adenoviral aşular, Downstream Proses, Biyoproses geliştirme

SB9: LARGE-SCALE PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF THE EXOSOME TRANSPORTER SYSTEM FROM THP-1 CELLS AS A NEW APPROACH TO IMMUNIZATION

Ilgin KIMIZ-GEBOLOGLU¹, S. Furkan DEMIRDEN¹, A. Gulden KANTARCI², Suphi S. ONCEL¹

¹Department of Bioengineering, Faculty of Engineering, Ege University, Izmir, Türkiye

²Department of Pharmaceutical Biotechnology, Faculty of Pharmacy, Ege University, Izmir, Türkiye

The development of effective vaccines against many life-threatening diseases is one of the most important medical achievements in recent history. In immunization created by vaccination, it is crucial that the appropriate antigens can be processed efficiently by the immune system. Therefore, in recent years, there has been a trend toward lipid-based nanoparticles targeting the mimicry of cellular mechanisms in the body. The use of exosomes, called natural liposomes, which are membrane vesicles released from prokaryotic and eukaryotic cells, such as microvesicles and apoptotic bodies, as carrier systems is becoming an increasingly exciting area. The aim of this study is large-scale production in a controlled bioreactor, isolation, and characterization of exosomes which can be used as carrier systems in immunization. In this way, great quantities of exosomes can be obtained in a short time. Therefore, this can be beneficial for their commercial applicability by considering their potential usage areas in biopharmaceutical industries. Since the target usage area for these exosomes is biopharmaceutical, THP-1 (human monocyte) cells were adapted to a chemically defined medium (FBCD, Florabio) that does not contain any animal-derived compounds. Thus, unwanted animal originated exosomes are also prevented. Then, serum-free medium adapted cells were optimized in erlenmeyers and spinner flasks before production in a stirred tank bioreactor (STR). The ultrafiltration method, which is more suitable for large-scale production, was used for the isolation of exosomes. After, isolated exosomes were characterized in size, homogeneity, and protein concentration. THP-1 cells were gradually adapted to the FBCD medium. It was determined that the initial cell concentration should be 5×10^5 cells/mL, the stirring speed should be 70 rpm in the spinner with a working volume of 100 mL and 1.85×10^6 cells/mL was obtained under these conditions. As a result of exosome isolation from the spinner flask, exosomes were obtained with a size of 74.95 ± 2.15 nm and an exosomal protein concentration of 360.00 ± 8.08 $\mu\text{g/mL}$. In STR production, 2.06×10^6 cells/mL concentration cells were obtained and after isolation, exosomes were obtained with a size of 71.52 ± 1.98 nm and an exosomal protein concentration of 468.57 ± 2.02 $\mu\text{g/mL}$. Detailed characterization studies of the exosomes are ongoing.

Acknowledgments: This work was supported through research grants from Ege University Scientific Research Projects Coordination with a project number of 22868.

Keywords: exosomes, stirred tank bioreactor, lipid-based delivery system, vaccination, immunization

SB10: A NOVEL STABLE TRIMERIC VACCINE ANTIGEN AGAINST THE WILD TYPE SARS-COV-2 AND DELTA VARIANT

Aytül Gül^{1,2,3}, Ceren Gül^{1,4}, Tuğba Karakavuk^{1,4}, Sedef Erkunt Alak^{1,5}, Muhammet Karakavuk^{1,6}, Hüseyin Can^{1,5}, Aysu Değirmenci Döşkaya^{1,7,8}, Adnan Yüksel Gürüz^{1,7,8}, Mert Döşkaya^{1,7,8}, E. Esin Hameş^{2,3}

¹Vaccine Development, Application and Research Center, Ege University (EGE-AGEM), Izmir, Türkiye

²Department of Bioengineering, Faculty of Engineering, Ege University, Izmir, Türkiye

³Department of Bioengineering, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Ege University, Izmir, Türkiye

⁴Department of Biotechnology, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Ege University, Izmir, Türkiye

⁵Department of Biology, Molecular Biology Section, Faculty of Science, Ege University, Izmir, Türkiye

⁶Ödemiş Technical Training College, Ege University, Izmir, Türkiye

⁷Department of Vaccine Studies, Institute of Health Sciences, Ege University, Izmir, Türkiye

⁸Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Ege University, Izmir, Türkiye

Vaccines have proven highly effective in controlling hospitalizations and deaths associated with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection. However, despite the worldwide vaccination, the COVID-19 pandemic continues to pose a severe health risk as SARS-CoV-2 evolves into numerous variants. Here we report the generation and immunogenicity of a novel stable trimeric vaccine antigen (STDSpike) that may be used in different vaccine platforms such as recombinant protein, DNA, or mRNA vaccines against the SARS-CoV-2 delta variant. In addition to containing some delta variant mutations (T19R, L452R, T478K, D614G, P681R, D950N) in the extracellular domain spike protein (Val 16 – Pro 1213), the protein contains six proline substitutions (F817P, A892P, A899P, A942P, K986P, V987P) to stabilize the trimeric prefusion state and two alanine substitutions (R683A and R685A) to eliminate the furin cleavage site. Furthermore, the T4 trimerization folding domain (GSGYIPEAPRDGQAYVRKDGWVLLSTFL) was added to the C-terminal end of the stable prefusion S protein to form a trimeric structure. In addition, the Kozak sequence and the IgE signal sequence were inserted into the construct's N-terminal region to enhance the expression and immunogenicity of the protein. The protein gene was codon-optimized for expression in human cells and then cloned into the pVAX1 vector (pSTDSpike). It demonstrated the expression of the correct-sized STDSpike protein in 293T cells by denaturing and non-denaturing western blotting. Potency was assessed by transfection of 293T cells, followed by the immunofluorescence antibody test (IFAT). The STDSpike protein strongly binds to wild-type SARS-CoV-2 and delta variant antibodies. BALB/c mice (10 mice/group) were immunized thrice with naked pSTDSpike intramuscularly (IM; 100 µg plasmid/62öşe) to determine the immunogenicity of STDSpike protein. The pSTDSpike elicited a strong TH1-biased immune response, as shown by significant levels of IFN-γ secreting CD8+T cell responses. These preliminary data suggest that the STDSpike protein could be a promising vaccine antigen to confer protection against wild-type SARS-CoV-2 and delta variants. Overall, based on the results obtained in this study, the STDSpike antigen candidate should be further tested in transgenic animal models and clinical trials.

Keywords: Vaccine; Antigen; SARS-COV-2; Delta Variant; Recombinant expression; Potency; Immunogenicity.

ACKNOWLEDGEMENTS: This study was supported by the grant given by “The Scientific Research Foundation of Ege University (Grant No: 22333) to AG, MD, EEH. AG would like to acknowledge the TUBITAK 2211- C National Priority Fields Doctoral Scholarship Program.

References

- Bodles-Brakhop AM, Draghia-Akli R. DNA vaccination and gene therapy: optimization and delivery for cancer therapy. *Expert Rev Vaccines*. 2008;7(7):1085-101. <https://doi.org/10.1586/14760584.7.7.1085>.
- Garmory HS, Brown KA, Titball RW. DNA vaccines: improving expression of antigens. *Genet Vaccines Ther*. 2003;1(1):2. <https://doi.org/10.1186/1479-0556-1-2>.
- Hsieh CL, Goldsmith JA, Schaub JM, DiVenere AM, Kuo HC, Javanmardi K, Le KC, Wrapp D, Lee AG, Liu Y, Chou CW, Byrne PO, Hjorth CK, Johnson NV, Ludes-Meyers J, Nguyen AW, Park J, Wang N, Amengor D, Lavinder JJ, Ippolito GC, Maynard JA, Finkelstein IJ, McLellan JS. Structure-based design of prefusion-stabilized SARS-CoV-2 spikes. *Science*. 2020;369(6510):1501-1505. <https://doi.org/10.1126/science.abd0826>.
- Xiong X, Qu K, Ciazynska KA, Hosmillo M, Carter AP, Ebrahimi S, Ke Z, Scheres SHW, Bergamaschi L, Grice GL, Zhang Y; CITIID-NIHR COVID-19 BioResource Collaboration, Nathan JA, Baker S, James LC, Baxendale HE, Goodfellow I, Doffinger R, Briggs JAG. A thermostable, closed SARS-CoV-2 spike protein trimer. *Nat Struct Mol Biol*. 2020 Oct;27(10):934-941. <https://doi.org/10.1038/s41594-020-0478-5>.
- Zhang M, Liang Y, Yu D, Du B, Cheng W, Li L, Yu Z, Luo S, Zhang Y, Wang H, Zhang X, Zhang W. A systematic review of Vaccine Breakthrough Infections by SARS-CoV-2 Delta Variant. *Int J Biol Sci*. 2022 Jan 1;18(2):889-900. <https://doi.org/10.7150/ijbs.68973>

SB11: EVALUATION OF IMMUNE RESPONSES AND PROTECTIVITY OF MULTIVALENT RECOMBINANT PROTEINS WITH A NEWLY DEVELOPED NANOPARTICULATE ADJUVANT SYSTEM AGAINST TOXOPLASMOSIS

Selin PARMAKSIZ¹, Aytül GÜL², Sedef ERKUNT ALAK², Ceren GÜL², Tuğba KARAKAVUK², Muhammet KARAKAVUK², Hüseyin CAN², Constantino LÓPEZ-MACÍAS³, Mert DÖŞKAYA⁴, Sevda ŞENEL¹

¹Hacettepe University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology, Ankara, Türkiye

²Ege University, Vaccine Development, Application and Research Center (EGE-AGEM), İzmir, Türkiye

³Medical Research Unit on Immunochemistry, Specialties Hospital of the National Medical Centre "Siglo XXI", Mexican Institute, Mexico City, Meksika

⁴Ege University, Vaccine Development, Application and Research Center (EGE-AGEM) and Department of Parasitology, Faculty of Medicine, İzmir, Türkiye

Toxoplasmosis is an infection caused by *Toxoplasma gondii* which is considered as a global health problem both in humans and animals. There is still a need for an effective vaccine against *T. gondii* which affects different stages of the life cycle of the parasite. Recombinant protein vaccines have been investigated widely for this purpose. Amongst these proteins, GRA1 secreted in the tachyzoite and bradyzoite forms and BAG1 expressed from the bradyzoite form are the essential proteins for the parasite. In this study, a new vaccine formulation was developed by combining the nanoparticulate adjuvant system (NanoAS) that we developed with the combination of *Salmonella Typhi* porins and chitosan, and two different multivalent recombinant antigens (rBAG1+rGRA1) produced by Döşkaya et al. was evaluated in vivo. All animal care and experimental protocols were approved by the Animal Experimentations Local Ethics Board of Ege University (protocol no: 2019-024). 6 to 8 weeks female BALB/c mice were immunized intraperitoneally on Days 0 and 21 and cellular (IFN- γ , IL- and humoral (total IgG) response were evaluated. 21 days after booster (Day 42), mice were challenged with 7 to 8 live tissue cysts of the virulent *T. gondii* PRU strain by oral gavage. Survival and the number of cysts in brain tissue were evaluated. Especially after the booster, a significant increase was observed in cellular immune responses and IFN- γ expression against *T. gondii* in the presence of the adjuvant. Survival was higher in the adjuvanted vaccine group (62,5%) when compared to antigens alone (25%) and a significant decrease in the number of cysts was observed. Our results demonstrated that when multivalent recombinant antigens are given together with our nanoparticulate adjuvant system (NanoAS), inducement of immune responses against *T. gondii* is significantly enhanced with high protectivity.

Acknowledgment

This project was supported by Hacettepe Scientific Research Coordination Unit (TDK-2020-18606).

References

1. Dubey JP, et al., Clin Microbiol Rev.1998;11(2):267-99.
2. Yüksel S, et al., Int J Pharm.2020;578:119129.
3. Gedik Y, et al., Trials Vaccinol.2016;5:15-23.

SB12: A NOVEL APPROACH FOR *IN SILICO* DESIGN OF DNA VACCINE CANDIDATE AGAINST LATENT TOXOPLASMOSIS

Ceren GÜL¹, Tuğba KARAKAVUK¹, Aytül GÜL², Sedef ERKUNT ALAK³, Muhammet KARAKAVUK^{3,4}, Hüseyin CAN^{3,5}, Aysu DEĞİRMENÇİ DÖŞKAYA^{3,6,7}, Ahmet Efe KÖSEOĞLU⁸, Tolga OVAYURT⁹, Cemal ÜN^{3,5}, Adnan Yüksel GÜRÜZ^{3,6,7}, Mert DÖŞKAYA^{3,6,7}

¹ Department of Biotechnology, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Ege University, Izmir, Türkiye

² Department of Bioengineering, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Ege University, Izmir, Türkiye

³Ege University Vaccine Development, Application and Research Center (EGE-AGEM), Izmir, Türkiye

⁴Department of Molecular Biology, Faculty of Science, Ege University, Izmir, Türkiye

⁵Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Ege University, Izmir, Türkiye

⁷Department of Vaccine Studies, Institute of Health Sciences, Ege University, Izmir, Türkiye

⁸Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Engineering and Natural Sciences, Biruni University, Istanbul, Türkiye

⁹Department of Biomedical Engineering, Faculty of Engineering, Katip Çelebi University, Izmir, Türkiye

Latent toxoplasmosis caused by *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), which infects one third of the world's population, is characterized by tissue cysts in brain resulting in headache, confusion, seizures and other neurological symptoms¹⁻³. There has been attaining a surge of interest in targeting tissue cysts in order to develop new therapeutics for toxoplasmosis recently. In our group's previously study, the cyst wall protein SRS13 was found to be highly immunogenic by protein microarray screening⁴. Herein, we describe a design of DNA vaccine encoding SRS13, which has high stability and immunogenicity using *in silico* methods. Using this novel approach T and B cell epitopes of SRS13 extracellular domain were evaluated by *in silico* methods for antigenicity, allergenicity, toxicity, stability and solubility. The three-dimensional structure was predicted and validated with bioinformatics tools, and molecular docking analysis for MHCI and MHCII receptors was performed. Based on *in silico* analysis, we have constructed the DNA vaccine candidate with seven rich-epitopes domain including highly scored T and B-cell epitopes. Docking studies demonstrated that the vaccine has persistent interactions with MHC receptors. Finally, the predicted SRS13 construct was incorporated into the pVAX1 vector to generate a DNA vaccine. Protein expression of the DNA vaccine was determined by Western Blot and IFAT analyzes after *in vitro* transfection into HEK293T cells. This highly immunogenic DNA vaccine can be considered as a promising vaccine candidate against latent toxoplasmosis for further *in vivo* studies.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, latent toxoplasmosis, DNA vaccine, SRS13.

References

- Carpio, A., Romo, M. L., Parkhouse, R. M. E., Short, B., & Dua, T. (2016). Parasitic diseases of the central nervous system: lessons for clinicians and policy makers. *Expert review of neurotherapeutics*, 16(4), 401-414. <https://doi.org/10.1586/14737175.2016.1155454>
- Döşkaya, M., Liang, L., Jain, A., Can, H., İz, S. G., Felgner, P. L., ... & Gürüz, A. Y. (2018). Discovery of new *Toxoplasma gondii* antigenic proteins using a high throughput protein microarray approach screening sera of murine model infected orally with oocysts and tissue cysts. *Parasites & vectors*, 11(1), 1-13. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2934-1>
- Loh, F. K., Nathan, S., Chow, S. C., & Fang, C. M. (2019). Vaccination challenges and strategies against long-lived *Toxoplasma gondii*. *Vaccine*, 37(30), 3989-4000. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.05.083>
- Stock, A. K., Dajkic, D., Köhling, H. L., von Heinegg, E. H., Fiedler, M., & Beste, C. (2017). Humans with latent toxoplasmosis display altered reward modulation of cognitive control. *Scientific reports*, 7(1), 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10926-6>

SB13: BIOINFORMATICS ANALYSIS AND PROTEIN PRODUCTION OF RECOMBINANT PROTEIN VACCINE AGAINST TOXOPLASMA GONDII

Tuğba KARAKAVUK¹, Ceren GÜL¹, Aytül GÜL², Sedef ERKUNT ALAK³, Muhammet KARAKAVUK^{3,4}, Hüseyin CAN^{3,5}, Aysu DEĞİRMENÇİ DÖŞKAYA^{3,6,7}, Ahmet Efe KÖSEOĞLU⁸, Tolga OVAYURT⁹, Cemal ÜN^{3,5}, Adnan Yüksel GÜRÜZ^{3,6,7}, Mert DÖŞKAYA^{3,6,7}

¹Department of Biotechnology, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Ege University, Izmir, Türkiye

²Department of Bioengineering, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Ege University, Izmir, Türkiye

³Ege University Vaccine Development, Application and Research Center (EGE-AGEM), Izmir, Türkiye

⁴Ödemiş Vocational School, Ege University, Izmir, Türkiye

⁵Department of Molecular Biology, Faculty of Science, Ege University, Izmir, Türkiye

⁶Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Ege University, Izmir, Türkiye

⁷Department of Vaccine Studies, Institute of Health Sciences, Ege University, Izmir, Türkiye

⁸Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Engineering and Natural Sciences, Biruni University, Istanbul, Türkiye

⁹Department of Biomedical Engineering, Faculty of Engineering, Katip Çelebi University, Izmir, Türkiye

Toxoplasma gondii is an obligate intracellular parasite that causes serious health problems and is widespread in the world. Currently, there is no effective vaccine for protecting against parasitic infection. So, the need is high for protective vaccines. In the study conducted by our study group, it was suggested that the ROP6 protein could be a vaccine candidate for the parasite. ROP proteins have critical roles such as parasite penetration into the host, intracellular biogenesis and immunogenicity. The aim of the study is to ensure the expression of the ROP6 protein in *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) cells. First of all, bioinformatic analyzes such as antigenicity and allergenicity values, physicochemical properties, B and T cell epitope and structural analyzes of the ROP6 protein were performed using online bioinformatic tools. It was determined that the protein was immunogenic, having MHC I/II regions, soluble, and also non-allergic. Then, the gene sequence of the RP6 protein was designed and synthetically ordered in the pYES2.1-V5/HIS vector of *S. cerevisiae*. The vector containing the protein was transformed into the *S. cerevisiae* INVSc.1 strain. Transformant cells were spread on SC-U selection plates and incubated. At the end of the incubation, single colony selection was made from SC-U selective plates and cell proliferation was ensured by inoculation into an SC-U medium. Cells at a certain density are then exposed to the induction medium to induce the production of ROP6 protein. 24-hour production was performed to detect protein production and monitor cellular growth. Western blot analysis was performed to detect the ROP6 protein and the desired protein size was obtained.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, Bioinformatics, Recombinant Protein Vaccine

References

Boothroyd, J. C., & Dubremetz, J. F. (2008). Kiss and spit: the dual roles of *Toxoplasma* rhoptries. *Nature Reviews Microbiology*, 6(1), 79-88.

Döşkaya, M., Liang, L., Jain, A., Can, H., Gülçe İz, S., Felgner, P. L., ... & Gürüz, A. Y. (2018). Discovery of new *Toxoplasma gondii* antigenic proteins using a high throughput protein microarray approach screening sera of murine model infected orally with oocysts and tissue cysts. *Parasites & vectors*, 11(1), 1-13.

Dubey, J. P. (2020). The history and life cycle of *Toxoplasma gondii*. In *Toxoplasma gondii* (pp. 1-19). Academic Press.

SB14: DEVELOPMENT AND EVALUATION OF NANOPARTICULAR PROTOTYPE VACCINE FORMULATIONS AGAINST COVID-19

Sena AYÇİÇEK¹, Berrin KÜÇÜKTÜRKMEN¹, Umut Can ÖZ¹, Mine ENSOY², Demet CANSARAN², Asuman BOZKIR¹

¹Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Ankara, Türkiye

²Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara, Türkiye

INTRODUCTION AND PURPOSE

The 2019 coronavirus disease outbreak (COVID-19), caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), has demonstrated the need for rapid, effective and safe vaccines worldwide. In this study, subunit protein nanovaccine was developed and it is aimed to improve the problems encountered in the development and application of vaccines by examining the effects of formulation-related parameters (preparation method, material used and method steps) on the prepared nanoparticle carrier system.

MATERIALS AND METHODS

In this study, nanoparticular subunit protein vaccine has been studied and the SARS-CoV-2 spike protein receptor binding domain (RBD) has been used as a protein. The RBD protein was chosen because it interacts directly with the ACE2 receptor on host cells and contains highly neutralizing epitopes.

Modified water/oil/water (W1/O/W2) emulsion-solvent evaporation technique has been used for the preparation of RBD-loaded PEG-PCL nanoparticles; the nanoparticles has been evaluated in terms of particle size and distribution, zeta potential and encapsulation efficiency. The morphology of the nanoparticles was visualized by transmission electron microscopy (TEM). Then, in vitro release studies have been carried out with optimized nanoparticles. SDS-Polyacrylamide Gel electrophoresis study has been performed to evaluate the effect of the manufacturing process on the structural integrity of the antigen and in vitro release samples. The physical stability of nanoparticles has been determined by performing physical stability studies for 1 month.

RESULTS

In this study, the size of the RBD-nanoparticles has been measured as 195.3 ± 1.6 nm on average, the zeta potential was measured as -22.6 ± 0.5 mV, and the RBD protein has been 98% encapsulated. TEM images revealed that the nanoparticles were spherical. It has been determined that RBD release from nanoparticles continues up to 60 hours, and 50% of the protein is released within the first 6 hours. It was observed that the production process did not cause any change in the structure of the antigen and that there was no degradation in the antigen structure during the release with the SDS-PAGE results. As a result of the stability studies carried out at $+4^\circ\text{C}$, -20°C and at -20°C by adding cryoprotectant (1% Trihalose) to the formulation, it has been observed that the nanoparticles remained physically stable under all conditions.

CONCLUSION

Within the scope of these findings, subunit protein nanovaccine has been successfully formulated and characterized. It has been seen that the subunit protein nanovaccine system, which was developed as an alternative to traditional vaccines, has great potential in future viral outbreaks such as COVID-19. vaccine; SARS COV-2; covid 19; nanoparticle; immunity

SB15: PPR (KOYUN KEÇİ VEBASI) AŞISI VE MAVİDİL AŞISININ MERİNOS IRKI KOYUNLARDA EŞ ZAMANLI UYGULANABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Züleyha ERGÜN, Özden KABAKLI, Elvin ÇALIŞKAN, Mustafa GÖÇTÜ

Veteriner Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü, Ankara, Türkiye
Ankara İl Tarım ve Orman Müdürlüğü

Türkiye'de bulaşıcı birçok hayvan hastalığı bulunmaktadır. Bu hastalıklar arasında yer alan PPR ve Mavidil, ciddi ekonomik kayıplara sebep olmalarından dolayı, Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü (OIE) tarafından ihbarı zorunlu hastalıklar içinde yer almaktadır. Aşılama, hastalıklarda mücadele kapsamında öncelikli kontrol stratejisidir. Hızlı aşılama ve iş yükünün azaltılması aşuların aynı anda uygulanabilmesi ile mümkün olabilmektedir. Bu çalışmada, PPR ve Mavidil aşularının aynı anda uygulanarak koyunlardaki antikor yanıtı üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla çalışmada, Polatlı Tarım İşletmesi Müdürlüğü'nde bulunan PPR ve Mavidil yönünden antikor negatif 4-8 aylık merinos ırkı genç koyunlar ile PPR yönünden antikor pozitif 1 yaşdan büyük merinos ırkı koyunlar kullanılmıştır. Çalışmanın birinci basamağında, seçilen hayvanların aşılama öncesi kanları alınarak her iki hastalık yönünden araştırılmıştır. İkinci basamağında, ilgili işletmeye gidilerek seçilen hayvanlardan her biri 10'ar adet genç kuzu ve 10' ar adet yetişkin koyun içerecek şekilde üç gruba oluşturulmuştur. Birinci gruptaki hayvanlara sadece mavidil aşısı, ikinci gruptaki hayvanlara sadece PPR aşısı ve son gruba aynı anda Mavidil ve PPR aşısı olmak üzere toplam 60 hayvana aşı uygulanmıştır. Çalışmanın üçüncü basamağında, seçilen hayvanlardan nötralize antikorlar yönünden test edilmesi amacıyla 0. gün, 1.ay, 3.ay, 6.ay ve 12.aylarda serum örnekleri toplanmıştır. Her bir örnekleme döneminde 10 adet kontrolü de içerecek 70 adet hayvandan toplamda 280 adet serum numunesi PPR ve Mavidil antikorları yönünden test edilmiştir. Hayvanlarda oluşan antikor yanıt, virüs mikronötralizasyon ELISA testi ile belirlenmiştir. Hayvanlarda oluşan antikor yanıt ve oluşan yanıtın süresi açısından karşılaştırmalı olarak yapılan değerlendirmede istatistiksel olarak bir fark belirlenmemiştir. Çalışma sonucunda, PPR ve Mavidil aşularının eş zamanlı olarak uygulanabileceği, iş gücü ve ekonomik açıdan tasarruf sağlayacağı tespit edilmiştir.

SB16: BOVİNE ROTAVİRUS VE BOVİNE CORONAVİRUS AŞI SUŞLARININ REPLİKASYON VE İNAKTİVASYON KİNETİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Kadir YEŞİLBAĞ¹, Özer ATEŞ¹, Gizem AYTOĞU¹, Eda Baldan TOKER¹, Berfin KADİROĞLU²

¹Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

²Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

Rotavirus ve coronaviruslar insanlar ve hayvanlarda neonatal dönemde ishal ve septisemi etkeni olarak ön plana çıkmaktadır. Özellikle rotavirusların in vitro koşullarda üretilmesinin güçlüğü ve farklı serotip/genotip kombinasyonlarına sahip olması bu etkenle yapılan virolojik çalışmaları kısıtlamaktadır. Türkiye’de çiftlik hayvanlarında yapılan araştırmalarda bovine rotavirus G6 ve G10 genotiplerinin sıklıkla görüldüğü ortaya konulmuştur. Bu çalışmada *Bovine rotavirus*, *Bovine coronavirus* ve *E.coli* etkenlerini içeren bir kombine aşı geliştirilebilmesi için başlatılan KAMAG projesinin viruslarla ilgili bazı temel Ar-Ge verileri yer almaktadır. Çalışmada kullanılan Bovine rotavirus (BRV) suşları (G6 ve G10) MA-104 hücre kültüründe çalışılırken, Bovine coronavirus (BCoV) – Mebus suşunun üretilmesi MDBK ve HRT-18 hücre hatlarında çalışıldı. BRV-G6 suşunun enfektif titresini $\text{Log}_{10}\text{DKID}_{50}= 10^{6.5}/\text{ml}$ olarak belirlenirken, BRV G10 suşunun titresini $\text{Log}_{10}\text{DKID}_{50}= 10^{4.5}/\text{ml}$ olarak tespit edildi. Replikasyon kinetiği çalışmalarında her iki BRV suşu için en yüksek enfektif titre değerlerine pi 60. saatte ulaşıldığı ve bu dönemden sonra pi 192. saate kadar azalarak devam ettiği belirlendi. BCoV –Mebus suşu için enfektif titre değerinin ($\text{Log}_{10}\text{DKID}_{50}$) HRT-18 hücre hattında $10^{8.0}/\text{ml}$ ’ye, MDBK hücre hattında ise $10^{7.75}/\text{ml}$ ’ye ulaştığı gözlemlendi. HRT-18 hücre hattında yapılan BCoV replikasyon kinetiği çalışmalarında en yüksek titre değeri pi 104. saatte belirlendi. Her üç virüs suşu için BEI ile inaktivasyon kinetiği çalışmaları gerçekleştirildi. Buna göre, BRV-G6 suşu 20. saatte tamamen inaktive olurken, BRV-G10 suşu 24. saatte ve BCoV-Mebus suşunun 9. saatte inaktive olduğu görüldü. Gerek BRV gerekse BCoV suşları için optimal MOI değeri 0,1 olarak belirlendi.

*Bu çalışma TÜBİTAK-KAMAG tarafından desteklenmektedir (Proje No: 118 G 012)

Anahtar Kelimeler: Rotavirus, Coronavirus, Aşı geliştirme, Replikasyon kinetiği, İnaktivasyon kinetiği

POSTER BİLDİRİLER

P1: BOVİNE VİRAL DİYARE VİRUS YEREL AŞI SUŞLARININ (BVDV TR-21, TR-15 VE TR-26) REPLİKASYON VE İNAKTİVASYON KİNETİĞİNİN BELİRLENMESİ

Berfin KADİROĞLU¹, Kadir YEŞİLBAĞ²

¹Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

²Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

Sığırların viral diyare virusu (BVDV) ülkemizde ve dünyada oldukça yaygın olup hastalık kontrol ve önleme stratejileri arasında aşı uygulamaları önemli bir yer tutmaktadır. Özellikle endemik/yerel suşlara karşı çapraz koruma sağlayan, üretimi ve uygulama maliyeti düşük, güvenli ve etkili aşuların geliştirilmesi önem arz etmektedir. Ülkemizde yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen izolatların baskın genetik alt gruplarının BVDV-1I (%50'den fazla) ve BVDV-1f olduğu belirlenmiştir. Alt gruplar arasındaki serolojik benzerlik ve çapraz reaksiyonlar göz önüne alındığında Türkiye için uygun aşı suşlarının BVDV-1I (TR-21) ve BVDV-1f (TR-26) ve BVDV-2b (TR-15) olabileceği değerlendirildi. Bu çalışmada aşı adayı yerel BVDV suşlarının (TR-21, TR-26 ve TR-15) replikasyon ve inaktivasyon kinetiği verileri yer almaktadır. Aşı adayı suşlarının zamana bağlı çoğalma eğrilerini belirlemek amacıyla MDBK hücre kültürü (100.000 hücre/ml) hazırlanmış 24 gözlü pleytlere optimum MOI değerinde eşit hacimlerde virus ekimleri gerçekleştirildi. Hücre ekimini takiben ilk iki gün 6 saat aralıklarla, sonraki 3 gün 8 saat aralıklarla toplamda 5 gün süresince örnekler toplandı ve mikrotitrasyon testi uygulandı. İnaktivasyon kinetiğini belirlemek için virus stoğuna kimyasal bir inaktivan olan 1 mM Binary etilenimin (BEI) uygulandı. Deney başlangıcını takiben 6.saatte inaktivanlı ve inaktivasız virus süspansiyonundan örnekler alındı ve virus süspansiyonlarına mikrotitrasyon testi gerçekleştirildi. Bu uygulama inaktivasyon sürecinin 8., 10., 12., 14., 16., 18., 20., 22. ve 24. saatlerinde alınan örneklerde tekrar edildi. Her iki testte de virus üremesinin tespiti amacıyla indirekt immunperoksidaz monolayer assay (IIPMA) testi uygulandı. Çoğalma eğrisi verilerine göre TR-21 suşunun hücre kültürüne virus ekimini takiben 48. saatte (DKID50 değeri 10^{-5,75}), TR- 26 suşunun 12. saatte (DKID50 değeri 10⁻⁵) ve TR-15 suşunun ise 36. saatte (DKID50 değeri 10^{-4,5}) en yüksek titre değerlerine ulaştığı gösterildi. İnaktivasyon kinetiğine bakıldığında ise; TR-21 suşunun inaktivasyon işlemini takiben 16. saatte, TR-26 ve TR-15 suşlarının ise 10. saatte tamamen inaktive olduğu tespit edildi. Sonuç olarak aşı adayı yerel BVDV suşlarının çoğalma karakterleri belirlenerek aşı üretim sürecinde yüksek verimlilik sağlamak açısından özellikle virus titresi gibi öne çıkan kriterler tespit edilmiştir. Yerel aşı suşu olarak belirlenen 3 adet BVDV suşunun inaktivasyon koşulları detaylarıyla ortaya koyulmuştur. (Bu proje TÜBİTAK tarafından desteklenmektedir, Proje no: 119 O 571)

Anahtar Kelimeler: Yerli aşı, BVDV, Çoğalma eğrisi, İnaktivasyon kinetiği

P2: A DUAL FORMULATION OF SHEEPOX AND PPR VACCINES (P2VAC) PROVIDES PROTECTIVE IMMUNITY

Kadir YEŞİLBAĞ, Abidin Ercan YONUCU, Mehmet YALVAÇ, Murat DONEN, Mehmet BİLEN, Fatma ERGİN

Department of Virology, Bursa Uludag University, Faculty of Veterinary Medicine, Bursa, Türkiye
Vetal Animal Health Products, Adiyaman, Türkiye

Both sheeppox (SPP) and peste des petits ruminants (PPR) infections causes destructive effects on sheep production. Control of the both infections depends on vaccination programs and there are separate live vaccines for each. We studied a combined formulation of SPP and PPR vaccines. Vaccinal strains SPP-Bakirköy and PPR-Nigeria-75 were separately propagated in Vero cell line. After inoquity testing in laboratory animals the lyophilized vaccine formulation (P2Vac) included >102,5/per doses of each strain, sucrose and lactalbumine hydrolysate were tested in sheep for its imunofenecity. A single shut of 1 mlvaccine were applied. Safety testing in sheep and lambs was according to European Pharmacopie, CFR9 and OIE manuals. The animals were not previously vaccinated against sheeppox and PPR and free of antibodies to these infections. No side effects were recorded either in adult sheep (n=8) or in lambs (n:8). Over dose experiment was also resulted in safe indicating the inoquity of the combined formulation for all ages of sheep. For PPR, immunogenecity was demonstrated by ELISA while it was investigated by serum neutralization assay for sheeppox. As detected by ELISA, all the vaccinated animals were seroconverted to PPR over the titer 1:10. Serum neutralizing antibodies to SPPV were detected only in one sheep. At day 30 post vaccination a challenge study was performed for both viruses using pathogen strains. Vaccinated animals were completely protected against pathogen challenge. The success of SPPV-PPRV vaccine in sheep experiments was demonsrated.

P3: KOYUN KEÇİ ÇİÇEK AŞISI İLE AŞILANMIŞ SİĞİRLARDA LSD HASTALIĞINA KARŞI OLUŞAN İMMUN YANITIN FLOW CYTOMETRY İLE ARAŞTIRILMASI

Ayşe PARMAKSIZ¹, Orhan YAPICI²

¹Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

²Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Konya, Türkiye

Lumpy Skin Disease (LSD), Lumpy Skin Disease Virusunun (LSDV) neden olduğu, sığır ve evcil (Asya) su aygırlarını etkileyen ve Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü (OIE) tarafından bildirilmesi zorunlu hastalıklar listesinde yer alan önemli bir Capripoxvirus (CaPV) hastalığıdır. Bu çalışmada, ülkemizde sığırlarda LSD' ye karşı koruyucu amaçlı kullanılan koyun keçi çiçek aşısı ile aşılama sonucu oluşan bağışıklık yanıtı, ilk kez Flow Cytometry cihazı kullanılarak immunofenotipleme yöntemiyle ortaya konulması amaçlandı. Bakırköy Koyun Keçi Çiçek suşundan hazırlanan Koyun Keçi Çiçek Aşısı (Penpox-M) LSD virusu ile aynı genus (Capripoxvirus) içinde yer almaktadır. Ülkemizde Tarım ve Orman Bakanlığının aldığı karar ile 2014 yılında, iki virus arasındaki antijenik yakınlık dikkate alınarak, LSD mücadelesinde, koyun keçi çiçek aşısı (Penpox-M) aşı olarak tercih edilmiştir. Bu çalışma için Türkgeldi Tarım İşletmesi Müdürlüğünde bulunan (TİGEM) 3, 4, 5 ve 6 aylık 24 adet aşılanmamış buzağı kullanıldı. Çalışmada kullanılan buzağılara deri altı (S.C.) yolla subscapular bölgeye 5 koyun dozu (aşı dozu 5 ml) Penpox-M aşısı uygulandı. Aşılama öncesi ve sonrasında 4 ay boyunca toplam 12 kez (0., 5., 10., 15., 20., 21., 22., 28., 42., 60., 90. ve 120. gün) kan örnekleri alındı. Alınan EDTA'lı kan örneklerinden Flow Cytometry yöntemi ile immunofenotipleme (CD4, CD8, CD21) yapıldı. Bu hayvanlarda CD4 ve CD8 T lenfosit alt kümelerinin miktarı ve CD4:CD8 oranları başlangıçta (0. gün) belirlendi ve aşılamayı takip eden süreçteki değişimleri izlendi. Sırasıyla; 0., 5. ve 10. günlerde fizyolojik sınırlarda seyreden (1.49, 1.40 ve 1.31) CD4:CD8 oranlarının 15., 22. ve 28. günlerde artış şeklinde (1.98, 1.63, 1.76) dalgalanma gösterdiği tespit edildi. 120. gün sonunda elde edilen CD4:CD8 oranının başlangıçta ölçülen değerlere gerilemediği ve böylelikle hem humoral hem de hücrel bağışıklık belirteci olan CD4, CD8 ve CD21 T lenfosit alt kümelerinin 1.70 seviyesinde kaldığı gözlemlendi. *Bu proje T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü tarafından TAGEM/HSGYAD/A/19/A5/P1/1034 no ile desteklenmiştir.

Investigation of Immune Response to LSD Disease in Sheep and Goat Smallpox Vaccinated Cattle by Flow Cytometry

Lumpy Skin Disease is an important Capripoxvirus (CaPV) disease caused by Lumpy Skin Disease Virus (LSDV), affecting cattle and domestic (Asian) hippos, and included in the list of diseases that must be reported by the World Organization for Animal Health (OIE). In this study, it was aimed to reveal the immune response resulting from vaccination with sheep goat pox vaccine, which is used for protection against LSD in cattle in our country, by immunophenotyping method using Flow Cytometry device for the first time. Sheep Goat Smallpox Vaccine (Penpox-M), prepared from Bakırköy Sheep Goat Smallpox strain, is in the same genus (Capripoxvirus) as LSD virus. With the decision taken by the Ministry of Agriculture and Forestry, in 2014, considering the antigenic closeness between the two viruses, sheep and goat pox vaccine (Penpox-M) was preferred as a vaccine in our country in the fight against LSD. For the study, 24 unvaccinated calves of 3, 4, 5 and 6 months old in Türkgeldi Agricultural Enterprise Directorate were used. The calves used in the study were vaccinated with 5 sheep doses (vaccine dose 5 ml) of Penpox-M vaccine to the subscapular region by subcutaneous (S.C.) route. Before and after vaccination, blood samples were taken 12 times (0., 5., 10., 15., 20., 21., 22., 28., 42., 60., 90. ve 120. day) in total during 4 months. Immunophenotyping (CD4, CD8, CD21) was performed using Flow Cytometry method from the EDTA blood samples. The amount of CD4 and CD8 T lymphocyte subsets and CD4:CD8 ratios were determined at baseline (day 0) in these animals and their changes were monitored following vaccination. Respectively; it was determined that CD4:CD8 ratios, which were within physiological limits (1.49, 1.40, and 1.31) on days 0, 5, and 10, fluctuated as an increase (1.98, 1.63, 1.76) on days 15, 22, and 28. It was observed that the CD4:CD8 ratio obtained at the end of the 120th day did not regress to the values measured at the beginning. Thus, CD4, CD8 and CD21 T lymphocyte subsets, which are markers of both humoral and cellular immunity, remained at the level of 1.70.

*This project, It was supported by T.C. the Ministry of Agriculture and Forestry, General Directorate of Agricultural Research and Policies with the number TAGEM/HSGYAD/A/19/A5/P1/1034.

Lumpy Skin Disease, LSD, İmmun Yanıt, Flow Cytometry

P4: BELİRSİZ TEHLİKE: LYME

İrem KALAYCI¹, İlayda ÖZHAN¹, Yusuf ER¹, Beyza Betül ALDATMAZ¹, Ayşe Ceren MEMİŞ¹, Dilan GENÇ¹, Sıla ÇAKIR¹, İlayda ORDU¹, Hatice ÖZYILDIRIM¹, Burçak YAVUZ², Aslı Pınar ZORBA YILDIZ¹

¹İstinye Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

²Altınbaş Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

Belirsiz Tehlike: LYME

Özet ve Amaç: Lyme Hastalığı (LH), Kırım Kongo Kanamalı Ateşi, Tularemi, Babesiyoz ve Kolorado Kene Ateşi kenelerin neden olduğu hastalıklardandır. Bu hastalık en çok *Ixodes scapularis* (geyik kenesi), *Borrelia burgdorferi* adlı spiroketin, kalp, eklem ve sinir sistemine bulaşarak deformitelere yol açtığı bir hastalıktır. Kene ısırığı ile tükürük veya kene dışkısının bulaşması yoluyla deride lokal veya kan ve lenf sisteminde sistemik etki gösterebilir. Hastalık sadece kenelerle değil; at sinekleri, sivrisinekler ve geyik sinekleriyle de bulaşabilmektedir. Bu hastalığa karşı geliştirilecek aşı çalışmaları ve uygunabilir tanı sistemlerinin keşfi oldukça önemlidir.

Bulgular: İlk vaka 1975 yılında Connecticut'ta yer alan Lyme bölgesindeki çocuklarda görüldüğünden hastalık bu ismi almıştır. Hastalık bölgede görülen çok sayıdaki artrit vakası nedeniyle yapılan incelemeler sonucu ortaya çıkmıştır. Ülkemizde ise ilk Lyme vakaları 1990 yılından sonra görülmeye başlamıştır. Lyme hastalığının romatoid artrit, epilepsi, kalp hastalıkları ve menenjit gibi birçok hastalığı taklit etmesi tanıyı zorlaştırmaktadır. Hastalığın erken evresinde kene ısırığından sonra 7-14 gün içinde hastaların %60-80'inde Eritema Cronicum Migrans (ECM) (boğa gözü görünümünde deri döküntüsü) görülür. Özellikle kalça, kasık, diz arkası ve koltuk altı gibi gizli bölgelerde görülen ECM tanı koymayı kolaylaştıran önemli bir bulgudur. ECM'de genellikle ağrı ve kaşıntı görülmez. Vücudun hemen hemen her bölgesinde görülebildiği gibi çocuklarda özellikle baş-boyun, kol ve bacaklar, sırt ve karın bölgesinde görülmektedir. Lyme hastalığının en sık 15 yaş altı çocuklarda ve 30-59 yaş arası erişkinlerde görüldüğü bildirilmiştir. *Borrelia burgdorferi* giemsa ve gümüşleme boyama yöntemleri ile tespit edilmektedir. Rutin laboratuvar testleri tanı koymada etkili değildir. Hastalığın ortaya çıkmasından 4-6 hafta sonrasında yapılan serolojik testler tanıyı doğrular. Pozitif çıkan testler western blot ile desteklenmelidir. Sinoviyal sıvılardan alınan örneklerde PCR testi etkilidir. Eğer hastada nörolojik bulgular varsa BOS örneğiyle çalışılması gerekir. Tetrasiklin ve β -laktam antibiyotikler *Borrelia burgdorferi*'ye etki ettiklerinden dolayı tedavide kullanılabilir. Lyme hastalığına karşı yapılan aşı çalışmaları oldukça önemlidir. *Borrelia*'nın dış yüzeyinde bulunan Protein A (OspA) antijeni kullanılarak yapılan rekombinant aşılarda klinik olarak denenmektedir. Yapılan deneme sonucunda rekombinant OspA ile yapılan aşının %79 oranında *Borrelia burgdorferi*'ye karşı koruma sağladığı bildirilmiştir.

Sonuçlar: Sonuç olarak Lyme hastalığı 117 ülkede resmi olarak bu hastalık tespit edilmiş olsa da, birçok hastalığı taklit etme yeteneğinde olan bu bakterinin tanısındaki zorluklar hastalığın daha yaygın olabileceğine dikkat çekmektedir. Meme kanserinden, yüksek kolestrole, şizofreniden, küf hassasiyetine kadar birçok hastalık ile ilişkilendirilen bu hastalığın tanısında gelişmiş moleküler yöntemlerin ve monoklonal antikor teknolojisine dayalı serolojik sistemlerin geliştirilmesi, tam olarak nedeni belirlenemeyen vakaların Lyme enfekte olma durumuyla ilgili bilgileri daha da netleştirecektir. Özellikle korunumun aşı yolu ile sağlanması bu hastalığın ve etkilerinin getireceği olumsuz sonuçlardan birçok insanı koruma altına alacaktır. Bu nedenle tam olarak sabit etkileri olmayan bu hastalığa karşı yeni nesil aşılarda geliştirilmesi ve hedefe yönelik terapötik ajanların üretilmesi oldukça önemlidir.

KAYNAKÇA

1. NUHOĞLU İRFAN, AYDIN MURAT, TÜREDİ SÜLEYMAN, GÜNDÜZ ABDÜLKADİR, TOPBAŞ MURAT (2008), KENE İLE BULAŞAN HASTALIKLAR, TAF PREVENTİVE MEDİCİNE BULLETİN, 7(5), 461-468.
2. İŞERİ LATİFE, DURMAZ BENGÜL (2000), BORRELIA VE LYME HASTALIĞI, TURGUT ÖZAL TIP MERKEZİ DERGİSİ, 7(3), 287-292.
3. GAZYAÇCI AYCAN NURİYE, AYDENİZÖZ MERAL (2010), KENELER VE KENELERİN TAŞIDIĞI BAZI ÖNEMLİ HASTALIKLAR, TÜRKİYE PARAZİTOLOJİ DERGİSİ, 34(2), 131-136.
4. ŞEN ECE (2006), LYME HASTALIĞININ EPİDEMİYOLOJİSİ, TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ, 36(1), 55-66.
5. KESKİN OKTAY, İZGÜR MÜJGAN (1998), LYME HASTALIĞI, A.Ü. VETERİNER FAKÜLTESİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI, 79-91.
6. BAYKAN MÜGE, ÇAĞLAR İLKNUR, BAYRAM SÜLEYMAN NURİ, DEVRİM İLKER (2019), ÇOCUK YAŞ GRUBUNDA ERKEN LOKALİZE LYME HASTALIĞI: OLGU SUNUMU, TÜRK PEDIATRİ ARŞİVİ, 54(4), 264-266.

P5: İNAKTİF ŞAP AŞISI İLE ATTENÜE MAVİDİL AŞISININ KOYUNLARDA BİRLİKTE KULLANILMASI

Sevil SARDOĞAN¹, Oya BULUT², Veli GÜLYAZ³

¹Şap Enstitüsü, Ankara, Türkiye

²Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, KONYA, Türkiye

³Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, ŞANLIURFA, Türkiye

Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü (OIE) tarafından önemli hastalıklar listesinde sınıflandırılan şap ve mavidil hastalıkları evcil ve vahşi ruminantları ciddi şekilde etkileyen ve büyük ekonomik kayıplara neden olan önemli viral hastalıklar arasındadır. Her iki hastalığa karşı mücadelede en önemli yöntem aşılama. Ülkemizde hayvan hastalıkları ile mücadelede uygulanan aşılama programlarında sahada iş yükü ve zaman kayıplarının önüne geçilmesi aynı zamanda hayvan refahı açısından aşılama kombine ya da eş zamanlı (simultane) olarak uygulanması pratik ve etkili bir seçenektir. Bu araştırmada koyunlarda inaktif şap aşısı ile attenüe mavidil aşısı ayrı ayrı ve eş zamanlı olarak uygulanarak her iki aşıya karşı oluşan humoral immun yanıt değerlendirildi.

Bu çalışmada doğumlarından itibaren hiçbir aşı uygulaması yapılmamış, şap ve mavidil antikorları taşımayan 6 aylık 75 adet Akkaraman-Kıvırcık melezi koyun kullanıldı. Çalışma materyalini oluşturan koyunlar 3 gruba ayrılarak gruplar sadece şap aşısı, sadece mavidil aşısı, şap ve mavidil aşısı ile eş zamanlı olarak aşılandı. Aşılama sonrası 30. gün ve 60. günlerde koyunlardan kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri şap ve mavidil antikorları yönünden virus nötralizasyon testi ile değerlendirildi. Gruplara ait elde edilen şap ve mavidil antikor ortalama titre değerleri istatistiki olarak karşılaştırıldı.

Araştırma sonucunda şap ve mavidil aşılama tek uygulandığı gruplar ile birlikte uygulandığı gruba ait şap ve mavidil antikor ortalama titre değerleri arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark bulunmadığı ($P>0,05$) tespit edildi. Sonuç olarak şap ve mavidil aşısı birlikte uygulandığında her iki aşıya karşı oluşan antikor titrelerinin, aşılama tek uygulandığı gruplara ait antikor titreleri ile paralellik gösterdiği ve koyunlarda şap ve mavidil aşılama birlikte uygulanabileceği kanaatine varıldı.

Anahtar kelimeler: Aşılama, koyun, şap, mavidil, simultane

P6: NEW GENERATION ADJUVANT NOMINEE IN VACCINE DEVELOPMENTS: MESOPOROUS SILICA NANOPARTICLES AND PHYSICOCHEMICAL CHARACTERISTICS

Nursu ERDOĞAN¹, Ayşenur PAMUKÇU¹, Aylin KORKMAZ², Özlem YILDIZ², Didem ŞEN KARAMAN³, Gülşah EREL AKBABA⁴

¹Biomedical Technologies Program Graduate School of Natural and Applied Sciences, Izmir Katip Celebi University, Izmir 35620, Türkiye

²Biomedical Engineering Program Graduate School of Natural and Applied Sciences, Izmir Katip Celebi University, Izmir 35620, Türkiye

³Department of Biomedical Engineering Faculty of Engineering and Architecture, Izmir Katip Celebi University, Izmir 35620, Türkiye

⁴Department of Pharmaceutical Biotechnology, Faculty of Pharmacy, Izmir Katip Celebi University, Izmir 35620, Türkiye

Mesoporous silica nanoparticles (MSNs) are emerging nanocarriers being investigated for use in both diagnostic and therapeutic purposes in many studies. Their unique properties due to tunable size and porous structure, high surface area to volume ratio, silica matrix are beneficial for carrying of biological agents, improving bioavailability, adjusting cargo release profiles, and imaging gave rise to incorporate them in vaccine developments as nanoadjuvants. Even though conventional adjuvants such as aluminum salts have been used for many years, nanoadjuvants are favorable since providing to antigens stability by protecting them from physiological environments, also they can enhance antigens' half -time, minimize systemic toxicity, provide immunomodulation or immunopotential and even natural immunity regulation.

Literature studies stated that immune activation modulation and further increased immune responses to antigens can be performed by controlling physicochemical characteristics of nanoadjuvants such as size, surface charge, morphology, loading capacity and surface chemistry. It is lead to selection of the most beneficial adjuvant formulation and ensure to serve as a multifunctional design in vaccine developments.

In our study, we aimed to design a novel MSNs and optimize their physicochemical characteristics and investigate potency of MSNs as nanoadjuvant to take place in varied vaccine formulations. Our investigations showed that mono dispersed MSNs within the hydrodynamic size ranges 150-450 nm and pore volume ranges 7-13 nm and tuning the net surface charge to high positive values have a predominant effect for improving their antigen carrying abilities to be tested for immune activation in the future of the study.

Nanoadjuvant, Mesoporous silica nanoparticles, vaccine development

P7: BOVİNE VİRAL DİYARE VİRUS YEREL AŞI SUŞLARININ (BVDV TR-21, TR-15 VE TR-26) REPLİKASYON VE İNAKTİVASYON KİNETİĞİNİN BELİRLENMESİ

Berfin KADİROĞLU¹, Kadir YEŞİLBAĞ²

¹Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Diyarbakır, Türkiye

²Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Bursa, Türkiye

Sığırların viral diyare virusu (BVDV) ülkemizde ve dünyada oldukça yaygın olup hastalık kontrol ve önleme stratejileri arasında aşı uygulamaları önemli bir yer tutmaktadır. Özellikle endemik/yerel suşlara karşı çapraz koruma sağlayan, üretimi ve uygulama maliyeti düşük, güvenli ve etkili aşuların geliştirilmesi önem arz etmektedir. Ülkemizde yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen izolatların baskın genetik alt gruplarının BVDV-1I (%50'den fazla) ve BVDV-1f olduğu belirlenmiştir. Alt gruplar arasındaki serolojik benzerlik ve çapraz reaksiyonlar göz önüne alındığında Türkiye için uygun aşı suşlarının BVDV-1I (TR-21) ve BVDV-1f (TR-26) ve BVDV-2b (TR-15) olabileceği değerlendirildi. Bu çalışmada aşı adayı yerel BVDV suşlarının (TR-21, TR-26 ve TR-15) replikasyon ve inaktivasyon kinetiği verileri yer almaktadır. Aşı adayı suşlarının zamana bağlı çoğalma eğrilerini belirlemek amacıyla MDBK hücre kültürü (100.000 hücre/ml) hazırlanmış 24 gözlü pleytlere optimum MOI değerinde eşit hacimlerde virus ekimleri gerçekleştirildi. Hücre ekimini takiben ilk iki gün 6 saat aralıklarla, sonraki 3 gün 8 saat aralıklarla toplamda 5 gün süresince örnekler toplandı ve mikrotitrasyon testi uygulandı. İnaktivasyon kinetiğini belirlemek için virus stoğuna kimyasal bir inaktivan olan 1 mM Binary etilenimin (BEI) uygulandı. Deney başlangıcını takiben 6. saatte inaktivanlı ve inaktivansız virus süspansiyonundan örnekler alındı ve virus süspansiyonlarına mikrotitrasyon testi gerçekleştirildi. Bu uygulama inaktivasyon sürecinin 8., 10., 12., 14., 16., 18., 20., 22. ve 24. saatlerinde alınan örneklerde tekrar edildi. Her iki testte de virus üremesinin tespiti amacıyla indirekt immunperoksidaz monolayer assay (IIPMA) testi uygulandı. Çoğalma eğrisi verilerine göre TR-21 suşunun hücre kültürüne virus ekimini takiben 48. saatte (DKID50 değeri 10^{-5,75}), TR-26 suşunun 12. saatte (DKID50 değeri 10⁻⁵) ve TR-15 suşunun ise 36. saatte (DKID50 değeri 10^{-4,5}) en yüksek titre değerlerine ulaştığı gösterildi. İnaktivasyon kinetiğine bakıldığında ise; TR-21 suşunun inaktivasyon işlemini takiben 16. saatte, TR-26 ve TR-15 suşlarının ise 10. saatte tamamen inaktive olduğu tespit edildi. Sonuç olarak aşı adayı yerel BVDV suşlarının çoğalma karakterleri belirlenerek aşı üretim sürecinde yüksek verimlilik sağlamak açısından özellikle virus titresi gibi öne çıkan kriterler tespit edilmiştir. Yerel aşı suşu olarak belirlenen 3 adet BVDV suşunun inaktivasyon koşulları detaylarıyla ortaya koyulmuştur. (Bu proje TÜBİTAK tarafından desteklenmektedir, Proje no: 119 O 571)

Anahtar kelimeler: Yerli aşı, BVDV, Çoğalma eğrisi, İnaktivasyon kinetiği

P8: BIOGENIC GOLD NANOPARTICLES FROM STREPTOMYCES SP. M137-2 AS VACCINE ADJUVANTS

Nefise ÜNLÜER^{1,*}, Aytül GÜL^{2,3,4,*}, E. Esin HAMEŞ^{1,3,4}

¹Department of Biotechnology, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Ege University, İzmir, Türkiye

²Vaccine Development, Application and Research Center (EGE-AGEM), Ege University, İzmir, Türkiye

³Department of Bioengineering, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Ege University, İzmir, Türkiye

⁴Department of Bioengineering, Faculty of Engineering, Ege University, İzmir, Türkiye

*These authors contributed equally: Nefise ÜNLÜER and Aytül GÜL

The biosynthesis of gold nanoparticles (AuNPs), called biogenic AuNPs, provides the synthesis of more stable and monodisperse AuNPs, non-toxic, environmentally friendly, and cost-effective instead of conventional synthesis methods, has been attaining a surge of interest in recent years. Herein we describe its adjuvanticity by comparing microbiologically synthesized AuNPs with alum, a widely used commercial adjuvant. In our previous study, the synthesis of AuNPs, which are spheres around 60 nm, was performed using a cell-free fermentation broth of *Streptomyces* sp. M137-2. In the present study, bovine serum albumin (BSA) as the model protein antigen was conjugated onto AuNPs, and BSA-conjugated AuNPs were characterized by UV-vis spectroscopy, Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) and scanning electron microscopy (SEM). Moreover, the cytotoxicity, TNF- α , and IL-6 cytokine levels and cellular uptake of BSA-conjugated gold nanoparticles were compared with BSA absorbed onto alum, *in vitro* studies using human monocytic cell line (U937 cells) differentiated into macrophages. In the cytotoxicity assay, BSA-conjugated AuNPs and alum showed high viability (over 70%) in the macrophage cells. Furthermore, TNF- α and IL-6 cytokine levels of the macrophage cells induced with BSA-conjugated AuNPs were 3-fold ($p < 0.05$) and 2-fold ($p < 0.05$) higher than that induced by BSA absorbed onto alum, respectively. The adjuvanticity of the biogenic AuNPs was likely due to inducing a strong inflammatory response and an increase in the uptake of the antigen by the macrophage cells. This study is the first report that biogenic AuNPs synthesis by microorganisms has the potential to serve as a vaccine adjuvant.

Keywords: Gold nanoparticles; *Streptomyces*; Green synthesis; Adjuvanticity; Antigen uptake; Cytokines; Biocompatible; U937 cells.

Acknowledgements: This study was financially supported by Aliye Üster Foundation

References

- Carabineiro SAC. Applications of Gold Nanoparticles in Nanomedicine: Recent Advances in Vaccines. *Molecules*. 2017 May 22;22(5):857. <https://doi.org/10.3390/molecules22050857>.
- Sibuyi NRS, Moabelo KL, Fadaka AO, Meyer S, Onani MO, Madiehe AM, Meyer M. Multifunctional Gold Nanoparticles for Improved Diagnostic and Therapeutic Applications: A Review. *Nanoscale Res Lett*. 2021;16(1):174. <https://doi.org/10.1186/s11671-021-03632-w>.
- Singh P, Pandit S, Mokkalapati VRSS, Garg A, Ravikumar V, Mijakovic I. Gold Nanoparticles in Diagnostics and Therapeutics for Human Cancer. *Int J Mol Sci*. 2018;19(7):1979. <https://doi.org/10.3390/ijms19071979>.

P9: VACCINE AS A REMEDY FOR ANTIBIOTIC RESISTANCE

Aytül GÜL^{1,2,3}, Ceren GÜL^{1,4}, Tuğba KARAKAVUK^{1,4}, Sedef ERKUNT ALAK¹

¹Vaccine Development, Application and Research Center (EGE-AGEM), Ege University, İzmir, Türkiye

²Department of Bioengineering, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Ege University, İzmir, Türkiye

³Department of Bioengineering, Faculty of Engineering, Ege University, İzmir, Türkiye

⁴Department of Biotechnology, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Ege University, İzmir, Türkiye

Antibiotic resistance (AR) has grown rapidly and significantly in recent decades due to overuse, improper prescription, widespread use in the veterinary and agricultural industries, and a lack of new antibiotic development by the pharmaceutical industry. AR is a silent pandemic, causing more than 700,000 deaths per year worldwide and is one of the ten global health problems listed by the WHO. If new therapeutics are not developed against antibiotic-resistant bacteria, it is predicted that 10 million lives will be lost per year worldwide within 30 years because of AR. The creation of new antibiotics to combat resistant diseases will only provide temporary protection for society as they will eventually re-establish resistance. Unlike antibiotics, vaccines do not develop resistance in pathogens and induce herd and community immunity, which can protect people from the disease for a few months or for a lifetime. Vaccines against pathogens may help to prevent the emergence and spread of AR by reducing antibiotic use and diminishing the prevalence of the resistant pathogen. One of the best examples of this situation is the vaccines developed against *Streptococcus pneumoniae* (pneumococcus). Currently, 7-valent Prevenar® (PCV7), 10-valent Synflorix® (PCV10), and 13-valent Prevenar13® (PCV13) vaccines have been developed against pneumococcus. After the introduction of the PCV7 vaccine in 2000, the proportion of cases of invasive pneumococcal disease caused by seven serotypes, including antibiotic-resistant strains, has decreased significantly. However, with the emergence of serotypes not included in PCV7 within 3 years, the incidence of antibiotic-resistant invasive pneumococcal disease started to increase again. Both antibiotic use and the prevalence of antibiotic-resistant strains have diminished with the introduction of PCV13, which has expanded serotype coverage. Unfortunately, it is very difficult to develop vaccines containing all strains or serotypes of a pathogen. There is always a risk of AR against strains and serotypes not included in vaccines. Therefore, the development of vaccines consisting of conserved proteins between different strains or serotypes may be a remedy to the AR threat.

Keywords: Vaccine; Antibiotic; Antibiotic resistance; Public health.

References

Church NA, McKillip JL. Antibiotic resistance crisis: challenges and imperatives. *Biologia*. 2021;76:1535–50. <https://doi.org/10.1007/s11756-021-00697-x>

O'Neill J. Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations. 2014. Available from: https://amr-review.org/sites/default/files/AMR%20Review%20Paper%20-%20Tackling%20a%20crisis%20for%20the%20health%20and%20wealth%20of%20nations_1.pdf. Accessed 14 Oct 2022.

Micoli F, Bagnoli F, Rappuoli R, Serruto D. The role of vaccines in combatting antimicrobial resistance. *Nat Rev Microbiol*. 2021;19(5):287-302. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00506-3>.

Mishra RP, Oviedo-Orta E, Prachi P, Rappuoli R, Bagnoli F. Vaccines and antibiotic resistance. *Curr Opin Microbiol*. 2012;15(5):596-602. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2012.08.002>

Ventola CL. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *P T*. 2015;40(4):277-83.

World Health Organization (WHO). 10 global health issues to track in 2021. Available from: <https://www.who.int/news-room/spotlight/10-global-health-issues-to-track-in-2021>. Accessed 14 Oct 2022.

P10: TOXOPLASMA GONDII VACCINE STUDIES AND INSECT CELL CULTURE

Seren KAPLAN^{1,2}, Tuğba KARAKAVUK³, Ceren GÜL³, Aytül GÜL^{2,4}, Sedef ERKUNT ALAK², Muhammet KARAKAVUK^{2,5}, Hüseyin CAN^{2,6}, Aysu DEĞİRMENCİ DÖŞKAYA^{1,2,7}, Adnan Yüksel GÜRÜZ^{1,2,7}, Mert DÖŞKAYA^{1,2,7}

¹Department of Vaccine Studies, Institute of Health Sciences, Ege University, Izmir, Türkiye

²Ege University Vaccine Development, Application and Research Center (EGE-AGEM), Izmir, Türkiye

³Department of Biotechnology, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Ege University, Izmir, Türkiye

⁴Department of Bioengineering, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Ege University, Izmir, Türkiye

⁵Ödemiş Vocational School, Ege University, Izmir, Türkiye

⁶Department of Molecular Biology, Faculty of Science, Ege University, Izmir, Türkiye

⁷Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Ege University, Izmir, Türkiye

The parasite known as *Toxoplasma gondii* is thought to chronically infect 30% of the world's population. For this reason, vaccine studies specific to *T. gondii* are important. Toxovax, a live-attenuated vaccine (produced against tachyzoites of the S48 strain), is the only toxoplasmosis vaccine in the world. In addition, it has disadvantages such as being used only in veterinary applications and having a short shelf life of ten days. There is a need for targeted vaccines and innovative vaccine strategies against the *T. gondii* parasite, which also has a critical impact on humans. It is expected that a successful vaccine study will have an equivalent in the industry. For this reason, it may be advantageous to optimize the developed vaccine production strategies and choose the conditions in accordance with the industry. At this point, working conditions with insect cell cultures can be evaluated as an advantage. For example, the advantages of insect cell cultures are short doubling time, ability to produce eukaryotic proteins with post-translational modifications, possibility to work in serum-free medium and in suspended culture, and also production conditions within appropriate value ranges. Baculovirus systems are used as transfection vectors together with insect cell cultures used in recombinant protein vaccines and virus-like particle (VLP) vaccines. It is stated in the literature that this system, which is non-pathogenic and frequently used in gene therapies, works with high efficiency and has the capacity to express large gene regions. In vaccine studies developed against *T. gondii*, studies were conducted with Sf9 (cells obtained from ovarian cells of *Spodoptera frugiperda*) cells. For example, in one study, vaccines with virus-like particles containing rhoptry organelle proteins ROP4 and ROP13, which play a critical role during the invasion of the parasite into the host cell, and influenza M1 were produced. In another study focus on a VLP vaccine strategy, SAG1, a surface antigen of *T. gondii* was produced using Sf9 cell line. These studies with successful results proved that insect cell culture-VLP systems have an important place in *T. gondii* vaccine studies.

Keywords: *Toxoplasma gondii*; insect cell culture; baculovirus; virus-like particles; vaccines

References

- Choi WH, Park JS. Immunogenicity and Protective Effect of a Virus-Like Particle Containing the SAG1 Antigen of *Toxoplasma gondii* as a Potential Vaccine Candidate for Toxoplasmosis. *Biomedicines*. 2020 Apr 18;8(4):91. doi:10.3390/biomedicines8040091. PMID: 32325746; PMCID: PMC7235809.
- Chu KB, Quan FS. Advances in *Toxoplasma gondii* Vaccines: Current Strategies and Challenges for Vaccine Development. *Vaccines (Basel)*. 2021 Apr 21;9(5):413. doi: 10.3390/vaccines9050413. PMID: 33919060; PMCID: PMC8143161.
- Cox MMJ. Innovations in the Insect Cell Expression System for Industrial Recombinant Vaccine Antigen Production. *Vaccines (Basel)*. 2021 Dec 20;9(12):1504. doi: 10.3390/vaccines9121504. PMID: 34960250; PMCID: PMC8707663.
- Kang HJ, Chu KB, Lee SH, Kim MJ, Park H, Jin H, Moon EK, Quan FS. *Toxoplasma gondii* virus-like particle vaccination alleviates inflammatory response in the brain upon *T. gondii* infection. *Parasite Immunol*. 2020 Jun;42(6):e12716. doi:10.1111/pim.12716. Epub 2020 Apr 20. PMID: 32249951.
- Pijlman GP, Grose C, Hick TAH, Breukink HE, van den Braak R, Abbo SR, Geertsema C, van Oers MM, Martens D.E, Esposito D. Relocation of the attTn7 Transgene Insertion Site in Bacmid DNA Enhances Baculovirus Genome Stability and Recombinant Protein Expression in Insect Cells. *Viruses*. 2020 Dec16;12(12):1448. doi:10.3390/v12121448. PMID: 33339324; PMCID: PMC7765880.
- van Oers MM, Pijlman GP, Vlak JM. Thirty years of baculovirus-insect cell protein expression: from dark horse to mainstream technology. *J Gen Virol*. 2015 Jan;96(Pt 1):6-23. doi: 10.1099/vir.0.067108-0. Epub 2014 Sep 22. PMID:25246703.
- Zhao XY, Ewald SE. The molecular biology and immune control of chronic *Toxoplasma gondii* infection. *J Clin Invest*. 2020 Jul 1;130(7):3370-3380. doi:10.1172/JCI136226. PMID: 32609097; PMCID: PMC7324197.



Dalya Turizm Organizasyon Hizmetleri

FERHAT EBRET

ferhat@dalyatur.com

Telefon: 0232464 88 30

Latife Hanım, 7683. Sk. No:15, 35570 Karşıyaka / İzmir

www.abk2022.com