



# COVID-19'a Karşı Türkiye'deki Aşı Çalışmaları

Dr. Özlem Ak [ TÜBİTAK Bilim ve Teknik Dergisi

# “BİRLİKTE GELİŞTİRMEK, BİRLİKTE BAŞARMAK”

**11** Mart 2020 tarihinde, Dünya Sağlık Örgütü COVID-19’u pandemi ilan ettiği gün, ülkemizde de ilk vaka görüldü. 26 Mart 2020’de TÜBİTAK COVID-19 mücadelesinde mevcut desteklerine ek olarak özel bir hızlı destek çağrısına çıktı. Ülkemizde ve dünyada COVID-19 ile ilgili bir araya getirilen güncel verilere ek olarak tedavi ve aşı çalışmaları hakkında bilgi ve gelişmelerin yer aldığı, T.C. Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı himayelerinde, TÜBİTAK MAM Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsünün koordinasyonunda COVID-19 Platformu kuruldu. Bu platform çatısı altında 32 üniversiteden 118 araştırmacı, 8 özel sektör kuruluşundan 38 araştırmacı, 9 kamu Ar-Ge biriminden 67 araştırmacı, 167’si STAR bursiyeri olmak üzere 213 bursiyer COVID-19’a karşı ülkemizde yürütülen aşı ve ilaç araştırmalarında yer aldı. TÜBİTAK Başkanı Prof. Dr. Hasan Mandal’ın da söylediği gibi “birlikte geliştirmek, birlikte başarmak” yolunda tüm bilim insanlarımızın dâhil olduğu önemli bir iş birliği başladı. İlki 2 Nisan’da gerçekleştirilen COVID-19 Türkiye Platformu Aşı ve İlaç Geliştirme Sanal Konferansı’nda ve sonraki iki sanal konferansta bilim insanlarımız aşı ve ilaç geliştirme çalışmalarıyla ilgili gelişmeleri paylaştı. Platform kapsamında inaktif aşı, adenovirüs aşısı, virüs benzeri parçacıklara dayanan aşı, dünyada ilk kez geliştirilen ASC zerrecik teknolojisine dayalı rekombinant aşı adayı, DNA aşısı, mRNA aşısı, rekombinant spike proteini aşısı gibi aşı çalışmaları devam ediyor. Son bir yıldır ülkemizdeki bu aşı araştırmaları yolculuğunda neler yapıldı ve hangi aşamaya gelindi hep beraber bir göz atalım...



# COVID-19 ve Aşı Çalışmaları

**Prof. Dr. Aykut Özdarendeli,**

**Erciyes Üniversitesi  
Aşı Araştırma,  
Geliştirme ve  
Uygulama Merkezi  
(ERAGEM)**

Erciyes Üniversitesi Aşı Araştırma, Geliştirme ve Uygulama Merkezinde (ERAGEM) COVID-19'a karşı geliştirilen ve T.C. Sağlık Bakanlığı ile Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığı (TÜSEB) tarafından desteklenen projelerinde, Prof.

Dr. Aykut Özdarendeli ve ekibi, Türkiye'de ilk vaka ortaya çıktıktan hemen sonra virüsü izole etmek için çalışmaya başladılar. Ardından virüsün tam büyüklükteki genom dizilimini ortaya çıkardılar ve kendi verilerini dünyada ilk izole edilen suşla karşılaştırdıklarında küçük mutasyonlara rastladılar. Bu gen mutasyonlarından sadece iki tanesinin amino asit düzeyinde mutasyona neden olduğunu ve izole edilen suşun Wuhan suşundan farklı olduğunu tespit ettiler. Bu genetik çalışmadan sonra ülkemizde (en azından Kayseri'de)

izole edilen suşun özellikle Avustralya, Yeni Zelanda, İngiltere ve Kuveyt'te görülen suşlarla genetik benzerlik gösterdiğini tespit ettiler. Ardından inaktif aşıda bilinen klasik yöntemleri kullanarak aşı/antijen elde etmeyle ilgili çalışmalarını sürdürdüler. Bu inaktif aşı adayının farelerde bağışıklık yanıtı ve nötralizan antikor oluşturup oluşturmadığını anlamak için deneyler yaptılar. Deneysel olarak elde edilen inaktif aşı adayının bağışıklık yanıtı geliştirdiği ve koruyucu olduğu gösterildi. Koruyucu etkinliğinin tespiti için yapılan ve "challenge test" denilen testler klinik öncesi çalışmalarla tamamlandı. Bu testlerde özellikle aşılanmış hayvanlardan alınan organlarda virüsün izolasyonu yapılmaya çalışıldı ama koruyuculuk olduğu için herhangi bir virüs saptanmadı. Bununla birlikte kontrol grubunda hem ölümler hem de virüs saptandı.

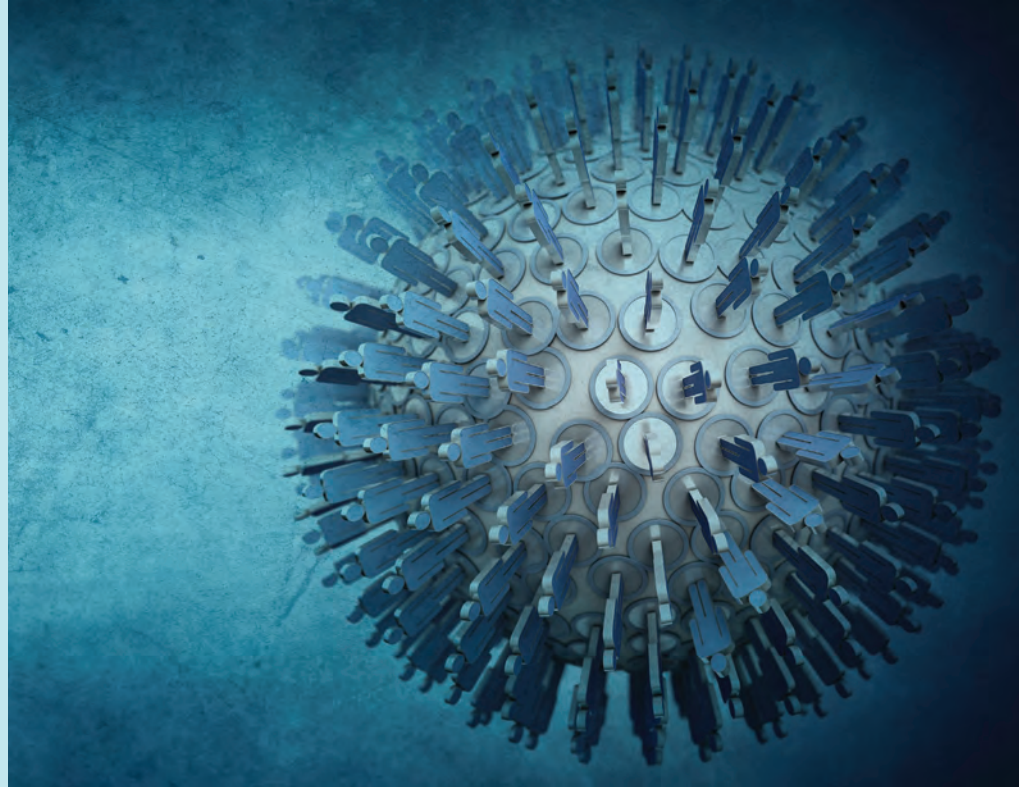
Hücrel bağışıklık, kararlılık, toksisite ve kalite kontrol ile ilgili yapılan çalışmaların ardından Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumundan (TİTCK) Faz I çalışma izni alan Prof. Dr. Aykut Özdarendeli ve ekibi, 5 Kasım 2020 tarihinde ilk gönüllüye Koçak Farma şirketinde GMP-BSL-3 şartlarında ürettikleri inaktif aşığı uyguladılar. Taranan 69 gönüllüden kriterlere uygun olan 44 tanesi çalışmaya dâhil edildi. Faz I çalışmasının en önemli bileşeni güvenlik olduğu için öncelikle düşük doz ve orta dozun güvenlik değerlendirilme-

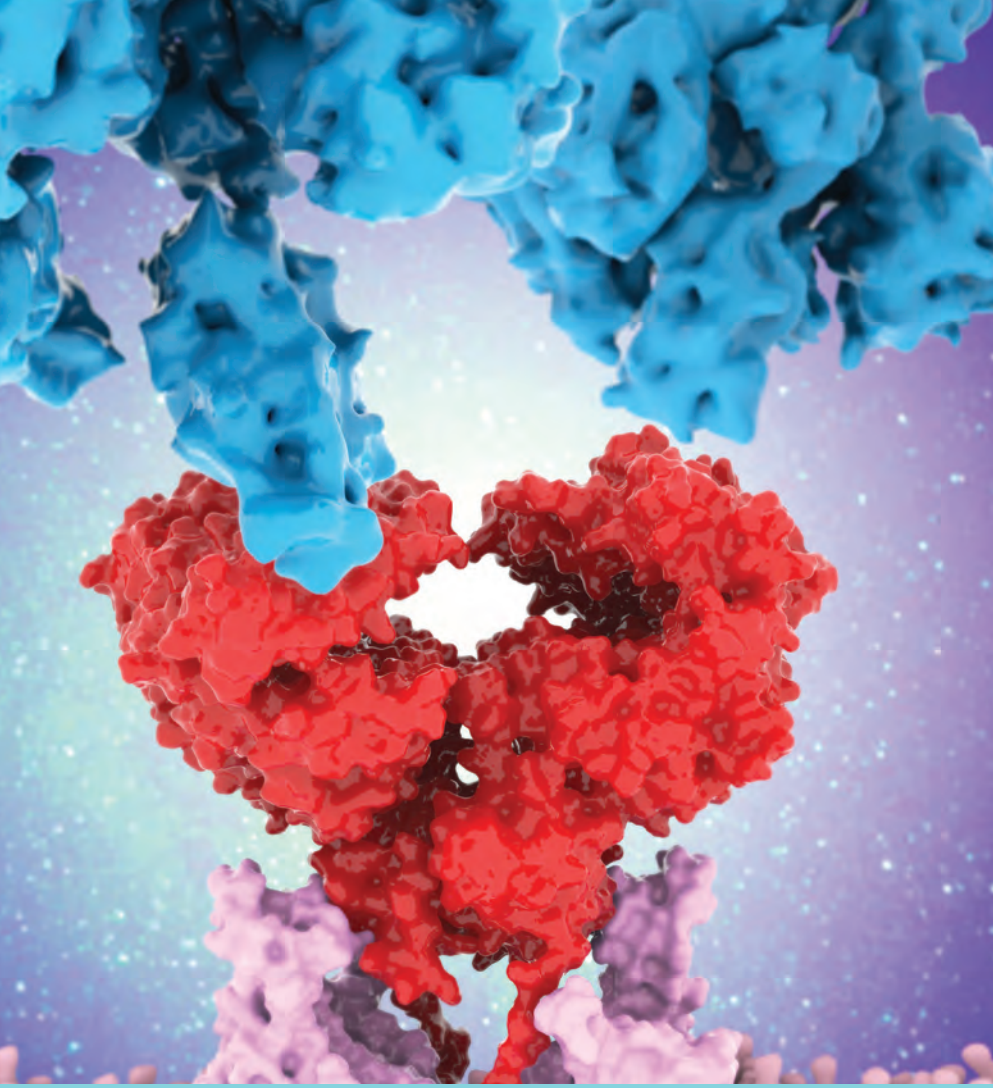
si tamamlandı; sonra gönüllülere düşük doz, orta doz ve plasebo uygulanmasıyla Faz I çalışması başlatıldı. 21 gün ara ile düşük ve orta doz olmak üzere iki kez aşılama yapıldı. Son aşılama tarihi olan 14 Aralık 2020 tarihinden bu yana katılımcılarda ciddi bir yan etki görülmedi, 2. ve 4. haftalar arasında alınan örneklerde aşının bağışıklık yanıtı oluşturduğu görüldü.

Faz II çalışmasına tarama testlerinden geçen toplam 250 gönüllü katıldı. İlk doz uygulaması 10 Şubat 2021 tarihinde yapıldı. COVID-19'a karşı geliştirilmiş inaktif aşı adayının ikinci doz uygulamalarının Nisan ayı ortasında bitirilmesi planlanıyor. Faz II çalışmalarından elde edilecek olan aşı yan etkileri ve aşının etkinliği ile ilgili verile-

rin Nisan ayı sonu ile Mayıs ayının ilk haftasında bitirilmesi ön görülmüyor.

Prof. Dr. Aykut Özdarendeli ve ekibi aynı zamanda adenovirüs vektör temelli aşı adaylarının geliştirilmesi için de çalışmalarını sürdürüyor. Şu ana kadar geliştirdikleri dört aşı adayından iki tanesi kendi izole ettikleri ERAGEM suşundan diken ve adenovirüs nükleoproteini içeriyor. Diğer iki aşı adayı ise ilk izole edilen Wuhan suşunun diken proteinini ve adenovirüs nükleoproteinini içeriyor. COVID-19'a karşı geliştirilen ade-no vektör temelli rekombinant aşının ACE2 reseptörü taşıyan transgenik (genetiği değiştirilmiş) farelerde bağışıklık ve epruvasyon çalışmaları devam ediyor.





Bir insan hücreindeki bir anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 (ACE2) reseptörüne (pembe) bağlı bir koronavirüs diken proteininin (kırmızı) moleküler modeli. Koronavirüs yüzeyinde bulunan diken proteinini insan hücrelerindeki ACE2 reseptörüne bağlanır ve virüsün hücreye girişini kolaylaştırır. Virüs hücreye girdikten sonra, kendisinin daha fazla kopyasını çıkarmak için hücrenin mekanizmasını kullanır.

## **İnaktif COVID-19 Aşısı Geliştirilmesi**

**Prof. Dr. Osman Erganiş,  
Selçuk Üniversitesi Aşı  
Geliştirme ve Uygulama  
Merkezi**

Selçuk Üniversitesi Aşı Geliştirme ve Uygulama Merkezi Müdürü Prof. Dr. Osman Erganiş ve ekibi geliştirmeyi planladıkları inak-

tif aşı için öncelikle COVID-19 hastalarından örnekler topladılar ve 20 örnekten 13 virüs izole ettiler. İzole edilen virüslerin dizi analizlerini gerçekleştirdiklerinde bunların SARS-CoV-2'nin dünyada yaygın olan G614P suşu olduğunu tespit ettiler. Farklı modellerde hazırladıkları aşıları Bilkent Üniversitesi, Ortadoğu Teknik Üniversitesi ve Pendik Veteriner Kontrol Araştırma Enstitüsünde farelerde de-

nediler ve beş farklı formülasyondan iki tanesinin çok daha iyi sonuç verdiğini gördüler.

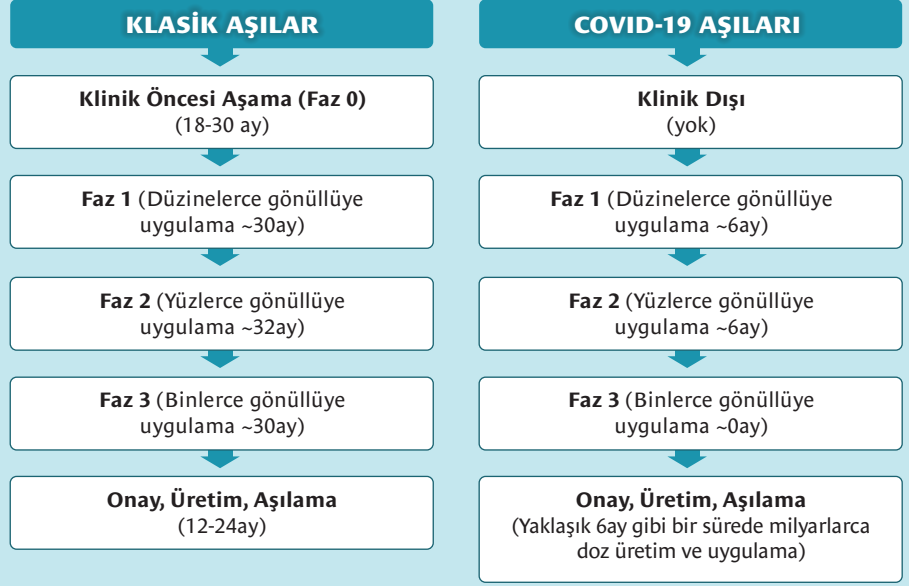
Prelinik (Faz 0) aşamada etkili bulunan inaktif COVID-19 aşısının VETAL AŞ. (Adıyaman) tesislerinde dünya standartlarında üretimini (GMP: Good Manufacturing Practice; iyi üretim uygulamaları) gerçekleştirebilmek için Sağlık Bakanlığından GMP sertifikasyonu alındı ve 4 Aralık 2020 tarihinden beri farklı dozlardan oluşan aşı ve plaseboların üretimi için çalışmalar başlatıldı. 13 Ocak 2021 tarihinde yapılan ilk seri üretim aşuların ve plaseboların kalite kontrol testleri VETAL AŞ'de, diğer bazı testleri de başka kurumlarda tamamlandı. Aşıların GLP (GLP: Good Laboratory Practices; iyi laboratuvar uygulamaları) sertifikalı bir kurumda toksisite, sitotoksisite ve genotoksisite testleri gerçekleştirildi. 23 Kasım 2020'de transgenik farelere ilk doz aşuları uygulandı. Bu farelerde challenge testleri ise Şubat 2021 sonu itibarı ile tamamlandı. Aşıların ikinci üretimi de yapıldı ve kalite kontrol testlerine başlandı. Prelinik araştırma verileri ile birlikte VETAL AŞ'de üretim yapılması için Aralık 2020'de TİTCK'ye yapılan başvurunun cevabı Ocak 2021'de geldi, eksik veya anlaşılmayan konular üzerinde kurum ile görüşülerek 17 Şubat 2021'de başvuru tekrarlandı. Ayrıca klinik araştırmanın yapılacağı kuruma ve ilgili kurumun etik kuruluna da başvuruldu. Şu an ise Sağlık Bakanlığı, TİTCK ve etik kuruldan izinler bekleniyor.



## Adenovirüs Tabanlı Prototip Koronavirüs Aşısı Üretimi

**Prof. Dr. Hakan AKBULUT,**  
**Ankara Üniversitesi**  
**Kanser Araştırma**  
**Enstitüsü**

Ankara Üniversitesi Kanser Araştırma Enstitüsü adenovirüs tabanlı prototip koronavirüs aşısı üretimi projesinde Prof. Dr. Hakan Akbulut ve ekibi Oxford AstraZeneca aşısına benzer şekilde SARS-CoV-2 diken proteinini kodlayan gen parçalarının insan Tip 5 adenovirüsü (Ad5) DNA'sına rekombinant tekniklerle yerleştirilmesiyle oluşan canlı bir viral vektör aşısı tasarladılar. Oxford AstraZeneca aşısında şempanze adenovirüsü kullanılmışken Prof. Dr. Hakan Akbulut ve ekibi aşığı tasarlarırken insan adenovirüsü kullandılar.



Adenovirüsler çocukluk çağında özellikle üst solunum yolu enfeksiyonlarına yol açan en önemli virüslerden. Dolayısıyla çocukluktan itibaren karşılaşılan bu virüse karşı vücutta nötralizan antikorlar oluşuyor.

Prof. Dr. Akbulut daha uzun süreli ve özellikle virüsün bulaşmasını engellemeye yönelik bağışıklık oluşturmaya açısından canlı virüs aşılarının pandemiye bitirmeye en kuvvetli aday aşılarından biri olduğunu belirtiyor. Bu aşının bir diğer avantajı ise üretiminin kolay olması. Dolayısıyla aşının büyük miktarlarda üretilmesinin mümkün olabileceğini ve küçük bir tesisin bile ülkemizin ihtiyacına yetecek miktarda aşığı bir yılda üretebileceğini düşünüyor.

Araştırma ekibi adenovirüsün hücre içinde çoğalmasından sorumlu olan iki gen bölgesini çıkararak virüse aktardılar. Böylece virüs insan hücrelerine girdiğinde çoğalamayacak ve sadece taşı-

dığı diken proteini kodlayan gen parçaları (4 adet) sayesinde diken protein (antijen) parçalarını üretecek. Kas içine enjekte edildiğinde aşı hem kas hücrelerine hem de o bölgede bulunan makrofajlara ve dendritik hücrelere girerek koronavirüs antijenlerini (diken protein) üreterek bağışıklık sistemini uyaracak. Böylece COVID-19'a karşı hem antikor cevabı hem de hücreli bağışıklık (T hücreleri) gelişecek ve koronavirüsün hastalık yapması engellenecek.

Etkinliğinin en fazla ve en uzun süreli olması için dörtlü karma aşı olarak tasarlanan aşının hayvan çalışmaları 10 Temmuz 2020'de tamamlandı ve klinik çalışma için 28 Temmuz 2020'de Ankara Üniversitesinden etik kurul onayı alındı. Sonrasında TITCK'ya klinik çalışma için başvuruldu. CoVacHGMix adı verilen aşı hâlâ Çerkezköy'de bir fabrikada GMP kapsamında üretim aşamasında.

## Virüs Benzeri Parçacık (VLP) Temelli SARS-CoV-2 Aşı Çalışmaları

**Prof. Dr. Mayda Gürsel, Orta Doğu Teknik Üniversitesi Biyolojik Bilimler Bölümü**

Prof. Dr. Mayda Gürsel, COVID-19 ile ilgili ulusal aşı çalışmaları kapsamında ODTÜ, Bilkent ve Hacettepe Üniversitelerinden öğretim üyeleri ve öğrencileriyle birlikte Mart 2020'den itibaren TÜBİTAK tarafından desteklenen bir aşı projesinde çalışıyor.

COVID-19'a karşı geliştirilen tüm aşılarda hedefi -türü ne olursa olsun- bağışıklık sisteminin SARS-CoV-2'nin yüzeyindeki diken proteinini tanımasını ve bu bağlanma bölgesine karşı antikor üretilmesini sağlamak. Bu nedenle diken proteininin yapısını anlamak son derece önemli.

Prof. Dr. Mayda Gürsel ve ekip arkadaşları iki formu olan diken proteinin, virüsün doğrudan bağlanmasını ve hücreye girmesini sağlayan formuna karşı antikor üretilmesini amaçlıyor. Çok kararlı olmayan yapısı ile farklı parçalara ayrılabilen diken proteinin bu dağılmış hâline karşı üretilen antikor, virüsü maalesef etkisiz hâle getiremiyor. Ancak daha önceki koronavirüslerden elde edilmiş bilgileri kullanarak diken proteinin yapısındaki bazı küçük aminoasitlerde S-2P mutasyonları denen değişiklikleri yaparak proteini kararlı hâle getirmek mümkün. Bilinen koronavirüslere daha önce uygulanan bu yöntem

pandeminin başlamasıyla SARS-CoV-2'ye de uyarlandı. BioNTech-Pfizer'ın, Moderna'nın ve Novavax'ın mRNA aşıları ile Johnson & Johnson'un adenovirüs aşısında da bu teknoloji kullanılıyor. Ancak SARS-CoV-2 virüsü için bu iki mutasyonun yeterli olmayacağı, diken proteinin daha kararlı hâlde üretilmesi için altı farklı mutasyon gerektiği bilgisi ilk olarak Mayıs 2020'de bioRxiv'de Eylül ayında da *Science* dergisinde yayımlanan "Structure-based design of prefusion-stabilized SARS-CoV-2 spikes" başlıklı makalede paylaşılmıştı.

Virüsün dört yapısal proteinini kodlayan genleri ikişerli gruplar hâlinde birer vektöre aktaran araş-

tırmacılar, vektörleri memeli hücrelere transfer ettikten sonra ortama salınan VLP'leri saflaştırdılar ve iki farklı aşı adjuvantı (immünojen olmayan, antikor oluşturmaya ancak verildikleri antijenin immünojenitesini arttıran maddeler) ile birlikte formüle edilen aşı hayvan denemelerinde test edildi. İlk denemelerinde kararlılığı düşük olan orijinal diken proteini içeren VLP aşısı kullanılırken sonraki çalışmalarında önce iki prolin mutasyonlu daha sonra da altı prolin mutasyonlu süper kararlı VLP'lerle çalışmalar devam etti. Süper kararlı ya da yarı kararlı bu VLP'ler düşük ve yüksek dozda farklı adjuvantlarla bir arada olacak şekilde farelere



iki doz verilerek bağışıklık yanıtları incelendi. Dolayısıyla süper kararlı VLP'lerin çok başarılı olduğu tespit edildi. Prof. Dr. Mayda Gürsel ve ekibi geliştirdikleri aşığı sanayiye uygun bir üretim/saflaştırma modeline adapte ederek hayvan toksisite çalışmalarını tamamladılar. Daha sonra Nobel İlaç Firması ve ekibiyle aşının GMP şartlarında üretimi ve şişeleme işlemleri gerçekleştirilerek stabilite ve sterilite testlerinde ikinci hafta sonuçları da tamamlandı. Klinik Faz I için TİTCK'ya başvuru dosyası düzenlendi ve başvuru yapıldı. Bilim insanlarımız uygun bulunduğu takdirde Faz I denemelerine başlayabilmeyi ümit ediyor.

## ASC Teknolojisiyle COVID-19 Aşığı Üretimi

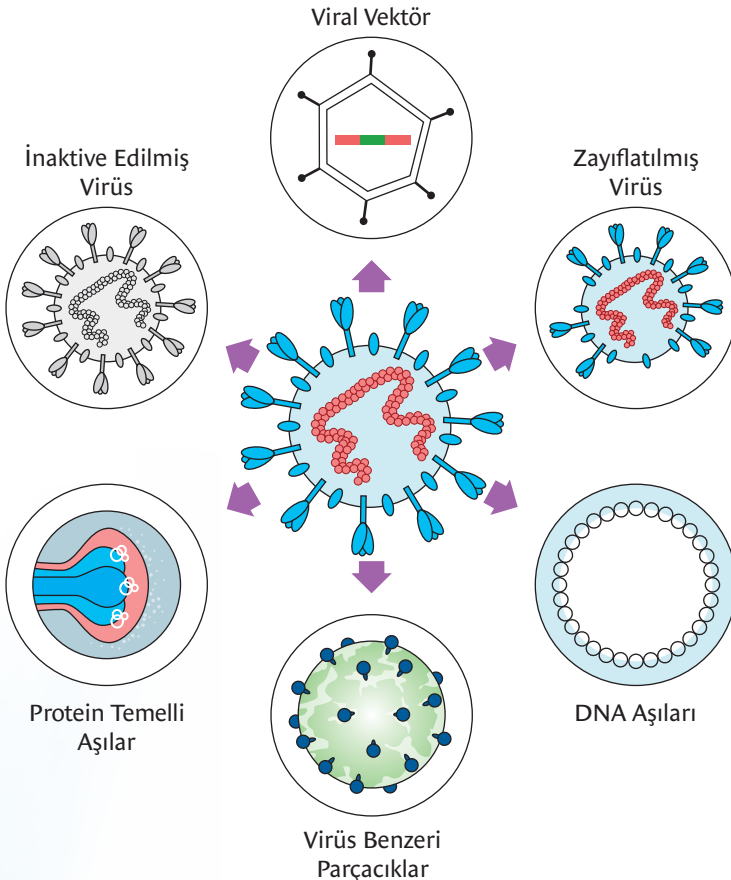
**Prof. Dr. Nesrin Özören,**  
**Boğaziçi Üniversitesi**  
**Moleküler Biyoloji ve**  
**Genetik Bölümü**

Boğaziçi Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Nesrin Özören, kendisinin geliştirdiği ve patenti de kendisine ait olan ASC Zerrecik teknolojisini COVID-19'a karşı aşığı geliştirmek için kullandı.

ASC vücut hücrelerimizde üretilen bir protein ve hastalık yapan bir

mikroorganizma ile karşılaştığında ipliksi yapılar oluşturuyor, üst üste katlanan bu ipliksi yapılar bir yumakçık hâlini alıyor. Bir bakterinin boyutuna yakın olan 2-5 mikrometre çapındaki bu yumakçıklar zerrecik olarak adlandırılıyor. COVID-19'a karşı aşığı geliştirmek için bu yöntemi kullanan Prof. Dr. Özören koronavirüs yüzeyindeki diken proteininin insan hücresindeki ACE2 yüzeyel proteine bağlanan minimal yapısına yani ACE2'ye bağlanma bölgesine odaklandı. Böylece koronavirüs yüzey proteini taşıyan ASC zerrecikleri vücuda girdiğinde akyuvar hücreleri tarafından algılanarak, bağışıklık sistemini harekete geçiriyor. Geliştirilen aşıda bulunan ASC proteini akyuvarlara yerleşerek vücuda virüs girdiğinde bağışıklık sistemini uyarıyor. Oda sıcaklığında bozulmayan ASC zerrecik aşığı için - 70 °C derecede taşıma ve saklanma gibi gereksinimlere ihtiyaç duyulmayacak.

Hayvan deneylerinde yetkin bir bağışıklık yanıtı geliştiğini tespit eden araştırmacılar, Faz I başvuru dosyası için gerekli son araştırma yöntemlerini de tamandıktan sonra deneylere başlamayı planlıyorlar. Pilot üretim için TİTCK'dan GMP onayı alma sürecinde olan iki farklı firma ile görüşüyorlar ve 2022'de aşının piyasaya çıkmasını hedefliyorlar.







## COVID-19'a Karşı Peptid Temelli Aşı Geliştirme ve Araştırma Çalışmaları

**Prof. Dr. Serhat Ünal,  
Hacettepe Üniversitesi Aşı  
Enstitüsü**

Prof. Dr. Serhat Ünal ve ekibi, TÜSEB tarafından desteklenen araştırmalarında SARS-CoV-2 virüsünün diken proteinine özgü peptitler kullanarak COVID-19 aşısı geliştirmeyi hedefliyor. Çalışmanın başında, Türkiye'de yaygın olan SARS-CoV-2 tiplerinin genom dizileri karşılaştırıldı ve diken proteinin aşı geliştirmek için kullanılacak bölgeleri tespit edildi. Türki-

ye'deki hastalardan izole edilmiş 22 SARS-CoV-2 suşuna ait diken glikoprotein aminoasit dizisi Wuhan-Hu-1 suşuna ait diziyile karşılaştırılarak mutasyona yatkın bölgeler tespit edildi. Bu protein bölgeleri tekrar analiz edilerek antikor geliştirme potansiyeli olan peptid dizileri belirlendi. Bu diziler kullanılarak kimyasal yollarla peptitler sentezlendi ve COVID-19 hastalarının serumları kullanılarak yapılan ELISA deneyi ile peptitlerin hastalardaki antikorları tanıma düzeyi belirlendi. En iyi sonuç veren iki peptid ile, bu peptitlerin karışımı ve üç farklı adjuvan ile dokuz farklı aşı formülasyonu hazırlandı. Bu aşılardan toksikolojik değerlendirmeleri yapıldıktan sonra aşılarda deney hayvanları üzerinde test edildi. Yapılan analizler sonucunda

adjuvanlardan biri ile yapılan formülasyonlarla devam edilmesine karar verildi. Bu adjuvan kullanılarak, daha önce kullanılan peptitlerden farklı miktarlar ile altı yeni formülasyon hazırlandı ve bu formülasyonlar da deney hayvanlarında test edildi ancak hastalıktan koruyucu düzeyde antikor elde edilemedi. Şu an, koruyucu düzeyde antikor elde etmek için farklı formülasyonlar üzerinde çalışılıyor. Bütün yapılan incelemeler sonucunda, nötralizan antikorlar en yüksek hangisinde ise ve hücresel bağışıklık hangisine en iyi cevap verirse o formülasyon seçilerek onun üzerinden hayvanlardaki ileri toksisite çalışmaları ve challenge testlerini yaptıktan sonra yüksek miktarda üretime hazır bir aşı adayı olacağı tahmin ediliyor.

## İBG Aşı Adayları

### Prof. Dr. Mehmet Öztürk, İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi

İzmir Biyotıp ve Genom Merkezinde (İBG) Prof. Dr. Mehmet Öztürk ve Araştırma Direktörü Dr. Stefan Dimitrov'un koordinatörlüğünde oluşturulan araştırma ekibi, SARS-CoV-2 virüsünün hücrelere bağlanmasını sağlayan diken protein temelli rekombinant protein aşıları üzerine çalışıyor. Rekombinant protein temelli aşıların en büyük avantajı normal ilaç üretim tesislerinde üretilebilmesi, üretimlerinin nispeten basit ve maliyetinin de düşük olması. Hatta belki daha da önemlisi sınırsız bir şekilde ve aynı kalitede üretilebilmesi.

İBG'de hâlihazırda üç aşı adayı üzerinde araştırmalar devam ediyor. En ileri aşamada olan ve Prof. Dr. Mehmet İnan'ın ekibi tarafından maya hücrelerinde üretilen aşı adayı, diken proteininin kritik reseptör bağlayan bölgesini (RBD bölgesi) içeriyor. Laboratuvar koşullarında üretilip farklı kromatografi yöntemleri ile saflaştırılan aşı adayıyla farelerde yüksek miktarda antikor (IgG) yanıtı elde edildi. Aşılanmış fare antikorları, virüsün diken proteininin konakçı hücrelerindeki ACE2 yüzey proteinine bağlanmasını tamamen baskılamaya özelliğine sahip olduğu gösterildi. Ayrıca, Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesinde Prof. Dr. Aykut Özkul'un yönetiminde gerçekleştirilen çalışmalarda, bağışıklık gelişmiş

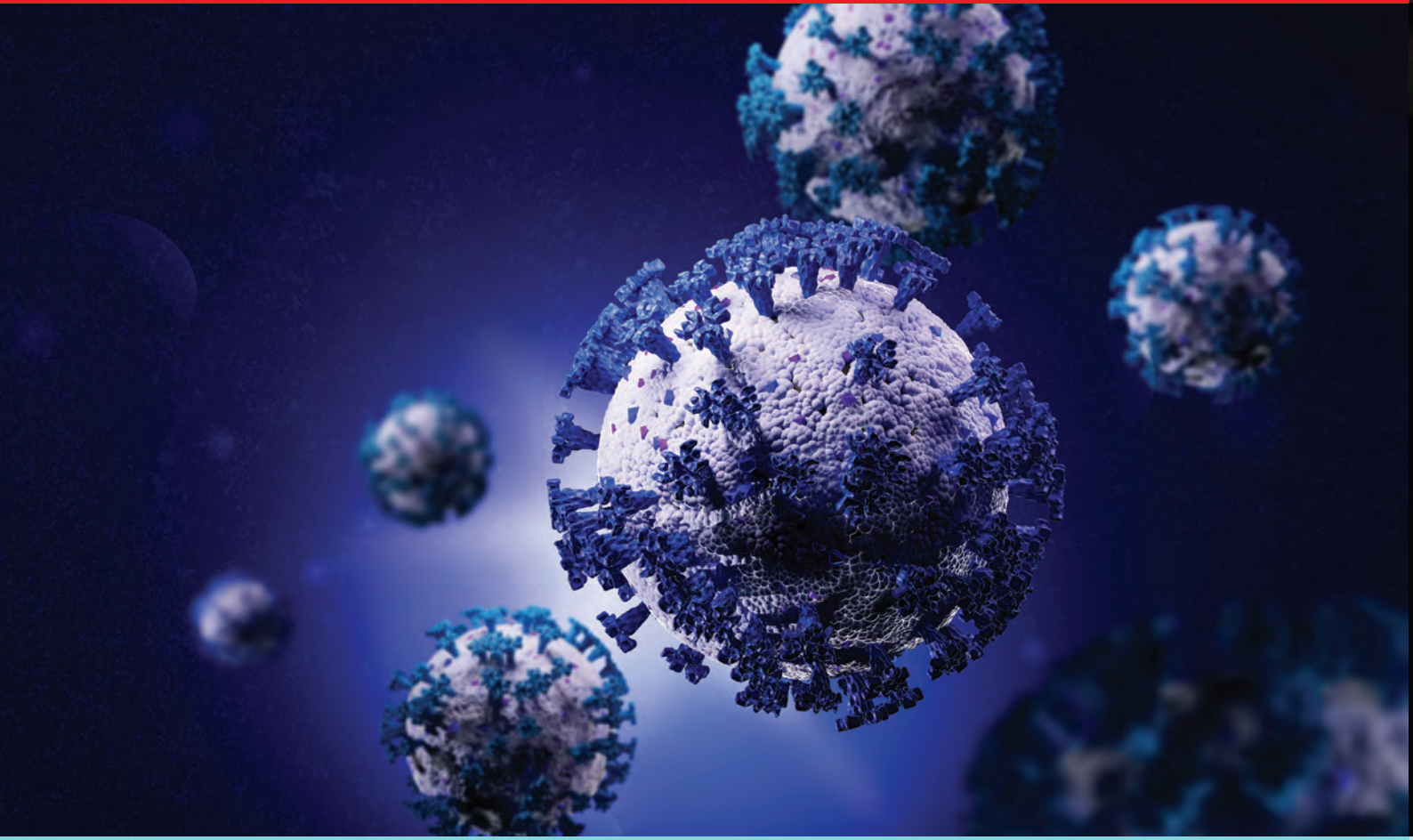
fare serumlarında canlı virüsü etkisiz hâle getirdiği gözlemlendi. Aynı ekip tarafından, aşı adayının hamster modelinde hastalıktan koruyucu etkisi test ediliyor. İkinci aşı adayı CHO (Chinese hamster ovary) hücrelerinde üretilen ve RBD bölgesini dimer hâlinde içeren diğer bir rekombinant proteindir. Bu protein de yeterli miktarda üretilip saflaştırıldı ve farelerde bağışıklık geliştirip getirmediğine dair denemelere başlandı. Üçüncü aday ise HEK293 (human embryonic kidney: insan embriyonik böbrek) hücrelerinde kültür ortamında salgılanan diken proteinden oluşuyor. Diken proteininin %90'ından fazlasını içeren bu aşı adayı henüz üretim ve saflaştırma optimizasyon aşamasında.



## DNA Aşı Teknolojileri

### Mert Döşkaya, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Aşı Geliştirme, Uygulama ve Araştırma Merkezi

Ege Üniversitesi İlaç Geliştirme ve Farmakokinetik Araştırma ve Uygulama Merkezi Müdürü Prof. Dr. Ercüment Karasulu, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Aşı Geliştirme, Uygulama ve Araştırma Merkezi Yöneticisi Doç. Dr. Mert Döşkaya ile birlikte "COVID-19 Aşısı İçin Antijen Keşfi ve DNA Aşısı Geliştirilmesi" projesi ile ülkemizin ilk milli DNA aşısını geliştiriyor.



Doksanlı yıllarda popülerlik kazanan DNA aşuları hem hümmoral (salgısal) bağışıklığı hem de hücrel bağışıklığı uyarabilmesi açısından önemli. Canlı virüs içermemesi ve oda sıcaklığında bozulmaması da DNA aşularının önemli avantajlarından.

Doç. Dr. Mert Döşkaya ve birlikte çalıştığı araştırma ekibi, öncelikle COVID-19 hastalarından aldıkları SARS CoV-2 örneklerinin genom dizilimlerini incelediler ve ülkemizde pek çok ağır vakaya neden olan SARS-CoV-2 suşuyla çalışmalarına devam etme kararı aldılar. Sonrasında koronavirüse karşı dört farklı DNA aşısı prototip tasarladılar. Bu tasarımlarda özellikle virüsün diken gen ve diken gen

bölgesinde bulunan S1, S2 ve RBD adlı kısımlar hedeflendi. Tasarımlar sonrasında ekip sırasıyla DNA aşularının oluşturulması, in vitro ortamda bu aşuların hedef antijeni sentezlediğinin gösterilmesi, lipozomlarla aşı formülizasyonlarının geliştirmesi, aşuların farelere uygulanması yani in vivo hayvan deneylerini ve farelerde aşılama ile uyarılan bağışıklık yanıtını inceledi. DNA aşısı prototiplerinden iki tanesinin güçlü hücrel ve hümmoral (salgısal) bağışıklık yanıtı oluşturduğu saptandı. Doç. Dr. Mert Döşkaya ve ekibi bu iki aşı adayıyla gönüllü insanlarda faz çalışmalarına devam etmeyi planlıyor. Faz çalışmalarına geçiş sürecinde aşı prototipinin GMP bir tesiste üretilmesi gerekiyor. Bunun için ekip sa-

nayi ile ortaklık kurdu ve kısa süre önce GMP'ye yönelik laboratuvar ölçekli üretimin optimizasyonları tamamladı. Ekip kısa süre içinde sanayi ile ortaklaşa ülkemizde ilk defa GMP ortamında DNA aşısının üretimini gerçekleştirecek. Bu aşamadan sonra faz çalışmalarını gerçekleştirmek üzere etik kurul ve yasal otorite onayı için başvuru yapılacak.

Sonuçta bu proje kapsamında, ülkemizin ilk milli DNA aşısı da salgın döneminde geliştirildi ve özel sektör ile iş birliği içerisinde klinik çalışma aşamasına yaklaştı.



## SARS-CoV-2 Diken Proteinine Karşı Kendiliğinden Amplifiye Olabilen mRNA Aşısının Geliştirilmesi

**Doç. Dr. Nadir Koçak,  
Selçuk Üniversitesi  
Tıp Fakültesi Tıbbi  
Genetik Anabilim Dalı**

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Nadir Koçak ve ekibi COVID-19'a karşı ülkemizdeki ilk ve tek mRNA aşısını geliştirmek üzere çalışmalarını sürdürüyor. mRNA'nın tanımlanması 1963 yılında olduysa da mRNA aşısının geli-

şim süreci uzun zaman aldı. mRNA aşısı kavramı bilim dünyasına teorik olarak ancak 1990'lı yıllarda girebilirdi. Daha sonra gerçekleştirilen biyoteknolojik gelişmeler bu aşılarda insanlara uygulanmasını sağladı. Bu gelişmelerden en önemlisi, in vitro transkripsiyon yani DNA molekülündeki bilginin RNA nükleotid dizisi hâline çevrilmesindeki ilerlemeler, daha sonra da lipit nanopartikül geliştirme teknolojilerinin geliştirilmesiydi. mRNA aşısı için klinik deneme çalışmalarına 2019 yılında başlandı.

mRNA aşısı teknolojisi dünyada 3. nesil aşısı teknolojisi olarak kabul ediliyor. Doç. Dr. Nadir Koçak bu teknolojiye ait ön bilgilerinden dolayı Moderna'nın ve BioNTech'in aşısı ge-

liştirme sürecini önde kapatacaklarını tahmin ettiklerini, bu nedenle de pandemi sürecinde özellikle bu ekipleri takip etmeye çalıştıklarını belirtiyor.

Doç. Dr. Nadir Koçak ve araştırma ekibi istenilen düzeyde ve etkinlikte bağışıklık yanıtı alabilmek için ek mRNA tabanlı poliepitop aşısı tasarımı yaptılar. Kendi tasarladıkları ilk prototip aşısı modelini in vitro hücre kültürlerine uyguladıktan sonra bu hücre kültürlerinde mRNA'dan protein üretimini sağladılar. Sonraki süreçte de hayvan deneylerine yönelen Doç. Dr. Koçak ve ekibi Türkiye'nin ilk mRNA prototip aşısını geliştirmiş oldu. Hayvanlara ilk gün ve 28. günde aşısı için ürettikleri katyonik protein ile iki doz hâlinde aşısı uyguladılar. Şimdi hayvanlarda gelişen farklı immünoglobülin ve sitokin yanıtlarını inceleme aşamasında sonlara yaklaşıyorlar. Burada istenilen yanıtın alınması durumunda faz çalışmalarını başlatılacak.

Doç. Dr. Nadir Koçak mRNA aşılarında termostabilite sorunu olduğunu ve mRNA aşısının kararlılığını artırabilmek için birtakım araçlar kullanıldığını belirtiyor. Bu konu ile ilgili kendilerinin de oda sıcaklığına dayanıklı bir aşısı geliştirmeyi planladıklarını söylüyor.

Aşı Platformu	Avantajları	Dezavantajları	İnsanlar için Geliştirilmiş Lisanslı Aşı Örnekleri
<b>RNA</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Düşük maliyetli üretim potansiyeli</li> <li>▶ Üretim kolaylığı</li> <li>▶ İyi güvenlik profili</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Dayanıksızlığı nedeniyle düşük seviyede bağışıklık gelişme ihtimali</li> <li>▶ Birden fazla doz gerektirebilmesi</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Pfizer-BioNTech COVID-19 mRNA Aşısı</li> <li>▶ Moderna COVID-19 mRNA Aşısı</li> </ul>
<b>DNA</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Düşük maliyetli üretim potansiyeli</li> <li>▶ Üretim kolaylığı</li> <li>▶ İyi güvenlik profili</li> <li>▶ Kararlı yapıda olması</li> <li>▶ Anti-vektör bağışıklığını indüklememesi</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ İnsan genomu ile potansiyel entegrasyon</li> <li>▶ Düşük seviyede bağışıklık cevabına neden olabilmesi</li> </ul>	—
<b>Virüs Vektörleri Replike/ Nonreplike ve Virüs Benzeri Parçacıklar (VLP)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Yüksek verimli gen transdüksiyonu</li> <li>▶ Hedef hücrelere yüksek spesifiklikte gen iletimi</li> <li>▶ Güçlü bağışıklık tepkisi indüksiyonu</li> <li>▶ Artmış hücresel bağışıklık</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Düşük titreli üretim</li> <li>▶ Anti-vektör bağışıklığını tetikleyebilmesi</li> <li>▶ Replikasyon-uyumlu virüs oluşumuna sebep olarak tümör indüklemeye ihtimali</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ JYNNEOS (Çiçek Hastalığı/ Maymun Çiçeği)</li> <li>▶ ACAM2000 (Çiçek Hastalığı)</li> <li>▶ Adenovirus tip 4 ve tip 7</li> <li>▶ Oxford Üniversitesi/ AstraZeneca COVID-19 Aşısı</li> <li>▶ Sputnik V COVID-19 Aşısı</li> </ul>
<b>İnaktive Edilmiş</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ İyi güvenlik profili</li> <li>▶ Bağışıklığı baskılanmış hastalarda kullanılabilmesi</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Ek dozlara ihtiyaç duyulabilmesi</li> <li>▶ Düşük üretim titresi</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Poliovax (Çocuk Felci)</li> <li>▶ Flucelvax Quadrivalent (Dört Valanlı) (İnfluenza)</li> <li>▶ Ixiaro (Japon Ensefaliti)</li> <li>▶ Imovax (Kuduz)</li> <li>▶ Sinovac COVID-19 Aşısı</li> </ul>
<b>Canlı Zayıflatılmış (Atenué) Virüs</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Yüksek etki</li> <li>▶ Uzun süreli bağışıklığı tetiklemesi</li> <li>▶ Düşük maliyetli üretim</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Ek dozlara ihtiyaç duyulabilmesi</li> <li>▶ Düşük üretim titresi</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ ERVEBO (Ebola virüsü)</li> <li>▶ MMR II (Kızamık, Kabakulak ve Kızamıkçık)</li> <li>▶ BCG aşısı (Tüberküloz)</li> </ul>
<b>Protein Alt Birimi</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Bağışıklığı baskılanmış hastalarda kullanılabilmesi</li> <li>▶ İyi güvenlik profili</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Düşük bağışıklık tepkisi</li> <li>▶ Parti bazında varyasyon nedeniyle konjugasyon gerçekleştirilebilmesi</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ PedvaxHIB (Haemophilusinfluen zae tip b)</li> <li>▶ Engerix-B (Hepatit B)</li> <li>▶ Recombivax HB (Hepatit B)</li> </ul>

## COVID-19 Aşısında Klinik Araştırmalara Başlamak İçin...

Aşı geliştirme, hedeflenen etkene karşı aşı üretiminde kullanılacak suş ve antijenlerin hücre kültürü, mikrobiyolojik kültürler, rekombinant DNA (rcDNA) teknolojisi ve bilgisayar modellemeleri ile üretilmesi veya oluşturulması gibi aşamaları içeren bir Ar-Ge süreciyle başlar. Ardından aşılarda kullanılacak antijen ve suşların uluslararası standartlara uygun üretilmesi, aşı formülasyonlarının hazırlanması, in vitro deneyler ve in vivo hayvan deneylerinin yapılmasını kapsayan Preklinik (Faz 0) aşamayla devam eder. Geliştirilen aşı adayları, deney hayvanlarına ya da insanlara mikrodozlar hâlinde uygulanır ve etkene (antijene) verilen bağışıklık yanıtı araştırılır. Sonrasında ise klinik araştırma fazlarına geçilir. Etkin hücresel ve hümorale (salgisal) bağışıklık oluşturan, güvenilirliği kanıtlanmış ve prototip olarak geliştirilmiş aşılarda Faz I, Faz II, Faz III klinik çalışmaları tamamlandığında kaliteli, etkin ve güvenilir aşılarda ruhsat aşamasına getirilir. Ana amacı güvenlik olan Faz I'de aşının farmakokinetik özellikleri, toksisitesi, biyoyararlanımı ve farmakolojik etkileri az sayıda sağlıklı gönüllüde araştırılır. Faz II aşamasında aşının etkili doz sınırları, klinik etkinliği, biyolojik aktivitesi, yarar ve güvenilirliği Faz I'e göre daha fazla sayıda insanda araştırılır. Bu aşamada uygun doz değerleri ve doz aralıkları hesaplanır. Bu fazın ana amacı etkinlik ve güvenilirliktir. Ana amacı aşının etkinliğinin kanıtlanması ve yan etkilerin izlenmesi olan Faz III'te birinci ve ikinci aşamayı geçen aşılarda daha fazla sayıda insana uygulanır; plasebo kontrollü karşılaştırmalı klinik çalışmalarla güvenliliği ve etkinliği araştırılır.

Faz IV'de ise ilk üç aşamayı geçen aşılarda ruhsatlanır ve kullanımına izin verilir. Aşı pazara sunulduktan sonra yapılan her türlü çalışma Faz IV'e aittir. Bu aşama pazarlama sonrası gözetim (post marketing surveillance) olarak da adlandırılır.

## Diğer Aşı Çalışmaları

- ▶ Akdeniz Üniversitesi, Prof. Dr. Tarlan Mammedov, Protein alt birim aşısı
- ▶ Atatürk Üniversitesi, Prof. Dr. Selahattin Çelebi, Protein alt birim aşısı
- ▶ Marmara Üniversitesi, Prof. Dr. Kadir Turan, Protein alt birim aşısı
- ▶ Yıldız Teknik Üniversitesi, Doç. Dr. Serap Derman, Peptit/Protein alt birim aşısı

Dünyanın ilk kez karşılaştığı COVID-19 enfeksiyonu hakkında bir yıl gibi kısa bir sürede pek çok bilginin edinilmesi, aşı geliştirilmesi, devam eden aşı ve ilaç çalışmaları bilimin ve bilim insanlarının gücünün bir özeti gibi...

Ülkemizde devam eden ve kısa süre sonra güzel haberler almayı umut ettiğimiz aşı çalışmalarında bilim insanlarımızın amacı ise yurt dışında üretilen aşılarda benzerini ya da aynısını geliştirmek değil, daha da etkin olanı geliştirmek.

Yaşanan bu süreç ise gelecekte olası pandemilere karşı topluma da bilim dünyasına da inanılmaz deneyimler kazandırdı. Ülkemizdeki araştırmalarda farklı kurumlardan ve üniversitelerden birçok araştırmacı güçlerini birleştirdi, araştırmalarını şeffaf bir şekilde hem birbirleriyle hem de toplumla paylaştılar. Bizler de beraberlikten müthiş bir sinerji doğduğunu gördük.

Dergimizin matbaa sürecinin başlaması nedeniyle 25 Mart tarihine kadarki gelişmeleri paylaştık. Temennimiz kısa süre içinde son bir yıldır hızla süren aşı ve ilaç geliştirme çalışmalarıyla ilgili birden fazla müjde vermek... ■

Sağlıklı günlere...

### Kaynaklar

- <https://www.titck.gov.tr/duyuru/covid-19-asi-gelistirme-calismasi-yuruten-arastirma-gruplarinin-dikkatine-04092020215139>  
[https://www.tuseb.gov.tr/tuhke/uploads/genel/files/yayinlar/raporlar/covid19\\_asisi\\_gelistirme\\_raporu-16.10.2020.pdf](https://www.tuseb.gov.tr/tuhke/uploads/genel/files/yayinlar/raporlar/covid19_asisi_gelistirme_raporu-16.10.2020.pdf)  
<https://www.nature.com/articles/d41586-020-01221-y>  
<https://covid19.tubitak.gov.tr/>