



**EBİLTEM - TTO**  
EÜ TEKNOLOJİ TRANSFER OFİSİ



# AŞI BİLİMİ KONGRESİ

28-30 Nisan 2015  
İZMİR, TÜRKİYE



**BİLDİRİ VE ÖZET KİTABI**





*ULUSLARARASI KATILIMLI*  
**AŞI BİLİMİ KONGRESİ**

*28-30 NİSAN 2015, İZMİR*

---

**DÜZENLEYEN**

**AŞI BİLİMİ DERNEĞİ**

*ULUSLARARASI KATILIMLI*  
**AŞI BİLİMİ KONGRESİ**  
*28-30 NİSAN 2015, İZMİR*

**DÜZENLEYEN**  
AŞI BİLİMİ DERNEĞİ

**Basım Yeri**

Ege Üniversitesi Basımevi  
Bornova, İzmir  
Tel: 0232 388 10 22  
e-mail: bsmmd@mail.ege.edu.tr

**TC Kùltür ve Turizm Bakanlığı Sertifika No: 18679**

**Basım Tarihi**

Nisan 2015

## **ORGANİZASYON KOMİTESİ**

### **Onursal Başkan**

Prof. Dr. Candeğer YILMAZ  
Prof. Dr. Mehmet Ali ÖZCEL

### **Kongre Düzenleme Kurulu Başkanı**

Prof. Dr. Adnan Yüksel GÜRÜZ

### **Kongre Düzenleme Kurulu**

Prof. Dr. Adnan Yüksel GÜRÜZ  
Prof. Dr. Saime İsmet GÜRHAN  
Prof. Dr. Selim BADUR  
Prof. Dr. Aykut ÖZDARENDELİ  
Prof. Dr. Ercüment KARASULU  
Prof. Dr. Philip Louis FELGNER  
Prof. Dr. Adrian HILL  
Doç. Dr. Mert DÖŞKAYA  
Doç. Dr. Aysu DEĞİRMECİ DÖŞKAYA  
Yard. Doç. Dr. Sultan GÜLCE İZ  
Dr. Dennis CHRISTENSEN  
Dr. Hüseyin CAN  
Dr. Umut ŞAHAR  
Biyomüh. Müge ANIL  
Moleküler Biyolog Esra ATALAY  
Ar. Gör. Muhammet KARAKAVUK  
Biyomüh. Pelin SAĞLAM METİNER

### **Kongre Sekreterliği**

Doç. Dr. Mert Döşkaya

## **Kongre Bilim Kurulu**

Prof. Dr. Adnan Yüksel GÜRÜZ  
Prof. Dr. Saime İsmet GÜRHAN  
Prof. Dr. Philip Louis FELGNER  
Prof. Dr. Adrian HILL  
Prof. Dr. Selim BADUR  
Prof. Dr. Aykut ÖZDARENDELİ  
Prof. Dr. Ercüment KARASULU  
Prof. Dr. Aykut ÖZKUL  
Prof. Dr. Rüçhan USLU  
Prof. Dr. Esin HAMEŞ  
Doç. Dr. Mert DÖŞKAYA  
Doç. Dr. Aysu DEĞİRMENCİ DÖŞKAYA  
Yrd. Doç. Dr. Sultan GÜLÇE İZ  
Dr. Dennis CHRISTENSEN

# İÇİNDEKİLER

Sayfa  
No

<b>Kongre Programı</b>	1
<b>Sözlü Bildiri Özetleri</b>	9
SB-1	13
SB-2	14
SB-3	15
SB-4	16
SB-5	17
SB-6	18
SB-7	19
SB-8	21
SB-9	22
SB-10	23
SB-11	24
SB-12	25
SB-13	26
SB-14	29
SB-15	30
SB-16	31
SB-17	32
SB-18	34
SB-19	36
SB-20	38
SB-21	40
SB-22	41
SB-23	42
SB-24	45
<b>Poster Bildiri Özetleri</b>	47
PB-1	49

PB-2	51
PB-3	53
PB-4	55
PB-5	57
PB-6	59
PB-7	60
PB-8	61
PB-9	63
PB-10	65
PB-11	67
PB-12	69
PB-13	70
PB-14	72
PB-15	74
PB-16	75
PB-17	76
PB-18	78
PB-19	79
PB-20	81
PB-21	83
PB-22	85
<b>Dizin</b>	<b>87</b>
<b>Sponsorlar</b>	<b>91</b>



# ***KONGRE PROGRAMI***

---



<b>29 NİSAN 2015, ÇARŞAMBA</b>		<b>20 Mayıs Amfisi</b>
<b>KAYIT</b>		<b>08:00-09:00</b>
<b>AÇILIŞ</b>	<b>Başlık: <i>Kongre Açılış Konuşması</i></b> <b>Konuşmacı:</b>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Prof. Dr. Candeğer YILMAZ</b> (Ege Üniversitesi Rektörü)</li> <li>• <b>Prof. Dr. Yeşim KIRAZLI</b> (Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanı)</li> <li>• <b>Prof. Dr. A. Yüksel GÜRÜZ</b> (Aşı Bilimi Derneği Başkanı)</li> </ul>	<b>09:00-09:15</b>
	<hr/>	
<b>SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 1</b>	<b>Başkanlar:</b>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Prof. Dr. A. Yüksel GÜRÜZ</b> (Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Aşı Bilimi Derneği)</li> <li>• <b>Doç. Dr. Mert DÖŞKAYA</b> (Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Aşı Bilimi Derneği)</li> </ul>	<b>09:15-10:00</b>
	<b>Oturum Konusu: <i>Aşı Tasarlanması ve Aşı hedefi olan enfeksiyon hastalıkları (Oturum Dili İngilizcedir)</i></b>	
<b>SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 1</b>	<b>Sözlü Bildiri-1: <i>DNA vaccines</i></b> <b>Konuşmacı: Prof. Philip Louis FELGNER</b> (University of California, Irvine Protein Microarray Laboratuvarı)	<b>09:15-09:30</b>
	<b>Sözlü Bildiri-2: <i>Recent progress with malaria vaccines</i></b> <b>Konuşmacı: Prof. Adrian HILL</b> (Oxford Üniversitesi, Jenner Enstitüsü)	<b>09:30-09:45</b>
	<b>Sözlü Bildiri-3: <i>Recent progress towards a novel efficient TB vaccine</i></b> <b>Konuşmacı: Dr. Dennis CHRISTENSEN</b> (Danimarka Statens Serum Enstitüsü, Aşı Araştırma ve Geliştirme Merkezi)	<b>09:45-10:00</b>
<b>KAHVE MOLASI</b>		<b>10:00-10:15</b>

---

**Başkanlar:**

- **Prof. Dr. Ülgen Zeki OK**  
(Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı)
- **Prof. Dr. Aykut ÖZDARENELİ** **10:15-11:15**  
(Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Viroloji Bilim Dalı)

**Oturum Konusu: Aşı Tasarlanması ve Aşı hedefi  
olan enfeksiyon hastalıkları**

---

**Sözlü Bildiri-4: Aşı geliştirilmesinde güncel omiks  
yaklaşımlar**

**Konuşmacı: Dr. Orçun HAÇARIZ** **10:15-10:30**  
(TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi Gen  
Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsü)

---

**SÖZLÜ  
BİLDİRİ  
OTURUMU 2**

**Sözlü Bildiri-5: Respiratory syncytial virüsüne  
karşı RSV-F DNA aşısının geliştirilmesi ve BALB/c  
tipi farelerde immün yanıtın incelenmesi** **10:30-10:45**  
**Konuşmacı: Yard. Doç. Dr. Erdal EROĞLU**  
(Celal Bayar Üniversitesi Mühendislik  
Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü)

---

**Sözlü Bildiri-6: Kırım-Kongo Kanamalı Ateş  
Hastalığına karşı hücre kültür tabanlı inaktif aşı  
geliştirme çalışmaları**

**Konuşmacı: Prof. Dr. Aykut ÖZDARENELİ** **10:45-11:00**  
(Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Viroloji  
Bilim Dalı, Aşı Araştırma ve Geliştirme  
Merkezi)

---

**Sözlü Bildiri-7: Leishmaniasis'e karşı aşı  
geliştirilmesinde ortaya çıkan problemler ve yeni  
yaklaşımlar**

**Konuşmacı: Prof. Dr. Adil ALLAHVERDİYEV** **11:00-11:15**  
(Yıldız Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik  
Bölümü)

---

	<b>Başkanlar:</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Prof. Dr. S. İsmet DELİLOĞLU GÜRHAN</b> (Ege Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü)</li><li>• <b>Vet. Hekim Gökhan ÖZDEMİR</b> (İzmir Veteriner Hekimler Odası)</li></ul>	<b>11:15-12:30</b>
	<b>Oturum Konusu: Veteriner Aşılar</b>	
	<b>Sözlü Bildiri-8: Veteriner aşıları alanında bir biyobenzer örneği: gE ifade etmeyen rekombinant BoHV-1 elde edilmesi</b>	<b>11:15-11:30</b>
	<b>Konuşmacı: Prof. Dr. Aykut ÖZKUL</b> (Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı)	
	<b>Sözlü Bildiri-9: Veteriner aşıları ve kalite kontrol prosedürleri</b>	<b>11:30-11:45</b>
	<b>Konuşmacı: Vet. Hekim Dr. Ahmet ARSLAN</b> (Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü, Veteriner Biyolojik Ürünler Kontrol Bölümü)	
<b>SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 3</b>	<b>Sözlü Bildiri-10: Gökkuşuğu alabalıklarında Yersinia ruckeri'ye karşı serotip 1 ve 2 kombine inaktif aşı geliştirilmesi</b>	<b>11:45-12:00</b>
	<b>Konuşmacı: Prof. Dr. Soner ALTUN</b> (Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim Dalı)	
	<b>Sözlü Bildiri-11: Sığırların trichophytosis hastalığına karşı aşı üretimi</b>	<b>12:00-12:15</b>
	<b>Konuşmacı: Vet. Hekim Nilay ÜNAL</b> (Dollvet Veteriner Aşı İlaç Biyolojik Madde Üretim Tic. ve San. A.Ş.)	
	<b>Sözlü Bildiri-12: Büyükbaş hayvanlarda E. coli ve Cl. perfringens Tip C enfeksiyonlarına karşı antiserum üretimi</b>	<b>12:15-12:30</b>
	<b>Konuşmacı: Biyomüh. Yaprak GEDİK</b> (AtaFen Veteriner Aşı Üretim Tic. ve San. A.Ş.)	
	<b>ÖĞLE ARASI</b>	<b>12:30-13:30</b>

---

**Başkan:**

- **Prof. Dr. Rüçhan USLU**

(Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Onkoloji Bilim Dalı)

**13:30-14:30**

**Oturum Konusu: *Diğer Aşılar (Kanser, nörolojik, immünolojik aşılar)***

---

**Sözlü Bildiri-13: *Akciğer kanserinde yeni terapötik yaklaşımlar: Nedir bu akciğer kanseri aşısı?***

**Konuşmacı: Doç. Dr. Burçak KARACA**

(Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Medikal Onkoloji Bilim Dalı)

**13:30-13:45**

---

**Sözlü Bildiri-14: *Uroplakin 3A proteininden türetilen antijenik peptidin iki farklı adjuvanla immün cevap yanıtlarının karşılaştırılması olarak değerlendirilmesi***

**Konuşmacı: Yard. Doç. Dr. Kenan İZGİ**

(Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı)

**13:45-14:00**

---

**Sözlü Bildiri-15: *Over kanserinde üretilen AMHR2'nin ekstrasellüler bir peptidini hedef alan bir monoklonal antikorun kanser immünterapide kullanılmak üzere üretilmesi***

**Konuşmacı: Doç. Dr. Çağrı ŞAKALAR**

(Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı)

**14:00-14:15**

---

**Sözlü Bildiri-16: *Meme kanserinde aşı modelleri***

**Konuşmacı: Doç. Dr. Levent YENİAY**

(Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı)

**14:15-14:30**

---

**Başkan:**

- **Prof. Dr. Adil ALLAHVERDİYEV**

(Yıldız Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü)

**14:30-15:00**

**Oturum Konusu: *Aşı immünolojisi, vektör, adjuvant immunomodülatörler***

---

**SÖZLÜ  
BİLDİRİ  
OTURUMU 4**

**SÖZLÜ  
BİLDİRİ  
OTURUMU 5**

---

	<b>Sözlü Bildiri-17: DNA aşuları ile uyarılan immün yanıtın artırılması ve moleküler adjuvantlar</b> <b>Konuşmacı: Yard. Doç. Dr. Sultan GÜLÇE İZ</b> (Ege Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü)	<b>14:30-14:45</b>
	<b>Sözlü Bildiri-18: Girişimsel olmayan aşı formülasyonu geliştirilmesi: adjuvanlar/taşıyıcı sistemler</b> <b>Konuşmacı: Prof. Dr. Sevda ŞENEL</b> (Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı)	<b>14:45-15:00</b>
	<b>KAHVE MOLASI</b>	<b>15:00-15:15</b>
<b>POSTER OTURUMU</b>	<b>POSTER SUNUMLARI</b> (Yer: 20 Mayıs Amfisi Fuayesi)	<b>15:15-15:30</b>

---

**Başkanlar:**

• **Dr. Kürşat DERİCİ**

(Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Analiz ve Kontrol Laboratuvarları Dairesi Başkanlığı, Tıbbi Biyolojik Ürünler Laboratuvarları Birim Sorumlusu)

**15:30-16:30**

• **Dr. Osman TOPAÇ**

(Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Aşı ile Önlenbilir Hastalıklar Daire Başkanı)

**Oturum Konusu: Aşı üretimi**

---

**SÖZLÜ  
BİLDİRİ  
OTURUMU 6**

**Sözlü Bildiri-19: Prevenar yerli üretimi süreci ve yerli üretim zorlukları**

**Konuşmacı: Devrim ÇAVUŞOĞLU**

(Pfizer A.Ş. Teknik Genel Müdür)

**15:30-15:45**

---

**Sözlü Bildiri-20: Beşeri aşılarında ülkemizde ki mevcut durum, planlananlar ve yapılanlar**

**Konuşmacı: Dr. O. Mutlu TOPAL**

(Keymen İlaç A.Ş.)

**15:45-16:00**

---

**Sözlü Bildiri-21: Aşı üretiminde geleceğin üretim tesisleri-prosesleri**

**Konuşmacı: Ömer Cem ERDEM**

(Sartonet Seperasyon Teknolojileri Ltd. Şti.)

**16:00-16:15**

---

---

**Sözlü Bildiri-22: Ülkemizde aşı kalite kontrol analizleri ve seri serbest bırakılması**

**Konuşmacı: Dr. Kürşat DERİCİ**

**16:15-16:30**

(Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Analiz ve Kontrol Laboratuvarları Daire Başkanlığı, Tıbbi Biyolojik Ürünler Laboratuvarı)

---

**Başkanlar:**

• **Prof. Dr. Hüsnü PULLUKÇU**

(Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı)

• **Uzm. Dr. Seher MUSAONBAŞIOĞLU**

(Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Bulaşıcı Hastalıklar Kontrol Programları Başkan Yardımcısı)

**16:30-17:00**

**Oturum Konusu: Klinik araştırmalar (Epidemiyolojik çalışmalar, aşı uygulama yolları, aşıların koruyuculuğu ve güvenliği), İmmünizasyon programı, finans ve ekonomi politikaları**

**SÖZLÜ  
BİLDİRİ**

**OTURUMU 7**

---

**Sözlü Bildiri-23: Genişletilmiş bağışıklama programı**

**Konuşmacı: Dr. Osman TOPAÇ**

**16:30-16:45**

(Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Aşı ile Önlenebilir Hastalıklar Daire Başkanı)

---

**Sözlü Bildiri-24: Ulusal aşı kapasitesini geliştirmeye yönelik politikalar**

**Konuşmacı: Dr. Emin TURAN**

**16:45-17:00**

(Sanofi-Pasteur A.Ş.)

---

**GALA YEMEĞİ (Ege Üniversitesi Konukevi)**

**19:30**



<b>30 NİSAN 2015, ÇARŞAMBA</b>	<b>20 Mayıs Amfisi</b>
<b>KAPANIŞ TÖRENİ ve KATILIM BELGELERİNİN TAKDİMİ</b>	<b>08:00-09:00</b>
<b>SOSYAL PROGRAM</b>	<b>09:00-20:00</b>



## ***SÖZLÜ BİLDİRİ ÖZETLERİ***

---



**DNA Vaccines**

Philip L. Felgner

University of California Irvine, School of Medicine, Irvine, CA 92697, USA

Email: pfelgner@uci.edu

Beginning in 1990 a tool 'naked DNA' became available to those involved in vaccine development. It showed great promise for both the improvement of existing vaccines and the development of vaccines against disease targets for which there are so far no effective vaccines. And yet the discovery that naked DNA could be used in vaccination came about more or less by accident, as a result of attempts to use non-replicating bacterial plasmid expression vectors (encoding proteins of interest) for gene therapy. In experiments designed to test the use of cationic liposomes (lipid-based packages) for delivering plasmid DNA into cells, it was found that the 'control' animals, into which naked DNA alone was injected intramuscularly, expressed the highest levels of the transgenic protein. This unexpected discovery suggested a new approach to immune stimulation. If animals could be transfected by injection with DNA, such that the encoded protein was expressed in situ, would immunity specific to this protein (the antigen) result? The answer is yes. In 1993, studies in mice showed that intramuscular injection of plasmid DNA encoding influenza virus antigens generated immune responses from both the humoral system (antibodies and B cells) and the cell-mediated system (cytotoxic T cells); these immune responses were sufficient to protect the animals against a live influenza virus infection. These results set off a flurry of research and development activity leading to the more than 4000 papers on 'DNA vaccines' in the literature today. All of the key developments leading to this productive area of immunology and vaccine research occurred in Dr. Felgner's laboratory. That naked DNA could be expressed in mouse muscle after direct injection was published in 1990 in *Science*. And the demonstration of naked DNA vaccines was published in *Science* in 1993. The history and progress of this interesting area of immunology and vaccine science will be reviewed here.

## Recent Progress with Malaria Vaccines

Adrian V. S. Hill

The Jenner Institute, Oxford University

Email: adrian.hill@ndm.ox.ac.uk

A highly effective malaria vaccine is a major goal of global health research and will likely require a multi-stage product. To date, RTS,S/AS01, the leading candidate vaccine has achieved 30-50% efficacy of modest duration in a phase 3 trial. Oxford researchers are developing the concept of a highly effective multi-stage *P. falciparum* vaccine to the point of proof-of-concept phase II testing in Europe, prior to trials in malaria-endemic areas.

Remarkable recent advances in vaccine design for all four stages of the *P. falciparum* parasite's life-cycle allow testing of a multi-stage multi-component vaccine for the first time, with strong chances of success. These advances are i) the availability of a new vectored prime-boost vaccination regime based on the chimpanzee adenovirus technology that has been found to induce exceptionally potent CD8<sup>+</sup> T cell responses and high titre antibodies against multiple malaria antigens; ii) the development of an improved virus-like particle (VLP) version of the leading partially protective RTS,S sporozoite vaccine candidate, termed R21, that lacks the excess of HBsAg in RTS,S; iii) the identification, using a vector technology screen, of the blood-stage antigen RH5 as the first antigen to induce potent strain-transcending neutralisation of blood-stage parasites in *in vitro* growth inhibition assays; and iv) the demonstration that antibodies against a mosquito-stage antigens that induce 100% transmission blocking against field isolates of *P. falciparum* in Africa are inducible by a new nanoparticle vaccine candidate.

In parallel similar approaches using vectors and VLPs are underway to target the pre-erythrocytic stages of *P. vivax*, including the hypnozoite, and a phase I trial of the vivax blood-stage vaccine candidate, PvRII, is nearing completion.

We are aiming to undertake phase I / II clinical trials to assess the *P. falciparum* pre-erythrocytic, blood-stage and mosquito-stage components individually, and then together, using state-of-the art immunomonitoring, key functional assays of vaccine-induced immunogenicity, and sporozoite and blood-stage parasite challenges to measure efficacy prior to field testing. An update on this programme will be presented. A viral vectored prime-boost regime has recently shown high efficacy against malaria infection in East Africa and the first combination trial of RTS,S/AS01 with these vectors has been completed.

Substantial progress has also been made in attaining high level efficacy against homologous parasite strain challenge with cryopreserved irradiated sporozoites. Intravenous immunisation was required for efficacy along with four to five immunisations and field trials of this approach are now beginning.

The prospects for achieving high level vaccine efficacy in the field with some of these approaches now appear very good.

## **Recent Progress Towards a Novel Efficient TB Vaccine**

Dennis Christensen

Statens Serum Institut, Copenhagen, Denmark  
Email: den@ssi.dk

More than one-third of the world's population is infected with *Mycobacterium tuberculosis*. The only vaccine, *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin (BCG), does not prevent adult pulmonary TB or reactivation of latent infection. Candidate vaccines currently under clinical development have been designed to improve BCG efficacy but not prevent reactivation of latent infection.

The vaccine discovery paradigm for Tuberculosis has thus been to mimic the natural immune response to infection and thus to select dominant antigens and administer them in delivery systems that promote strong Th1 responses, because IFN-gamma is recognized as the main protective cytokine during infection. However, the BCG vaccine is a strong inducer of IFN-gamma producing Th1 cells yet has limited protection in adults, and the MVA-Ag85 vaccine that boosts these responses even higher recently showed disappointing data in a clinical efficacy trial.

I will discuss ongoing efforts to improve the efficacy of subunit vaccines through adjuvant design and antigen composition with a focus on the most important features for a novel TB vaccine to be administered to a global population with a high prevalence of latent TB.

Recent data from mouse and non-human primate models of vaccine promoted protective immunity suggest that instead of boosting Th1 and IFN- $\gamma$ , supplementing BCG with central memory T cells (TCM) that are insufficiently induced by BCG may be a feasible avenue towards TB vaccines that efficiently protect the TB infected lung. We have thus found that although BCG control *M. tuberculosis* growth for 7 weeks of infection, the protection was gradually lost as the infection entered the chronic phase. The resulting regrowth of *M. tuberculosis* coincided with an almost complete disappearance of central memory T cells. Booster vaccination with a subunit vaccine (Ag85B-ESAT-6+CAF01) that expanded the TCM population, and the maintained this population in the late stage of infection was associated with enhanced control of bacterial growth. These results thus suggest that TCM cells with the potential to continuously replenish the T cells at the site of infection can prevent attrition and functional exhaustion, and thus efficiently prevent reactivation of latent infection.

**Aşı Geliştirilmesinde Güncel Omiks Yaklaşımlar**

Orçun Haçarız

TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsü, Gebze, Kocaeli

Email: orcun.hacariz@tubitak.gov.tr

Günümüzde insan ve hayvan sağlığı açısından önem arz eden ve büyük ekonomik kayıplara yol açan birçok parazite (*Fasciola hepatica* gibi) karşı etkili aşılar geliştirilememektedir. Bu durumun başlıca nedenlerinden birinin parazit biyolojisinin tam olarak anlaşılabilmesi olduğu düşünülmektedir. Alışılmış yöntemlerle sınırlı sayıda parazit molekülü tanımlanabilirken, omiks (omics; bir biyolojik maddenin tümünün incelenmesi) yaklaşımları ile tanımlanabilen molekül sayısı binlerce olabilmektedir.

Proteomik (protein-omics); tüm proteinlerin, genomik (gen-omics); tüm DNA'nın, transkriptomik (transcript-omics) ise tüm transkriptlerin (mRNA) araştırılması anlamında kullanılmaktadır. Sıvı kromatografisine bağlı kütle spektrometre yöntemleri proteomik çalışmalarında yaygın olarak kullanılmakta, yeni nesil dizileme ile tüm genetik madde incelenebilmektedir. Bahsedilen yöntemler, laboratuvar çalışmalarından elde edilen verinin çeşitli işlem kümeleri ile bilgisayar ortamında (in silico) anlamlandırılmasına dayanmaktadır.

Bu sunumda, güncel omiks yaklaşımlarının *F. hepatica* ile ilgili sağladığı bulgular geçmişteki ve şu an yürütülen çalışmalar dâhilinde aşı geliştirme yönünden tartışılacaktır.



## Respiratory Syncytial Virüsüne Karşı RSV-F DNA Aşısının Geliştirilmesi ve BALB/c Tipi Farelerde İmmün Yanıtın İncelenmesi

Erdal Eroğlu<sup>1,2</sup>, Pooja M. Tiwari<sup>2</sup>, Alain B. Waffo<sup>2</sup>, Vida A. Dennis<sup>2</sup>, Shree R. Singh<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Celal Bayar Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Muradiye/ Manisa, 45140, Türkiye

<sup>2</sup>Alabama State Üniversitesi, NanoBiotechnology Araştırma Merkezi, Montgomery/ Alabama, 36104, USA

Email: erogluerdal@gmail.com

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Respiratuvar sinsitiyal virüsü (RSV) özellikle 2 yaşına kadar hemen hemen tüm çocuklarda görülmekle birlikte, tüm dünyada ölümlere varan ciddi solunum yolu enfeksiyonlarına sebep olmaktadır. Bu virüse karşı sadece yüksek risk altındaki çocuklarda izin verilen bazı genel antiviral ilaçlar dışında, henüz koruma sağlayan lisanslı bir aşı geliştirilememiştir. Bundan 50 yıl kadar önce yapılan aşı geliştirme denemelerinde, formalin ile inaktive edilmiş aşı Th2 tipinde bağışıklık sonucu tetikleyerek alerjik reaksiyonlara sebep olmuş ve bazı deneklerde ölüme sebebiyet vermiştir. Yaptığımız çalışmada RSV'nin yüzeyinde bulunan RSV-F (fusion) proteinini ifade eden gen bölgesi pHCMV1 vektörüne klonlanarak RSV'ye karşı bir DNA aşısı geliştirilmiş ve BALB/c tipi farelerde immün yanıtın tipi incelenmiştir.

**MATERYAL ve METOD:** RSV-F proteinini ifade eden gen bölgesi PCR ile çoğaltılarak, *Bam*HI ve *Not*I restriksiyon enzimi kesim noktalarından pHCMV1 vektörü içine klonlanmasıyla bir DNA aşısı geliştirilmiştir. Ayrıca, geliştirilen aşı GFP geni ile de etiketlenmiştir. Daha sonra saflaştırılan DNA aşısı BALB/C tipi farelere kol kası yoluyla 1, 15 ve 29'uncu günlerde uygulanarak, fareler immünize edilmiştir. Ayrıca, 0, 14, 28 ve 49'uncu günlerde farelerden kan örnekleri toplanarak ELİSA tekniği ile üretilen toplam IgG ve isotipleri (IgG2a, IgG2b ve IgG1) belirlenmiştir. Son olarak, toplanan kan örnekleri değişik oranlarda seyreltilerek *in vitro* da canlı RSV üzerine uygulanmıştır.

**SONUÇ:** Öncelikli olarak, geliştirilen DNA aşısının *in vitro* da üretildiği GFP etiketi sayesinde gösterilmiştir. Kan örneklerinde, 28inci günden sonra (özellikle 49'uncu günde) RSV'ye özel IgG üretildiği gösterilmiştir. IgG'nin isotiplerine bakıldığında yüksek oranda IgG2a ve IgG2b gözlenirken IgG1'e rastlanmamıştır. İso tip oranları (IgG1/IgG2a ve IgG2b/IgG2a) göz önünde bulundurulduğunda, geliştirilen DNA aşısının doğal RSV enfeksiyonlarında olduğu gibi Th1 tipi antibadi yanıtı tetiklediği gözlenmiştir. Son olarak, kan örneklerinin (1:8, 1:16 seyreltmelerde) canlı RSV'nin enfeksiyon kabiliyetini *in vitro* da %46' ya kadar düşürdüğü gösterilmiştir.

**TARTIŞMA:** Yapmış olduğumuz çalışmada RSV-F DNA aşısının BALB/c tipi farelerde doğal RSV enfeksiyonlarındaki gibi Th1 tipi antibadi yanıtı tetiklediği görülmüştür.

**TEŞEKKÜRLER:** Bu proje NSF-CREST ve NSF-HBCU-UP tarafından desteklenmiştir (Proje no: HRD-1241701 ve HRD-1135863)

## Kırım-Kongo Kanamalı Ateş Hastalığına Karşı Hücre Kültür Tabanlı İnaktif Aşı Geliştirme Çalışmaları

Aykut Özdarendeli

Erciyes Üniversitesi, Aşı Araştırma ve Geliştirme Merkezi  
Email: aozdarendeli@erciyes.edu.tr

Enfeksiyöz hastalıklar, günümüzde halk sağlığı açısından en önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden olmaya devam etmektedirler. Viral hemorajik hastalıklar birçok ülkede olduğu gibi son yıllarda ülkemizde de görülmekte olup hem toplum genelini hem de halk sağlığı çalışanlarını tehdit etmektedir. Önemli viral hemorajik hastalığa neden olan bazı virüsler (Lassa, Marburg, Ebola, Dengue, Hanta ve Kırım-Kongo kanamalı ateş hastalığı virüsleri vb.) bir enfeksiyon ajanı olarak toplum sağlığını tehdit ederken aynı zamanda biyolojik silah olarak kullanılma potansiyelinde olmaları ayrı bir önem atfedilmesine neden olmaktadır.

Kırım-Kongo kanamalı ateş hastalığı (KKKAH) virüsü Bunyaviridae ailesinin *Nairovirus* genusunda yer almaktadır. KKKAH virüsü diğer memelilerin aksine sadece insanlarda ciddi klinik semptomlarla seyreder. İnsanlardaki kanamalı hastalık tablosu peteşi, yaygın ekimoz, kanama ve karaciğerdeki fonksiyon bozukluğu şeklinde kendini göstererek mortalite oranı %30'lara kadar çıkabilir. Son yıllarda vaka sayılarının artması ve yeni coğrafik bölgelerde hastalığın ortaya çıkması hastalığın kontrol altına alınması için acil kontrol stratejilerinin geliştirilmesini gerektirmektedir. Ülkemizdeki KKKAH ile ilgili ilk klinik vakalar 2002 yılında Tokat'da bildirilmiş ve şu ana kadar 8000'in üzerinde vaka görülmüş olup ülkemiz ciddi bir KKKAH salgını ile karşı karşıyadır. 2014 yılında 900'ün üzerinde vaka bildirilmiş ve mortalite oranı yaklaşık %5'dir. Bu nedenle ülkemiz için KKKAH karşı aşı geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır.

Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'nun (TÜBİTAK) desteklediği 108G126 nolu proje kapsamında KKKAH'a karşı, çalışma grubumuz tarafından hücre kültürü tabanlı inaktif bir aşı geliştirilmiştir. Yapılan çalışmalarda aşı uygulanan Balb/c farelerinde yüksek düzeyde nötralizan antikorların oluştuğu saptanmıştır. Daha da önemlisi aşılanan IFNAR farelerinin KKKAH Kelkit06 suşu ile eprüvasyonunda %80'lik koruma oranının olduğu bulunmuştur. Devam eden projede Faz I aşamasına başarı ile gelinmiş ve çalışmalar devam etmektedir.

## Leishmaniasis'e Karşı Aşı Geliştirilmesinde Ortaya Çıkan Problemler ve Yeni Yaklaşımlar

Adil M. Allahverdiyev

Yıldız Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, Hücre Kültürü ve Doku Mühendisliği  
Laboratuvarı, Esenler/İstanbul, 34220, Türkiye  
Email: adilmoglu@gmail.com

Leishmaniasis dünyanın ve ülkemizin en önemli halk sağlığı problemlerinden birisidir. Uzun yıllardan beri leishmaniasise karşı aşı geliştirilmesi için çalışmalar yapılmasına rağmen, halen etkin bir aşı bulunmamaktadır. Şimdiye kadar yapılan aşı çalışmalarının temelini, öldürülmüş, atennüe edilmiş tüm parazit antijenleri, saflaştırmış, rekombinant protein aşılı ve DNA aşılı oluşturmaktadır. Uygulanan farklı tür aşılıların avantajları yanında, klinikte kullanımını sınırlayan pek çok dezavantajı da bulunmaktadır. Yapılan son çalışmalarda parazitin en önemli yüzey antijenlerinden biri olan LPG'ye önem verilmektedir. Ancak LPG'nin tek başına veya mevcut adjuvanlarla yeterli etkinlik sağlamadığı gösterilmiştir. Buna göre de, daha önce tamamladığımız 108S170 no'lu TÜBİTAK projesi kapsamında ilk kez olarak LPG'nin, daha önce adjuvan özelliği gösterilmiş olan poliakrilik asit (PAA) ile konjugatı hazırlanması ve bu konjugatın fare modellerinde antileishmanial aşı olarak etkinliği incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar, LPG-PAA konjugatının Visseral Leishmaniasis'e karşı %83 oranında koruma sağladığını göstermiştir.

Leishmaniasis'e karşı aşı geliştirilmesinde uygulanan başka bir yöntem de zayıflatılmış(atennüe) aşılıların kullanılmasıdır. Mevcut yaklaşımlardan farklı olarak, bu alanda yaptığımız çalışmalarda ilk kez olarak polielektrolitlere (Polioksidonyum (POX) ve Polietilenglikol (PEG)) maruz bırakılan canlı *L.infantum* parazitlerinin virülanslığı azaltılmış formları elde edilmiş ve yapılan in vitro ve in vivo çalışmalar sonucunda bunların etkin bir aşı adayı olduğu ortaya çıkmıştır.

Bu çalışmalarda özellikle POX molekülünün yüksek miktarda adjuvan özelliğe sahip olduğunun tespit edilmesinin ardından, bu molekülün farklı yöntemlerle hazırlanan öldürülmüş *Leishmania* parazitleriyle birlikte fiziksel karışım halindeki formülasyonlarının güçlü bir koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir. Adjuvanlara dayalı aşılıların geliştirilmesinde bazı avantajların yanında, antijenlerin, antijen sunucu hücrelere düşük verimlilikle tanıtılması, formülasyonların sekonder immün yanıtı indükleyememesi nedeniyle uzun süreli koruma sağlanamaması gibi bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Son yıllarda, bu dezavantajları barındırmayan, antijenlerin direkt olarak antijen sunucu hücrelere transferine imkan sağlayan ve yüksek adjuvan özellikli nanopartiküllere dayalı taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesine yönelik çalışmalar önem kazanmıştır. Bu özelliklerini dikkate alarak, çalışmalarımızın daha sonraki aşamasında, Poli-laktik-ko-glikolik asit (PLGA) nanopartiküllerine dayalı taşıyıcı sistemlere *Leishmania* parazitlerinin farklı yöntemlerle elde edilen immünojen moleküllerini

yükleyerek hazırlanan formülasyonların ilk kez olarak aşı adayı potansiyelleri belirlenecektir. Bu konu ile ilgili çalışmalarımız 1003 no'lu Öncelikli Alanlar TÜBİTAK Projesi kapsamında yürütülmektedir.

Ayrıca, laboratuvarımızda elde edilen immünojen LPG molekülü kullanılarak hibridoma teknolojisine dayalı tanı kiti geliştirilmesi için çalışmalarımız Santez projesi kapsamında yürütülmektedir. Böylece, laboratuvarımızda Leishmaniasis'e karşı aşı geliştirilmesine yönelik yapılan ve yapılmakta olan çalışmalar, dünya ve ülkemiz açısından oldukça önemli olup, yeni nesil aşuların elde edilmesinde geleceğe yönelik yeni ümitlerin doğmasına yol açmaktadır.

Teşekkürler: Bu çalışma T.C. Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı ve TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (Proje no: 0254.STZ.2013-2 ve SBAG 213S148).

## Veteriner Aşıları Alanında Bir Biyobenzer Örneği: gE İfade Etmeyen Rekombinant BoHV-1 Elde Edilmesi

Aykut Özkul

Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı  
Email: aykut.ozkul@ankara.edu.tr

Koruyucu hekimlik uygulamalarının en önemli araçlarının başında şüphesiz aşılar gelmektedir. Aşılarla ilgili tarihsel süreç MÖ 2000 yıllarına kadar uzanmaktadır. Günümüzde çok farklı aşı üretim protokolleri tanımlanmış olsa da hepsinin ortak özelliği yüksek teknoloji desteği ile ve spesifik hedeflere uygun olarak üretilmeleridir. Bu kapsamda günümüzde üzerinde en çok odaklanılan aşıların başında “**DIVA**” (*Differentiation Infected and Vaccinated Animals*) yaklaşımı olanlar gelmektedir. Bu çalışmada daha önce tanımlanmış, patent süresi dolmak üzere olan ve veteriner sağlığında kullanılan bir aşının Biyobenzerinin geliştirilmesi planlanmıştır. Bu amaçla özellikle sığır yetiştiricilikleri açısından verim performansını olumsuz etkileyen Sığır Herpesvirüs tip 1 (BoHV-1)'in bir aşı adayı olarak defektif (gE ifade etmeyen) mutantının elde edilmesi planlanmıştır. Elde edilen virus inaktive edildikten sonra aşı formülasyonu geliştirilmiş ve ticari eşdeğeri paralelinde sahada bir grup hayvanda denenmiştir. Gerek bireysel bağışıklık verileri ve gerekse elde edilen bağışık yanıtın gücü açısından yapılan değerlendirmelerde çalışmamızda geliştirilen ve ticari olarak piyasada bulunan aşılar arasında eşdeğer bir bağışıklama elde edildiği gözlenmiştir. Bu açıdan değerlendirildiğinde sunulan çalışma veteriner sağlığında kullanılmak üzere geliştirilen bir biyobenzer aşı olma niteliğindeki ilk olma özelliğindedir.

**Veteriner Aşıları ve Kalite Kontrol Prosedürleri**

Ahmet Arslan

Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü, Veteriner Biyolojik Ürünler Kontrol Bölümü  
Email: ahmetarslan@bornovavet.gov.tr

Ülkemizdeki veteriner biyolojik ürünlerin üretimi ile ithalat / ihracatı için mevcut mevzuatların tanımı, kapsamı ve uygulamaları özetlenerek, esas aldığı uluslararası mevzuatlar tanımlanmıştır. Bu ürünlerde satışa esas ve diğer amaçlarla (satış izni dışındaki) kalite kontrol testlerinin yapılması ve satış izinlerinin düzenlenmesinden sorumlu İzmir Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü bünyesindeki Veteriner Biyolojik Ürünler Kalite Kontrol Merkezinin görev ve sorumlulukları ile yapısı ve personel durumu özetlenmiştir.

Veteriner biyolojik ürünlerde uygulanmakta olan kalite kontrol işlemleri hakkında bilgi verilmiş ve kalite kontrol işlemlerindeki yaklaşımlar tanımlanmıştır. Veteriner aşıları ve immün serumlardan numune alma işlemlerini de kapsayacak şekilde uygulanan test tipleri, bu testlerin nitelikleri ve yaklaşık test süreleri belirtilmiştir. Yıllara göre kalite kontrol testi yapılan biyolojik ürünlerin sayıları, hayvan ve aşı türüne göre dağılımları, satış izni verilen toplam dozları, uygun çıkan / çıkmayan ürünlerin miktarları ile genel toplam içindeki ülkemizde üretilen veya ithal edilen biyolojik ürünlerin payları ile ilgili değerlendirmeler sunulmuştur. Satış izni verilen veteriner biyolojik ürünlerin sahada izlenmesine yönelik sistemlerden bahsedilmiştir.

Veteriner biyolojik ürünlerde pazarlama izni verilmesindeki süreçler tanımlanmış ve pazarlama izin dosyalarını değerlendirerek karara bağlayan “Veteriner Biyolojik Ürünler Değerlendirme Komisyonu”nun çalışma usul ve esasları konusunda bilgilendirme yapılmıştır. Pazarlama izin dosyalarında bulunması gereken temel bölümler tanımlanmıştır. Ayrıca ülkemizdeki ruhsatlı veteriner biyolojik ürünlerin sayısı, hayvan türlerine göre dağılımları, toplam ruhsatlı biyolojik ürün içindeki ülkemizde üretilen ve ithal edilen ürünlerin payları hususunda değerlendirmeler yapılmıştır. Yıllara göre komisyona giren pazarlama izin dosya sayıları konusunda veriler sunulmuştur.

## Gökkuşığı Alabalıklarında *Yersinia ruckeri*'ye Karşı Serotip1 ve 2 Kombine İnaktif Aşı Geliştirilmesi

Soner Altun

Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim Dalı Görükle/Bursa  
16059, Türkiye  
Email: saltun@uludag.edu.tr

**GİRİŞ VE AMAÇ:** Bu güne kadar hazırlanan ticari yersiniozis aşıları serotip 1'den hazırlanmış olup bu aşılardan diğer serotipler için de koruyucu olduğu yaygın bir görüştür. Ancak, son yıllarda yapılan çalışmalar serotip 1'den hazırlanmış olan *Yersinia ruckeri* aşılarının istenilen korunmayı sağlanamadığından serotip 2 suşuyla kombine edilen aşılardan kullanımı üzerinde durulmaktadır. Bu çalışmada *Yersinia ruckeri* suşlarından seçilen biri serotip 1, diğeri serotip 2 özellikte olan iki izolattan üç farklı deneysel aşı hazırlanmıştır. Deneysel aşılardan gökkuşığı alabalıklarına (immersiyon ve enjeksiyon yöntemleriyle) uygulanması sonucunda, hem serotip 1'den hazırlanmış olan (A<sub>1</sub>), hem de serotip 2'den hazırlanan (A<sub>2</sub>) aşısına oranla kombine aşının (A<sub>3</sub>) daha yüksek düzeyde korunma sağladığı (serotip farklılıklarının önemli olduğu) tespit edilmiştir.

**MATERYAL ve METOD:** SDS-PAGE ve immunblot analizi sonucunda belirlenen 6 adet *Yersinia ruckeri* suşu üzerinde virulens çalışmaları yapılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda iki farklı *Yersinia ruckeri* suşu deneysel aşı üretiminde kullanılmak üzere seçilmiştir. Aşı üretimi için *Yersinia ruckeri* suşları pH'sı 7.2 olan TSB içerisinde çalkalamalı soğutmalı inkübatörde 24 - 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası 2 N NaOH kullanılarak kültürlerin pH'sı 9.8'e otomatik pH metre yükseltilmiş ve 2 saat süreyle bekletilmiştir. Bu pH'da lize olan hücreler santrifüjle 6000 dev / dk.) ayrılarak % 0.3 formalinde (+4 °C'de 12 saat tutularak) inaktive edilmiştir. Ürettiğimiz deneysel aşılardan (A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>) deney gruplarına immersiyon ve enjeksiyon yöntemiyle ayrı ayrı uygulanmıştır. Aşılamadan sonra 25, 45, 75 ve 105. günlerde deney grubundaki balıklara periton içi enjeksiyonla (0.1 ml), LD<sub>70</sub> oranındaki virulansı yüksek *Y. ruckeri* suşları ile eprüvasyon yapılarak RPS oranlarına göre aşılardan etkinlikleri değerlendirilmiştir.

**SONUÇ:** Bu çalışmada hazırlanan üç deneysel aşının sağladığı bağışıklık seviyeleri değerlendirildiğinde, immersiyon yöntemiyle aşılamada A<sub>3</sub>, A<sub>1</sub> ve A<sub>2</sub>'ye oranla daha yüksek korunma sağlamıştır (P < 0.01). Enjeksiyon yöntemiyle aşılamada ise sadece 45. gün A<sub>3</sub>, A<sub>1</sub>'e oranla (P < 0.05), A<sub>2</sub>'ye oranla (P < 0.01) seviyesinde istatistiki önemi olan bir koruyuculuk farkı görülürken diğer günlerde istatistiki farklılık bulunmamıştır. Ancak kombine aşı (A<sub>3</sub>) diğer aşılardan oranla her iki uygulama yöntemine göre daha yüksek koruma sağlamıştır.

**TARTIŞMA:** Bu çalışmada Serotip I ve serotip II'nin kombinasyonundan hazırlanan (A<sub>3</sub>) aşının diğer aşılardan (A<sub>1</sub> ve A<sub>2</sub>'ye oranla) daha yüksek korunma (bağışıklık) sağladığı saptanmıştır. Günümüzde yalnızca serotip I'den hazırlanmış olan ticari aşılardan kullanılması nedeniyle çalışmamızda elde edilen sonuçlar önem taşımaktadır.

## **Sığırların *Trichophytosis* Hastalığına Karşı Aşı Üretimi**

**Nilay Ünal<sup>1</sup>, Derya Pirinççi<sup>1</sup>, Osman Yaşar Tel<sup>2</sup>, Serdal Dursun<sup>1</sup>, Hülya Kaplan<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Dollvet Veteriner Aşı İlaç Biyolojik Madde Üretim Ticaret ve Sanayi A.Ş.

<sup>2</sup>Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji A.B.D.

Email: n.unal@dollvet.com.tr

Trichophytosis, insan ve hayvanların *Trycophyton* genusuna ait funguslar tarafından oluşturulan bulaşıcı bir hastalıktır. Dünyada hayvancılık sektöründe önemli ekonomik kayıplara neden olan ve zoonoz bir hastalık olmasından dolayı da insan sağlığını tehdit eden bulaşıcı bir deri hastalığıdır. Hastalığa bağlı olarak ortaya çıkan et ve süt kaybı, deri kalitesinin bozulması büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Ayrıca, özellikle hayvan bakımı yapan kişilerin ve veteriner hekimlerin sağlığını büyük ölçüde tehdit etmektedir. Bu projenin amacı söz konusu enfeksiyona karşı saha izolatlarından seçilecek şuşlar kullanılarak attenüe canlı aşı hazırlamak ve bu aşının ülkemizde enfeksiyona neden olan hastalık etkenine karşı koruyuculuğu ve tedavi edici özelliğini saptamaktır.

Bu proje iki aşamalı olarak uygulanmıştır: Birinci aşaması hasta hayvanlardan numunelerin toplanması, izolasyon ve identifikasyonu ile elde edilen izolatlardan aşı suşu seçimi işlemleridir. Bu çalışmalar Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji A.B.D. ile birlikte gerçekleştirilmiştir. İkinci aşamada ise seçilen şuşlar ile endüstriyel düzeyde aşı üretimi uygulamaları yapılmıştır.

Çalışmanın birinci aşamasında Türkiye'nin değişik bölgelerindeki illerde saptanan Trichophytosisli hayvanlardan toplam 187 adet materyal toplanmış, makroskopik ve mikroskopik değerlendirmeler sonucunda seçilen 20 izolat ITS1 bölgelerinin iki yönlü baz dizisinin sekans analizi ile belirlenmesi sonucu moleküler olarak *Trichophyton verrucosum* yönünden identifiye edilmiştir.

Sonuçta, seçilen izolatların halen aşı uygulamalarında kullanılmakta olan şuşlarla %99 uyumlu olduğu saptanmıştır. Daha sonra immunojenite testleri gerçekleştirilmiş, aşı suşu olarak seçilmiş ve attenüe edilmiş olan şuşlar çoğaltılarak sterilite, zararsızlık ve saflık yönünden Avrupa Farmakopisi'nde belirtilen şartlara uygun olarak test edilmiş, stoklanmıştır.

Projenin ikinci aşamasında seçilen bu attenüe şuşlar kültüre edilerek çoğaltılmış ve aşı üretimi gerçekleştirilmiştir. Üretilen aşular potens ve güvenlik testleri ile değerlendirilmiştir. Çalışmalar sonucunda sığırların trichophytosis hastalığına karşı etkili ilk yerli trichophytosis aşısı üretimi gerçekleştirilmiştir.

Teşekkür: Bu çalışma, KOSGEB Ar-Ge İnnovasyon ve KOSGEB Endüstriyel Uygulamalar Programları tarafından desteklenmiştir.



## **Büyükbaş Hayvanlarda *E. coli* ve *Cl. perfringens* Tip C Enfeksiyonlarına Karşı Antiserum Üretimi**

Yaprak Gedik, Mestan Özyer, Ahmet Gedik

Ata Fen A.Ş.

Email: yaprakgedik@gmail.com

*E.coli* ve *C.perfringens* tip C etkenleri özellikle 1-20 günlük yeni doğan yavru­larda yüksek ölüm oranıyla seyreden Septisemi ve Enterotoksemi enfeksiyonlarına neden olmaktadır. Yeni doğan yavru­larda *E.coli*'den kaynaklanan septisemi vakaları özellikle buzağılarda olmak üzere küçük ve büyükbaş hayvanlarda yaygın olarak seyreden bir enfeksiyondur. *E.coli* septisemisi kuzu ve oğlaklarda da ciddi kayıplara neden olabilmektedir. Aynı şekilde *C.perfringens* Tip C beta toksininden ileri gelen toksemiler yeni doğan yavru­larda yaygın olarak ölümlere neden olurlar. Bu tip enfeksiyonlarda tedavi şansı oldukça düşüktür ve yeni doğan yavru­ların aşılama yoluyla korunması mümkün değildir. Yavru­ların *E.coli* enfeksiyonlarından korunması annelerin gebeliğın son döneminde aşılınması yoluyla mümkün olsa da, yavru­ların annelerinden koruyucu düzeyde antikor alarak bu hastalıklardan korunması uygulama, sevk ve idareye bağlı birçok nedenle tam olarak gerçekleşmemektedir. Bu nedenle yeni doğan yavru­ların hiperimmün serum ile korunmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Kombine antiserum üretim sürecinde ilk olarak hayvanların immunizasyonunda kullanılacak antijenlerin (*E.coli* K99 ve *C.perfringens* tip C beta toksoitlerin) üretimi ve kalite kontrol testleri yapılmıştır. Hazırlanan antijenler formüle edildikten sonra serum hayvanlarına 6-10 kez uygulanarak hiperimmunizasyon yapılmış ve hayvanların serumları alınmıştır. İstenen antikor seviyesine ulaşıldığı tespit edilen antiserumlar inaktivasyon, filtrasyon, konsantrasyon gibi proseslerden geçirildikten sonra formüle edilmiş ve önce laboratuvar ortamında, daha sonra deney hayvanlarında test edilmiştir. Ön deneme çalışmalarının olumlu sonuçlanması ile hedef hayvanlarda testler yapılmıştır. Elde edilen kombine antiserum sterilite, zararsızlık, etkinlik ve stabilite gibi çeşitli kalite kontrol testlerine tabi tutulmuştur. Yapılan çalışmalar sonucunda üretilen antiserum standardize edilerek *E. coli* ve *C. perfringens* in sebep olduğu hastalıklara karşı kullanılabilen kombine antiserum elde edilmiştir.

Kombine antiserumlar koruyuculuk özelliğinin yanında tedavi etme amacıyla da kullanılabilir. *E.coli* ve *C. perfringens* tip C etkenlerine karşı koruma sağlayacak bir antiserumun koruyucu ve tedavi edici amaçla kullanılabilir olması ve antiserum kullanımının ölümlere karşı hızlı ve güvenli bir koruma sağlanması çiftlik sahipleri ve veteriner hekimler tarafından tercih edilmesini sağlamaktadır.

## **Akciğer Kanserinde Yeni Terapötik Yaklaşımlar: Nedir Bu Akciğer Kanseri Aşısı?**

Burçak Karaca

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Medikal Onkoloji Bilim Dalı  
Email: karacaburcak@hotmail.com

Akciğer kanseri halen tüm dünyadaki kansere bağlı en sık ölüm nedenidir. İleri evre hastalıkta medyan sağkalım 10 ay civarında iken EGFR ve ALK inhibitörleri gibi moleküler hedefleyici ajanların kullanımı ile hastalığın kaderi değişime uğramıştır.

Tümör immunolojisi alanında yapılan çalışmalar artmakta ve hedef antijenlerin belirlenmesi ile immuno-terapötik yaklaşımlar yeni tedavi trendini oluşturmaktadır.

Kanser immunoterapisindeki temel amaç, tümör hücresi tarafından çeşitli yollarla susturulmuş olan immun sistemi yeniden aktive etmek ve tümör hücrelerini tanı hale getirmektir. Bu konuda üç temel yaklaşım söz konusudur. Bunlardan ilki tümörle ilgili antijenlerin hedef alındığı monoklonal antikor aracılı hücre ölümü, ikincisi non-antijen spesifik immun sistem modülasyonu yapan check point inhibitörleri ve üçüncüsü de tümör ilişkili antijenler aracılığıyla immun sistemin T helper, T sitotoksik hücrelerini uyarmayı ve uygun antikor oluşumunun tetiklenmesi hedefleyen terapötik kanser aşılardır.

İyi bir aşının içeriğinde mümkünse tümör spesifik iyi bir antijen, taşıyıcı sistem, immun sistemi tetikleyen bir adjuvan ve immun supresyonu engelleyebilecek modülatör moleküller bulunmalıdır.

### **1.TAM PROTEİN AŞILARI**

#### **1A. MAGE-3**

Aşı çalışmalarına bakıldığında ilk umut verici sonuçlar Melanoma Associated Antijen-3 (MAGE-3) ile elde edilmiştir. Bu proteinin fonksiyonu tam olarak bilinmemekle beraber hem erken hem de ileri evde küçük hücreli dışı akciğer kanserinde (KHDAK) pozitif saptanmakta ve kötü prognozla ilişkilendirilmektedir. Testis ve plasenta dışında yalnızca tümör dokusunda bulunmakta ve KHDAK'de %20-50 oranında MAGE-A3 ekspresyonu saptanmaktadır. Aşı, purifiye MAGE- A3 rekombinan proteini ve H. influenza protein D füzyon kompleksinden oluşmaktadır. Faz II çalışmasında erken evre (IB ve II), opere 182 hasta dahil edilmiş ve aşı ile plasebo karşılaştırılmıştır. Hastalısız sağkalım ve genel sağkalım sürelerinde aşı lehine bir uzama gözlenmiş olsa da istatistiksel anlamlı bir değere ulaşamamıştır. Tümör hücrelerinde MAGE-A3 pozitifliği kantitatif RNA PCR ile ölçülmüştür. Aynı aşı Faz III MAGRIT (MAGE-A3 as Adjuvant NSCLC Immunotherapy) çalışmasında opere evre IB - IIIA KHDAK hastalarında değerlendirilmiş olup 2270 hastanın alındığı bu çalışmanın sonuçları beklenmektedir.

## 1B. TG4010

Müsinöz glikoprotein-1 (MUC-1) epitelyal hücre yüzeylerinde bulunan yüksek oranda glikolize bir transmembran proteindir. Normal hücreler glikolipid, glikoprotein ve serbest glikanlardan oluşan kalın bir şeker tabakasıyla kaplı iken kanserde, hücre yüzeyindeki glikolizasyon bozular ve bu durum sialic asid'in aberran ekspresyonuna yol açar. MUC-1 pek çok kanser tipinde over-eksprese edilmektedir ve kötü prognozla ilintilidir. MUC-1'e karşı geliştirilen TG 4010, Ankara virusu kullanılarak MUC1 ve interlökin-2 eksprese eder şekilde yapılmıştır. Faz II çalışmasında ileri evre (IIIB-IV) hastalarda ilk seçim kemoterapi (KT) ve aşı kombinasyonu sonrasında idame aşı tedavisi ile KT tek başına karşılaştırılmıştır. Altıncı ayda %43 hastanın progresyonsuz olduğu görülmüştür. Ayrıca, tanı anında bazal aktive natural killer (NK) hücre sayısının önemli bir prediktif belirteç olduğu ileri sürülmüştür. Bazal aktive NK sayısı yüksek olan hastalarda medyan genel sağkalım 10.3 ay iken, düşük olanlarda 18 ay bulunmuştur (p:0.02). Faz III- TIME çalışması sürmektedir.

## 1C. CIMAvax-EGF

CIMAvax-EGF (Küba aşısı), Human rekombinant EGF ile Neisseria meningitidis tabanlı taşıyıcı protein ve adjuvan olarak Montanide içermektedir. EGF'ye karşı antikor oluşturarak EGFR sinyal iletilisini azaltmayı amaçlar. İlk olarak ileri evre (stage IIIB/IV) KHDAK'de 80 hastada ilk seri KT sonrası en az stabil yanıt verenlerde idame aşı tedavisi ile diğer kolda tedavisiz izlem karşılaştırılmış ve 60 yaşından genç, iyi antikor yanıtı olan hastalarda sağkalım avantajı gösterilmiştir (11.6 ay vs 5.3 ay, p:0.01). Faz III çalışmasında ise toplam 17 ülkeden 405 hasta dahil edilmiş, 351 hastanın preliminere verilerine göre, aşı lehine genel sağkalım farkı gözlenmiştir (11.2 ay vs 7.7 ay). Ayrıca tedavinin 4. ayında yüksek antikor titresi ( $>1/4000$ ) geliştirmiş olmak immunolojik bir surrogate marker olarak kullanılabilir gibi görünmektedir.

## 2. PEPTİD AŞILARI

### 2A. L-BLP25

MUC1'in 25 aminoasit dizisinin ard arda tekrarından oluşur. Faz II çalışmasında evre IIIB/IV olan ve kemoradyoterapi (KRT)/KT sonrasında en az stabil yanıt elde edilmiş 171 hastada idame tedavi olarak aşı tedavisi en iyi destek bakım ile karşılaştırılmış ve anlamlı genel sağkalım farkı sağlanamamıştır (17.2 vs 13 ay). Alt grup analizlerinde ise evre IIIB ve eş zamanlı KRT alanlarda faydalı olduğu görülmüştür (medyan genel sağkalım 30.6 ay vs 13.3 ay).

Faz III çalışması, START'ta ( Stimulating Targeted Antigenic Responses to NSCLC) Evre III, K-RT ya da KRT sonrası hastalar 2:1 randomizasyon ile aşı ve plasebo kollarına ayrılarak değerlendirilmiştir. Genel sağkalım farkı olmamakla birlikte (25 ay vs 23 ay) eşzamanlı KRT alanlarda bu süre 30.8 ay vs 20.8 olarak saptanmıştır. Diğer bir Faz III çalışma INSPIRE devam etmektedir.

### **3.GANGLİOZİD AŞILARI**

Gangliosidler, en az bir sialik asid halkası taşıyan glikosfingolipid moleküller olup hücre yüzeyinde eksprese olur. NeuGc- GM3 ( Neu-glikolize sialik asit içeren ganglioside) hemen hemen tüm epitelyal tip kanser hücre yüzeylerinde eksprese olan yaygın bir antijendir. Racotumomab ise NGcGM3 antijenini taklit eden bir proteine karşı bir antikordur. Erken sonuçları ümit vericidir ve Faz III çalışma sonuçları beklenmektedir.

### **4. TAM TÜMÖR HÜCRESİ AŞILARI**

#### **4A. BELAGENPUMATUCEL-L (LUCANIX)**

Işınlanmış dört farklı akciğer kanser hücre hattından elde edilmiş allojenik bir tam tümör hücre aşısıdır. İmmün sistemin baskılanması ve kısa sağkalımla ilintili olan TGF-beta sinyalinin hedef alan bir aşısıdır. TGF-b2 antisense plasmid ile TGF-beta salgılaması engellenir.

Faz II çalışmada ileri evre KHDAK hastalarında kullanılmış ve %15 gibi ibr yanıt oranı ve 4 aylık progresyonsuz sağkalım süresi elde edilmiştir. Faz III- STOP çalışmasında evre IIIA-IV KHDAK olan 532 hastada, 1. seri KT sonrasında idame tedavide aşı ile plasebo karşılaştırılmış ve aşı lehine 20.3 ay vs 17.8 ay şeklinde bir genel sağkalım farkı elde edilmiştir. Non-adenokanser grupta fayda olabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak akciğer kanserinde aşı tedavisi ile ilgili faz III çalışma sonuçları beklenmekte ve çalışmalar umut vaad etmektedir.

## Uroplakin 3A Proteininden Türetilen Antijenik Peptidin İki Farklı Adjuvanla İmmün Cevap Yanıtlarının Karşılaştırılması Olarak Değerlendirilmesi

Kenan İzgi<sup>1,3\*</sup>, Banu İskender<sup>2,3\*</sup>, Çağrı Sakalar<sup>2,3</sup>, Aslıhan Arslanhan<sup>1,3</sup>, Sedat Sezen<sup>2,3</sup>, Halit Canatan<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Tıbbi Biyokimya, Tıp Fakültesi, Erciyes Üniversitesi, 38039, Melikgazi, Kayseri

<sup>2</sup>Tıbbi Biyoloji, Tıp Fakültesi, Erciyes Üniversitesi, 38039, Melikgazi, Kayseri

<sup>3</sup>Betül-Ziya Eren Genom ve Kök Hücre Merkezi, Erciyes Üniversitesi, 38039, Melikgazi, Kayseri

Email: kenanizgi@erciyes.edu.tr

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Kanser ya da normal dokuda üretilen organ ya da dokuya özgü immünojenik antijenler tümörü hedef alma adına kanser immünoterapide kullanılabilir. Bir önceki çalışmamızda mesaneye özgü Uroplakin 3A (UPK3A) proteini hedef alınarak T-hücre aracılı mesaneye spesifik otoimmünite geliştirdik. UPK3A mesane kanserlerinde de yüksek oranda ekspresyonundan dolayı iyi seçilmiş bir antijen olup bu antijene karşı otoimmün aracılı immün cevap geliştirerek mesane kanseri karşı aşı geliştirmede kullanılabilir. UPK3A'dan türetilen bu peptidin mesane kanseri aşı çalışmasında kullanılması için güçlü bir immün cevap oluşturması gerekmektedir.

**MATERYAL ve METOD:** Bu çalışmada iyi karakterize edilmiş UPK3A 65-84 peptid immünojenik taşıyıcı protein KLH (Keyhole Limpet Hemocyanin) ile konjuge edilip iki farklı adjuvanla CFA (Complete Freund's Adjuvant) ya da CpG (Cytosine-phosphate-guanine) aşılama yapılarak tümör immün toleransını kırmak için güçlü bir immün cevap elde edilmesi amaçlanmıştır. Antijenin iki farklı adjuvanla kombine kullanımı ile oluşturulan immün yanıt antijene immün hücre proliferasyonu, sitokin ve immün hücre yanıtları karşılaştırmalı olarak ELISA ve RT-PCR ile analiz edildi.

**SONUÇ:** KLH konjuge peptidin CpG adjuvanı ile kombine immünizasyonu CFA adjuvanına ile kombine immünizasyonuna göre anlamlı oranda daha yüksek oranda IL-2, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-17 sitokin üretimi ve daha fazla immün hücre (CD4+ T cell, CD8+ T cells, NK cells CD11b, CD45) aktivasyonu gösterek güçlü bir immün cevap geliştirdik.

**TARTIŞMA:** Sonuç olarak KLH ile konjuge peptidin (UPK3A 65-84) CpG adjuvanı ile kombinasyonu fare mesane kanseri modellerinde yeni kanser immünoterapi stratejileri geliştirmek için kullanılabilir.

**TEŞEKKÜRLER:** Bu proje Erciyes Üniversitesi BAP ve TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (TCD-2013-4766 ve Proje no: SBAG 113S927)

## Over Kanserinde Üretilen AMHR2'nin Ekstrasellüler Bir Peptidini Hedef Alan Bir Monoklonal Antikorun Kanser İmmüterapiye Kullanılmak Üzere Üretilmesi

Ali Turan<sup>1,2</sup>, Çağrı Şakalar<sup>1,2,\*</sup>, Savaş Kaya<sup>3</sup>, Huriye Aksu<sup>1,2</sup>, Mustafa Çakır<sup>1,2</sup>, Büşra Kurt<sup>1,2</sup>, Sedat Sezen<sup>1,2</sup>, Halit Canatan<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji A.D., Melikgazi, Kayseri

<sup>2</sup>Erciyes Üniversitesi Genom ve Kök Hücre Araştırma Merkezi, Melikgazi, Kayseri

<sup>3</sup>Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi İmmünoloji A.D., Diyarbakır

Email: sakalar11@hotmail.com

Monoklonal antikor üretimi 1975 yılında Kohler ve Milstein tarafından myeloma hücresi ile dalak hücrelerinin füzyon oluşturulmasıyla çalışılmaya başlamıştır. Böylelikle hibridomalar hem kanser hücreleri gibi sonsuz bölünme özelliği gösterirken hem de B lenfositlerin antikor üretme özelliği sahip olurlar. Son zamanlarda özellikle kanser immün terapiye; kanser hücrelerinde yüksek miktarda üretilen moleküllere karşı elde edilen monoklonal antikorlar kullanılmaktadır. Over (yumurtalık) kanseri dünyada en sık görülen beşinci, kadınlarda ise en sık görülen ikinci kanser tipidir ve en ölümcül olanıdır. Yumurtalık kanseri genel olarak menopozdan sonraki dönemde görülür.

TGF- $\beta$  ailesine ait bir zar-geçen bir protein olan AMHR2 spesifik olarak over ve testislerde bulunur ve ayrıca AMHR2'nin prostat, meme ve insan ovaryum kanser hücre hatlarında ve over kanserlerinde eksprese olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada amacımız; AMHR2'nin hücre dışı kısmını hedef alan bir monoklonal antikor üretilmesidir. Bu kapsamda AMHR2 ekstrasellüler domainini hedef alan bir peptid dizayn edilerek, sentezlenmiştir. Bu peptidle 3 kere aşılanan farelerden alınan dalak hücreleriyle, myeloma hücreleri arasında füzyon oluşturulmuş ve hibridoma klonları elde edilmiştir. Bu klonlar hücre kültür ortamında büyütülerek hedef peptide spesifik bağlanan antikorları üreten klonalar seçilmiş, sonraki aşamada bunlardan stabil olan bir klon elde edilmiştir. Bu klona ait hücreler fareye enjekte edilmiş ve tümör asit sıvısında yüksek oranda spesifik monoklonal antikor varlığı gösterilmiştir. Devam eden çalışmalarda üretilen monoklonal antikorun over kanser hücrelerindeki AMHR2'ye bağlanma kapasitesi ve antikora dayalı hücresel sitotoksikite uyarma potansiyeli test edilecektir.

## **Meme Kanserinin Aşı Tedavisi**

Levent Yeniay

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı  
Email: levent.yeniay@ege.edu.tr

Meme kanserinde gelişen yeni tedavi yöntemlerine rağmen kansere bağlı mortalitenin en önemli nedenleri arasında yer almaktadır. Bu nedenle yeni tedavi seçenekleri yoğun şekilde araştırılmaktadır.

İnflamasyon ve immün sistemden kaçışın kanser gelişiminin karakteristik özelliklerinden olduğu artık bilinmektedir. İmmün sistemin çeşitli şekillerde manipüle edilerek kanser hücrelerinin yok edilebileceği hipotezi bu kavramlar üzerine oluşturulmuştur. Bu stratejide kullanılan yöntemler antikorlar, immünomodülatörler ve aşılardır. Konakçı immün sisteminin kanser hücrelerine karşı aktif-pasif bağışıklandırılarak yok edilmesi temeline dayan bu yaklaşımın pek çok avantajı bulunmaktadır. Tümör hücre antijenlerine karşı oluşturulan bu tip bağışıklık ile; uzun süren, rekkürensleri önleyen, kolay uygulanabilen ve düşük toksisiteye sahip bir tedavi sağlanabilir. Böyle bir ajan kanserin tedavisinde olduğu gibi profilaksisinde de kullanılabilir.

Patogenezinde viral etkenlerin yer aldığı kanser türlerinde ( Serviks kanseri, karaciğer tümörleri gibi) başarılı aşı tedavileri geliştirilebilmiştir. Antijenik özellikleri daha az olan solid organ tümörlerinde ise henüz bu başarı yakalanmış değildir. Sadece prostat kanseri (Sipuleucel-T) ve melanomada (İpilimumab) FDA onayı alınan aşı ve immünomodülatör tedaviler söz konusudur. Meme kanserinde teorik olarak oldukça çekici bu avantajlara rağmen yapılan klinik çalışmalarda bu özelliklere sahip etkili bir aşı henüz geliştirilememiştir.

Güncel aşı platformları; Peptid aşıları, DNA aşıları, dentrik hücre temelli aşılar ve tam hücre temelli aşılarından oluşmaktadır. Bu platformların avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Meme kanseri antijeni (Tumor-associated antigens, TAA's) olarak en çok çalışılan hedefler HER-2 reseptörü, karbonhidrat antijenler, telomeraz reverse transkriptaz (hTERT) ve mucin-1'dir. Bunların içersinden en çok klinik çalışma yapılan HER-2 aşılarıdır. Ancak HER-2 pozitifliği tüm meme kanserli hastalarda % 25-30'dur.

Anti tümör aşıların başka moleküllerle kombinasyonlarında denenmektedir. Bunlar pasif immünoterapi, immünomodülatörler ve anti-HER-2 molekül trastuzumab kombinasyonlarıdır. Klinik çalışmaların hemen hemen hepsi faz 1 ve 2 düzeyindedir. Meme kanserine ait yeni ve daha etkili hedef antijenler ve yolak moleküller halen araştırılmaktadır.

Henüz rutin kullanıma giren bir meme kanseri aşısı olmamasına karşın, bu çalışmaların ufku parlak gözükmektedir. Melanom, serviks tümörleri ve akciğer kanserlerindeki benzer immünterapötiklere ulaşılma ihtimali yüksektir.

## **DNA Aşıları ile Uyarılan İmmun Yanıtın Arttırılması ve Moleküler Adjuvantlar**

Sultan Gülçe İz

Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye  
Email: sultangulce@gmail.com

DNA aşıları, uygun bir vektör sistemine enfeksiyöz organizmanın antijenik bölgelerini kodlayan gen bölgesinin yerleştirilmesi ile oluşturulmaktadır. DNA aşıları daha çok salgınlara neden olan enfeksiyöz hastalıkların tedavisi için umut kaynağı olmuştur. Bununla beraber özellikle hücre içi patojenlerle mücadelede DNA aşılarının hücresel bağışık yanıtı uyarma kapasiteleri en önemli avantajlarındandır. Fakat DNA aşılarının primatlarda ve insanlarda uyardığı bağışık yanıtın istenilen düzeyde olmaması, son yıllarda yapılan çalışmaların DNA aşılarının etkinliğini arttırmak üzerine yoğunlaşmasına neden olmuştur. Bu noktada, adjuvanlar devreye girmektedir. Adjuvantlar genel tanımı ile özgün aşı antijenleri ile birlikte verildiğinde antijene bağımlı bağışık yanıtı arttıran ve süresini uzatan moleküllerdir. Alum, saponinler, mikroküreler, nanopartiküller, lipozomlar, polimerler aşı formulasyonunda yer alan adjuvantlardır. DNA aşı vektörlerinin yapısında yer alan sitokin, kemokin, stimulatör ve ısı şok protein gen bölgeleri moleküler adjuvantlar olarak kullanılır. İmmunostimulatör adjuvantlar; HSP70 (ısı şok proteini 70), monofosforil lipid A, alüminyum tuzları, sitokin plazmitleri, polimerler; polietilenimin (PEI), polimetakrilat,  $\beta$ -siklodesktrin, katyonik poliaminoesterler, poloksomerler, polivinilprolidon (PVP), poli-d-laktik-ko-glikolik asit (PLGA), aljinat, kitozan, poli-orto-ester polimerleri gibi nanomikro-partiküllerdir.

DNA aşılarının etkinliğinin arttırılmasında apoptozun baskılanması önemli rol oynamaktadır. Bu bakımdan apoptozu baskılayıcı Bcl-xL anti-apoptotik proteini geliştirdiğimiz çift promotör DNA aşı plazmitine eklenerek moleküler adjuvant olarak kullanılmıştır.

DNA aşı plazmitine eklenen Bcl-xL anti-apoptotik proteinin etkinliği, *in vitro*'da BHK-21 hücrelerine yapılan transfeksiyon sonucu gösterilmiştir (Gülçe İz et al., 2012). Bu çalışmada, Bcl-xL taşıyan DNA aşı plazmiti ile geçici transfekte edilen hücrelerin kontrol grubuna göre daha uzun yaşadıkları gösterilmiştir. Şap hastalığı ve Toksoplazma gondii parazitine karşı geliştirilen DNA aşılarında da immünizasyonu sonucunda Th1 immün yanıtın arttığı gösterilmiştir. Bcl-xL içeren DNA aşısı ile immünizasyon sonucunda sonucunda CD4+ ve CD8+ T-lenfositlerde antijen spesifik intraselüler IFN- $\gamma$ 'nın daha yüksek seviyede bulunduğunu gösterilmiştir (Gülçe İz et al., 2013; Gülçe İz et al., 2014).

Bcl-xL taşıyan plazmit ekspresyonunun; DNA aşılama hedef hücrede uzatılmış immün yanıt elde edilmesi ve rekombinant protein üretiminde daha yüksek verimde protein üretimi için uygun bir yaklaşım olduğu düşünülmektedir.



**Kaynaklar**

Gülçe İz S., Çalimlioğlu B., Deliloğlu-Gürhan S., 2012, Using Bcl-xL anti-apoptotic protein for altering target cell apoptosis, *Electronic Journal of Biotechnology*, Vol 15, No 5 (2). doi: 10.2225/vol15-issue5-fulltext-2.

Gülçe İz S., Dorskaya M., et al. 2013, Co-expression of the Bcl-xL antiapoptotic protein enhances the induction of Th1-like immune responses in mice immunized with DNA vaccines encoding FMDV B and T cell epitopes, *Veterinary Research Communications*, (article in press) doi:10.1007/s11259-013-9560-3.

Gülçe İz S., Döşkaya M., et al. 2014, A novel dual promoter DNA vaccine induces CD8+ response against *Toxoplasma gondii* sporozoite specific surface protein "SporoSAG" through non-apoptotic cells *Trials in Vaccinology*. DOI: 10.1016/j.trivac.2014.04.003.

## Girişimsel Olmayan Aşı Formülasyonu Geliştirilmesi: Adjuvanlar/ Taşıyıcı Sistemler

Sevda Şenel

Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, 06100, Ankara  
Email: ssenel@hacettepe.edu.tr

Son yıllarda, aşıların uygulanmasında girişimsel olmayan mukozal (oral, nazal, pulmoner) ve dermal yollar üzerinde çalışmalar yoğunlaşmıştır. Ancak, bu yollarla uygulamada immün yanıt düşük olmaktadır. Girişimsel olmayan yollarla yapılan bağışıklamada başarılı olmak için “uygun aşı formülasyonları”nın geliştirilmesi gerekmektedir. Formülasyon tasarımı gerek immün yanıtın artırılması gerekse antijenin in vitro (sıcaklık vb. koşullarda parçalanmadan kalması) ve in vivo (bağışıklık sistemi tarafından alınıncaya kadar fizyolojik koşullarda parçalanmadan kalması) dayanıklılığının korunması yönünden çok önemlidir [1,2]. Ayrıca, geliştirilen formülasyonun kolay uygulanabilir olması da hasta uyuncu açısından önemlidir. Girişimsel olmayan yolla uygulamak amacıyla farklı formülasyon şekilleri geliştirilmiştir. Özellikle adjuvanlar ve taşıyıcı sistemlerden yararlanılmaktadır [3]. Bazı durumlarda geliştirilen formülasyon hem adjuvant hem de taşıyıcı görevi görmektedir. Üzerinde en çok çalışılan adjuvant/taşıyıcı sistemler arasında partiküler sistemler bulunmaktadır [4]. Bunlar patojene benzer özelliklere sahip olacak şekilde tasarlanırlar, ve bu sayede immün sistem tarafından patojenlere benzer şekilde alınır, bu şekilde adjuvant özelliği de gösterirler Bu sunumda, mukozal ve dermal yolla uygulanan aşı formülasyonunun özellikleri özetlendikten sonra bu amaçla kullanılan taşıyıcı sistemler /adjuvanlar tartışılacaktır. En son olarak da grubumuz tarafından bu konuda yapılan çalışmalardan bahsedilecektir [5-8].

### KAYNAKLAR:

1. Şenel S, Cansız M, Rathbone MJ, Buccal delivery of biopharmaceuticals: Vaccines and allergens, in: das Neves J, Sarmento B (Eds) *Mucosal Delivery of Biopharmaceuticals, Biology, Challenges and Staretgies*, Springer, 2014, s.149-168
2. Sayın B, Şenel S, Chitosan and its derivatives for mucosal immunization, in: R. Jayakumar and M. Prabakaran (Eds) , *Current Research and Developments on Chitin and Chitosan in Biomaterials Science*, Vol.1: s.145-165, 2008.
3. Arca HÇ, Günbeyaz M, Şenel S, Chitosan-based systems for delivery of vaccine antigens, *Expert Rev. Vaccines* 8(7):937-953 (2009)
4. Şenel S, Chitosan based particulate systems for non-invasive vaccine delivery, *Advances in Polymer Sci*, 243, 11-137, 2011, DOI: 10.1007/12\_2011\_120
5. Çokçalışkan C, Ozyoruk F, Gürsoy RN, Alkan M, Günbeyaz-Pınar M, Arca HÇ, Uzunlu E, Şenel S, Chitosan-based systems for intranasal immunization against foot-and-mouth disease, *Drug Dev Technol*, DOI: 10.3109/10837450.2013.763263

6. Günbeyaz M, Faraji A, Özkul A, Puralı N, Şenel S, Chitosan based delivery systems for mucosal immunization against bovine herpes virus 1 (BHV-1) *Eur. J. Pharm. Sci.* , 41, 531-545 (2010).
7. Sayın B, Somavarapu S, Li XW, Sesardic D, Dorothea Sesardic, Şenel S, Alpar HO; TMC-MCC (N-trimethyl Chitosan- Mono-N-carboxymethyl chitosan) nanocomplexes for mucosal delivery of Vaccines, *Eur. J. Pharm. Sci.* 38, 362–369 (2009)
8. Sayın B, Somavarapu S, Li XW, Thanou M, Sesardic D, Alpar HO, Şenel S, Mono-N-carboxymethyl chitosan (MCC) and N-trimethyl chitosan (TMC) nanoparticles for non-invasive vaccine delivery, *Int. J.Pharm. –Pharm. Nanotechnology*, 363: 139–148 (2008).

## **Konjüge Pnömokok Aşısı Yerli Üretim Projesi**

Devrim Çavuşoğlu

Pfizer İlaçları Ltd.Şti.

Email: devrim.cavusoglu@pfizer.com

Dünyanın en önemli biyoteknoloji ürünlerinden biri olan konjüge pnömokok aşısı Prevenar 13®'ün Türkiye'deki üretim tesisi, Pfizer ve Mefar işbirliği ile 13 Kasım 2012 itibariyle hizmete açılmıştır. Bu tesiste formülasyon aşamasından başlayacak şekilde gerçekleştirilen aşı üretimi, Türkiye'yi Amerika Birleşik Devletleri ve İrlanda'dan sonra Pfizer'in dünya çapındaki üçüncü üretim merkezi konumuna getirmiştir. Mevcut durumda ülkemizdeki yıllık yaklaşık 7 milyon doz Pnömokok aşısı ihtiyacına cevap verecek seviyede çalışan bu tesisin kurulmuş olan kapasitesi ilerleyen yıllarda artabilecek ihtiyaçlara cevap verecek şekilde planlanmıştır.

Ülkemizi kendi ihtiyacı için Pnömokok aşısı üretecek altyapı ve teknolojiye sahip ilk ve tek ülke konuma getiren bu özel projenin hayata geçirilmesi, T.C. Sağlık Bakanlığı ve Pfizer arasında yapılan anlaşma çerçevesinde, Pfizer'in finansal, teknoloji ve know-how desteği ve Mefar'ın steril enjektabl ürün üretim konusundaki yüksek tecrübe ve bilgi birikiminin birleşmesi sonucunda mümkün olmuştur. Yaklaşık 2 sene süren yoğun ve zorlu bir çalışma sonucunda tamamlanmış olan bu proje ve kapsamındaki teknoloji transferi ile formülasyon, dolum, ambalaj, kalite kontrol testleri, serbest bırakma, aşı takip sistemine uyumluluk, ve soğuk zincir depolama ve sevkiyata hazırlık süreçlerinin tamamını kapsamaktadır. Projenin hayata geçirilmesi için Pfizer Türkiye'den 35 kişilik bir proje ekibi, Pfizer'in global üretim merkezlerinden 25 kişilik uzman bir ekip ve Mefar'dan 30 kişilik bir ekip birlikte çalışmış, süreç boyunca taraflar arasındaki hukuki, ticari ve teknolojik alanlarda çözüm odaklı yaklaşımlar sonraki süreçler için önemli bir başarı kriteri olarak ortaya çıkmıştır.

Formülasyon aşamasından itibaren aşı üretimi konusunda ülkemiz için ilkleri barındıran bu proje için hazırlanan 800 adımlık detaylı proje planının ana başlıkları şu şekildedir;

- Proje Planı ve Proje Ekibinin oluşturulması
- Üretim tesisi ve ekipman yatırımları
- Personel eğitimleri
  - Üretim süreçleri
  - Analitik metot ve kalite kontrol testleri transferleri
- Deneme üretimleri
- Validasyon üretimleri ve stabilite çalışmaları
- Yerli üretim ruhsatlandırma süreci
- Soğuk zincir hazırlama ve sevkiyat prosesleri dizayn ve kalifikasyonları

Ülkemize kazandırdığı bilgi birikimi ve tecrübe açısından da son derece değerli olduğuna inandığımız bu uzun soluklu proje ve teknoloji transferi sürecinin başarılı bir biçimde gerçekleşmesini sağlayan en önemli kritik bileşenleri şu şekilde sıralayabiliriz:

- Proje ile ilgili resmi kurumların yol gösterici yaklaşımı ve desteği
- Detaylı proje planı, hazırlık ve takibi
- Proje ekip üyelerinin tecrübe ve motivasyonu
- Proje ekip üyeleri ve yönetim grubu iletişim ve takip planı
- Teknolojiyi transfer edebilme becerisi

Atılmış bu değerli adımın yetişmiş insan kaynağımız ve sektör paydaşlarımızın değerli katkılarıyla daha da ileriye taşınabileceğine inanıyoruz.

## **Beşeri Aşılarda Ülkemizdeki Mevcut Durum, Planlananlar ve Yapılanlar**

O. Mutlu Topal

Keymen İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş.  
Email: omtopal@keymen.com.tr

Beşeri aşı uygulamaları ile ilgili en eski bilgi M.Ö. 590 yılında Çin'de Sung Hanedanı döneminde çiçek hastalığından korunmak için ciltteki iltihaplı maddenin sağlıklı kişilerin burnunun içine verilmesidir. 1721'de Edirne'de İngiltere Büyükelçisinin eşi olan Lady Mary Wortley Montegue İngiltere'ye yazdığı bir mektupta "İstanbul'da çiçek hastalığına karşı "aşı" denilen bir şey (varilasyon metodu) yapıldığını" yazmıştır. Bu mektup aşı yapımına ilişkin en eski belgedir.

1885'te dünyada ilk defa çiçek aşısı uygulaması için Osmanlı'da kanun çıkarılmıştır. 1886 yılında kuduz aşısının üretilip uygulanması için L. Pasteur'un laboratuvarına eğitime gidilmesinin akabinde 1887 Ocak ayı başında kuduz aşısı Osmanlı'ya getirildi ve Mekteb-i Tıbbiye-i Askeriye-i Şahane'de ilk kuduz aşısı üretildi. Kuduz aşısının keşfinden sadece üç yıl sonra, İstanbul'da kuduz aşısı üretilmeye başlanmıştır. Bu merkez, Dünya'nın üçüncü, Doğu ülkelerinin ise ilk kuduz hastalığı tedavi merkezi olmuştur. 1892'de ilk çiçek aşısı üretim evi kurulmuş ve 1927'de verem aşısı üretimi başlanmıştır. Diğer aşılardan üretilimi ile gelişen süreç 1998 de tüm aşılardan üretiminin fiilen durdurulması ile sonlanmıştır.

Ülkemizde çocukluk dönemi aşı takvimi ve erişkin dönemi aşı uygulamaları Sağlık Bakanlığı tarafından yürütülmektedir. Çocukluk dönemi aşı programında %95 leri aşan oranlarda aşılama oranlarına ulaşılmışken, erişkin dönemi aşı uygulamalarında aşılama oranları çok düşüktür.

Halen Ege, Erciyes, Dokuz Eylül, Ankara ve Hacettepe Üniversiteleri ile ODTÜ de aşı üretilmesine yönelik bazı çalışmalar sürdürülmektedir.

Aşı üretiminde ki ana basamaklar

- 1-Propagasyon
- 2-İzolasyon
- 3-Purifikasyon
- 4-Formülasyon

olup, formülasyonun akabinde dolma ve ambalajlama ile ürün pazara sunuma hazır hale gelmektedir.

1998 yılına kadar beşeri aşı üretimlerinin tüm aşamaları ülkemizde yapılmakta idi. 1998 ile 2010 yılları arasında ülkemizde yeniden aşı üretimine başlanması için yapılan pekçok toplantı ve çalışma olmakla beraber bir sonuca ulaşamamıştır. 2010 yılında Sanofi Pasteur, 2013 yılında BB-NCIPD ve 2014 yılında Sinovac – Keymen firmaları Mefar İlaç da formüle edilmiş doluma hazır bulk aşılardan ülkemizde dolumu ve ambalajlanması

süreçlerine başlamıştır. 2012 yılında Pfizer firması üretimde bir önceki basamağa geçerek aşının formülasyonunu Mefar ilaç da yapmaya başlamıştır.

Ülkemizde tekrar beşeri aşı üretiminin başlaması için uzun yıllardır çaba harcayan firmamız Keymen İlaç ise 2013 yılında Hacettepe Üniversitesi ile imzaladığı protokol kapsamında Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi ile ortaklaşa bir Aşı Geliştirme Laboratuvarını açmak için hazırlıklarına devam etmektedir. Ayrıca komple yeni bir tesis kurmak içinde gerekli planlamalarını ve hazırlıklarını yapmakta olan Keymen ilaç, çok yakın bir gelecekte beşeri aşı üretimine başlamayı hedeflemiştir.

## **Aşı Üretiminde Geleceğin Üretim Tesisleri-Prosesleri**

Ömer Cem ERDEM

Sartonet Seperasyon Teknolojileri Ltd. Şti.  
Email: cem.erdem@sartonet.com

Günümüz Aşı ve Biyoteknoloji piyasasında lider olmanın en başlıca sırrı, piyasada diğer bütün rakiplerden daha hızlı olmaktan ve piyasada ilk olabilmekten geçiyor. Özellikle “Geleceğin Tesisi” ile ilgili beklentiler incelendiğinde, geleceğin tesislerinden en önemli beklentinin değişen piyasa şartlarına ve beklentilerine en kolay adapte olabilecek prosese sahip olması, kolayca yeniliklere ve yeni gelişmelere adapte olabilen bir proses olması görülüyor.

Acaba, “Geleceğin Üretim Tesisi” beklentileri ile baktığımızda, Aşı Üretim tesisleri için “Konvansiyonel Paslanmaz Çelik- Çok kullanımlı” sistemler mi daha avantajlı olacaktır? Yoksa en iyi çözüm “Tek- kullanımlık” çözümler midir? Ya da bu iki teknoloji prosesin hangi basamaklarında birlikte kullanıldığında sizlere faydalı olabilecektir.

Bu iki soruyu ele alırken değelerireceğiniz en önemli parametreler nelerdir? “Tek Kullanımlık” ürünler, korkulduğu kadar pahalı ve maliyet arttıran ürünlermidir? Aca hangi alanlarda kullanıldığında hayatımızı kolaylaştırabilecek, maliyetleri azaltabilecektir. Ya da Aşı üretiminin hangi basamaklarında “Singe-Use” kullanımı düşünülmemelidir?

Günümüz Bioproseslerinin en önemli ve üzerinde en çok vakit harcanılan bu sorusu ile ilgili hem yatırımcı hem de kullanıcı açısından en geniş ve kritik bilgileri paylaşacağımız bu sunumda farklı üretim teknolojilerinin fayda ve avantajlarını sergilemeye çalışacağız.



## Ülkemizde Aşı Kalite Kontrol Analizleri ve Seri Serbest Bırakılması

Mehmet Kürşat Derici

Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Analiz ve Kontrol Laboratuvarları Dairesi Başkanlığı, Tıbbi Biyolojik Ürünler Birimi Sıhhiye/ Ankara, 06100, Türkiye  
Email: kursat.derici@titck.gov.tr

Laboratuvarlarımız, 1262 sayılı Umumi Hıfzıssıhha Kanunu gereği ilaç kontrollerini yapmak amacıyla, 1935 yılında Hıfzıssıhha Enstitüsünde 'Farmakodinami şubesi' adıyla kurulmuştur. 1984'de İlaç ve Kozmetikler Araştırma Müdürlüğü adıyla ilaç, kozmetik ve tıbbi cihazların kalite kontrol analizlerini yapmakla görevlendirilmiştir. Bu yapı, 02.11.2011 tarih ve 663 sayılı Kanun Hükmünde Kararname ile "Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu" adını almış olup görevini, halen Destek ve Laboratuvar Hizmetleri Başkan Yardımcılığı'na bağlı olarak Analiz ve Kontrol Laboratuvarları Dairesi Başkanlığı altında, Tıbbi Biyolojik Ürünler Laboratuvarları olarak sürdürmektedir. Laboratuvarımızın görev ve sorumlulukları;

- Üretilen/ithal edilen biyolojik ürünlerin (aşı, bağışık serum, kan ürünü) ulusal ve uluslararası (Dünya Sağlık Örgütü, Avrupa Farmakopesi vb.) düzenlemeler doğrultusunda kalite, güvenlik ve etkinlik kontrollerinin gerçekleştirmek ve Seri Serbest Bırakma Sertifikası vermek.
- Biyoteknolojik ve allerjen ürünlerin, Beşeri Tıbbi Ürünler Ruhsatlandırma Yönetmeliği doğrultusunda CTD formatında yapılan ruhsatlandırma talebi ile gönderilen başvurularının ve varyasyon değişikliklerinin dosya bazında incelemelerini ve analizlerini yapmak
- Biyolojik ürünlerin seri kontrolü, şikayet ve PGD çerçevesinde ürünlerin analizlerinin yapmaktır.

Bu kapsamda, laboratuvarımız Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu ve Türkiye Halk sağlığı kurumundan ruhsat, ithal izni, şikayet, piyasa denetimi veya satınalma başvurusu ile gelen bakteriyel (BCG, ppD, Boğmaca, Difteri, Tetanoz, Pnömoni, Menenjit, HIB vb.) ya da viral aşılardan (Polio, Kızamık, Kızamıkçık, Suçiçeği, Kabakulak, Kuduz, Influenza, Hepatid A, Hepatid B, HPV vb.), immün serumların (Difteri, Tetanoz, Akrep, Yılan, Kuduz), allerjen ürünlerin, biyoteknolojik ürünlerin (Eritropoietin, insülin, monoklonal antikorlar vb.) ve Kan ürünlerinin (faktör, albümin, heparin vb.) raf ömrü spesifikasyonunda bulunan tüm kalite kontrol testlerini uygulamaktadır. Bu testler genel olarak; sterilite, fiziko-kimyasal, biyokimyasal, immünokimyasal testler gibi in-vitro testleri ve pirojenite, biyolojik aktivite, akut toksisite gibi in-vivo testleri içermektedir.

Laboratuvarımıza ortalama yılda 500 kadar ürün başvurusu olmakta, bu ürün analizlerinde yaklaşık olarak yılda 16.000 CD1 türü fare, 200 New Zealand türü tavşan, 600 Dunkin Hartley türü kobay kullanılmaktadır. 2014 yılında tamamlanan IPA projesi ile laboratuvarımızın uluslararası akreditasyonu ve EDQM/OMCL ağına katılması konusunda çalışmalar halen devam etmektedir.

## Genişletilmiş Bağışıklama Programı

Osman Topaç

T. C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlık Kurumu, Aşı ile nlenebilir Hastalıklar Dairesi  
Email: topacosman@gmail.com

GBP Boğmaca, Difteri, Tetanoz, Kızamık, Kızamıkçık, Kabakulak, Tüberküloz, Poliomyelit, Hepatit B, Hepatit A, Su ieği ve Hemofilus influenza tip b'ye bağlı hastalıkların morbidite ve mortalitesini azaltarak, bu hastalıkları kontrol altına almak ve hatta tamamen ortadan kaldırmak amacı ile hassas yaş gruplarına enfeksiyona yakalanmalarından önce ulaşıp bağışıklanmalarını sağlamak için yapılan aşılama hizmetlerini içerir. GBP akademisyenlerden oluşan Bağışıklama Danışma Kurulu'nun (BDK) bilimsel desteği ve nerileri doğrultusunda yürütülmektedir.

### GBP Hedefleri:

- Her bir antijen için etkinliği korunmuş aşı ile ülke genelinde %97 aşılama oranına ulaşmak ve devamlılığını sağlamak,
- 12–23 aylık bebeklerin %90'ını tam aşılı hale getirmek,
- 5 yaş altı (0–59 aylık) aşısız ya da eksik aşılı çocukları tespit edip aşılamak,
- Okul ağı çocuklarının rapel aşılarını tamamlamak,
- Tespit edilen tüm gebelere uygun tetanoz difteri aşısı dozunu uygulamak,
- Ülkenin poliomyelitten arındırılmış durumunu sürdürmek,
- Maternal ve Neonatal Tetanozun eliminasyonunu sürdürmek,
- 2015 yılına kadar yerli kızamık virüsünü elimine etmek,
- Kızamıkçık ve Konjenital Rubella Sendromunu kontrol altına almak,
- Difteri, Boğmaca, Hepatit-B, Hepatit A, Suçiçeği, Tüberküloz, Kabakulak ve Hemofilus influenza tip b'ye bağlı hastalıkları kontrol altına almak,
- Aşı güvenliğini sürdürmek,
- Kayıt bildirim sistemini güçlendirmek,
- Toplumun katılımını sağlamak olarak belirlenmiştir.



## GBP Hastalık programları

GBP kapsamında takip edilen hastalıklara özel hastalık kontrol programları:

- Polio Eradikasyon Programı
- Kızamık Eliminasyon Programı
- Maternal ve Neonatal Tetanoz Eliminasyon Programı
- Hepatit B Kontrol Programı
- 1. Diğer Hastalık Kontrol Programları:
  - a. Difteri
  - b. Boğmaca
  - c. Kızamıkçık ve Konjenital Rubella Sendromu
  - d. Kabakulak
  - e. Hemofilus influenza tip b
  - f. Tüberküloz
  - g. Hepatit A
  - h. Su Çiçeği

## Soğuk zincir

Soğuk zincir, bir aşının etkinliğini üretiminden kişiye uygulanana kadar koruyan ve ihtiyacı olanlara yeterli miktarda etkin aşının ulaşmasını sağlayan insan ve malzemeden oluşan sistemdir. Kullanılan aşilar etkin değilse, %100 aşılama oranlarına ulaşılsa bile bağışık bir toplum oluşturma hedefine ulaşamayacaktır. Tüm aşilar ısıya hassastır. İdeal sıcaklık +2 - +8 C'dir. Yüksek ısı, kümülatif ısı artışına maruziyet ve donma aşiların etkinliğini bozar. Ayrıca BCG, Kızamık, KKK, Kızamıkçık aşiları güneş ışığı gibi ultraviyoleye de hassastır.

## Aşı sonrası istenmeyen etki (ASİE):

Aşı uygulanan bir kişide, aşı sonrası ortaya çıkan, bilinen aşı yan etkisi ya da aşıya bağlı olduğu düşünülen herhangi bir istenmeyen tıbbi olay ASİE olarak tanımlanmaktadır. Ülkemizde kullanılan aşilar DSÖ tarafından önerilen ve onaylanan İyi Üretim Prosedürleri (GMP) kurallarına uygun üretilmiş ve uluslararası referans laboratuvarlarında test edilmiş olan aşilardır. Ayrıca kullanılacak Ulusal Referans Laboratuvarlarımızda da test edilmekte ve uygun olduğu kanıtlanan aşiların kabulü yapılmaktadır.

ASİE izleme sisteminin temel amacı aşılama hizmetinin kalitesini iyileştirmek ve aşılamanın kabul edilebilirliğini arttırmaktır. Bu amaca ulaşmada uygulanacak stratejiler; 1. Meydana gelen istenmeyen olguları düzenli olarak izlemek, analiz etmek ve yorumlamak, 2. Ciddi istenmeyen etkiler görüldüğünde bunların aşıya bağlı olup olmadığını ortaya koymak, 3. Program uygulama hatalarına neden olan sorunlara müdahale etmek, 4. Aşı yan etkilerinde beklenenin üzerinde bir yükseliş görülürse müdahale etmek, 5. Müdahaleler ve uygun iletişim kanalları ile halkın aşılama programına güvenini sağlamak olarak belirlenmiştir.

### **Isı ve stok takip sistemi**

- Aşı ve antiserumların üretiminden uygulandığı âna kadar hangi ısı aralıklarında kaldığının Bakanlık, Halk Sağlığı M¼d¼rl¼đ¼, TSM, ASM ve diğer sağlık kuruluşlarınca takibi, SMS ve e-posta ile alarm verilmesi.
- Aşı ve antiserumların stok takibi, karekodun okutularak kişilere uygulanması, T.C. No. ile Seri ve Lot Numaraları eşleştirilmesi ve Sağlık Net ile entegrasyonu.

## **Ulusal Aşı Kapasitesini Geliştirmeye Yönelik Politikalar**

Emin Turan

Sanofi Pasteur A.Ş.

Email: emin.turan@sanofipasteur.com

Ulusal Aşı Kapasitesi (UAK), bir ülkede aşilar ile ilgili Ar-Ge, Üretim, Stoklama ve Dağıtım konusunda yerel yeterlilik düzeyi olarak tanımlanabilir. Bu konuşmada özellikle yerli aşı üretimini destekleyici politikalar üzerinde durulacaktır.

Halk sağlığının iyileştirilmesinde temiz su kaynağından sonra en büyük etkiye sahip olan sağlık uygulamasının aşılama olduğu bilinmektedir. Dünyanın birçok ülkesi, aşılı stratejik öncelik olarak görmekte ve ülkenin UAK'nin geliştirilmesi için politikalar uygulamaktadır. Ayrıca ülkeler üstü kuruluşların politikaları da dünya geneli aşı kapasitesi açısından daha fazla önem kazanmaya devam etmektedir.

Dünyada aşı ve bağışıklama “ekosistemi”, 19.yüzyılda E. Jenner, L. Pasteur gibi “Aşı Öncüleri” ve ardından yüzlerce ulusal aşı üreticisinin ortaya çıktığı ilk iki dönemle başlar. Takiben Global Aşı Programları ve Genişletilmiş Bağışıklama Programı kavramları yerleşmiş, Çiçek hastalığının eradikasyonu ile bağışıklamanın önemi iyice belirginleşmiştir. Artan kapasite ihtiyacı ile birlikte “Daralma” dönemi başlamış; birçok üretici yükselen standartlarla üretimi sürdürememiş, ciddi ürün yoklukları yaşanmıştır. Günümüzde ise bir yandan büyük filantropistler ve Batılı ülkeler, GAVI benzeri kuruluşlar kanalıyla aşılı erişimi yaygınlaştırmaya çalışmakta, bir yandan birçok ülke UAK'ni geliştirmeyi amaçlamaktadır.

Ülkelerin UAK'ni güçlendirmek isteğı, temelde “Ekonomi” ve “Sağlık Stratejisi” önceliklerine dayanır. Ekonomik nedenler, aşının yüksek (biyo)teknoloji ürünü olması, yüksek katma değer ve nitelikli işgücü yaratması, ithalat bağımlılığını azaltmak, ihracatı desteklemek olarak özetlenebilir. Sağlık Stratejisi içinde aşılı erişim (yokluklardan etkilenmemek), güvenlik (epidemi/pandemi durumlarında aşılı ulaşım) ve ülkeye/bölgeye özel hastalıklara karşı önceliklendirme sayılabilir.

UAK'nin geliştirilmesi için ülkenin inovasyon ve yatırım iklimi en önemli faktörlerdir. Uygun inovasyon iklimi için Üniversitelerin araştırma kapasitesi, teknoparklar, destekleyici programlar, ulusal enstitüler, patent ofisleri gibi faktörlerin varlığı önemlidir. Yatırım iklimi ise, çeşitli kanallarla verilebilecek teşvikler, ödüllü yarışmalar, patent haklarını koruyan yasalarla gelişir.

UAK'ni geliştirmeye yönelik programların verimli olması için stabil, uzun soluklu olmaları önemlidir. Aşı yüksek yatırım gerektiren, know-how'a bağımlı, uzun süreçleri içeren, değişen standartlarla sürekli yatırım gerektiren bir üründür ve destek programları bu durumu göz önüne almalıdır. Bazı gelişen ülkelerde zamanla değişen politikalar, aşı yatırımlarının verimsizleşmesi, hatta sonlanması sonucunu doğurmuştur.

Bir diğer faktör, politika ve teşvik planlarının gerçekçi, uygulanabilir ve kademeli projelendirme temeline dayalı hazırlanması ve takip sisteminin iyi kurulmasıdır. Teşvik edilecek projenin karmaşıklığı, uygulama süresi ve kademeleri dikkatle ele alınmalıdır. Aşı projelerinde gerekli altyapı ve ilgili deneyim oluşmadan daha karmaşık aşamalara geçmek, ilk adımlarda yakalanabilecek başarıların da düşmanı olabilir.

Bugün birçok ülke UAK'ni geliştirmek için politikalar ve teşvik modelleri geliştirmekte, bu ülkelerin birçoğu aşı ihracatını da hedeflemektedir. Bu anlamda ülkelerin programlarını oluştururken ne tür aşuları destekleyeceklerinin kararını, yerel ihtiyaçlara ek olarak dünya genelindeki mevcut durumu ve uzun vadeli senaryoları da dikkate alarak kararlaştırmaları, projelerin hem kısa, hem de uzun dönemli başarı ve devamlılığını teminat altına alacaktır.

Son olarak, aşı ile ilgili projelerin "alıcı-satıcı" ilişkisinden çok, bir "Halk Sağlığı Ortaklığı" yaklaşımı içerisinde değerlendirilmesi ve uygulanması büyük önem taşır. Destekçi tarafında sadece ekonomik parametrelerin, uygulayıcı tarafında ise sadece kısa vadeli kazancın ön planda olduğu bir aşı projesi, risk altındadır. Aşı projeleri çoğunlukla karmaşık ve sürekli güncelleme gerektiren süreçleri içerirler. Ortaklık felsefesi ile yürütülen projelerin, başlangıç anından itibaren başarıya ulaşma şansı daha yüksektir.

Ülkede yeni, başarılı her aşı projesi uygulaması, ülkedeki know-how'ı ve en önemlisi kalifiye çalışan sayısını artıracak, bu kişilerin zamanla farklı üretim uygulamalarında ve projelerde yer alması Ulusal Aşı Kapasitesini gittikçe daha büyük bir hızla artıran faktörler olacaktır.

## ***POSTER BİLDİRİ ÖZETLERİ***

---





## Poster Konusu: Aşı adayı antijen keşfi ve tasarlanması

P-1

### Kutanöz Leishmaniasis'e Karşı Tanı Kiti Oluşturmak Üzere Hibridoma Teknolojisine Dayalı Poliklonal Antikorların Üretilmesi

Adil Allahverdiyev, Aslı Pınar Zorba, Melahat Bağirova, Gülnaz Yıldırım Köken, Emrah Şefik Abamor<sup>1</sup>

Yıldız Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, Hücre Kültürü ve Doku Mühendisliği Laboratuvarı, Esenler/İstanbul, 341220 Türkiye  
Email: dr.melahatb@gmail.com

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Leishmaniasis Dünya Sağlık Örgütü'nün belirlediği Tropikal Hastalıklar Listesi'ndeki 6 hastalıktan biri olup, dünyanın ve ülkemizin ciddi halk sağlığı problemlerinden biridir. Hastalığın yaygın olmasının nedenlerinden biri hastalığın tedavisinde yaşanan zorluklar ve şimdiye kadar etkin bir aşının geliştirilememesidir. Ayrıca hastalığın tanısında çeşitli yöntemler mevcut olmasına rağmen, hala altın standart olan bir tanı yöntemi geliştirilmemiştir. Bu açıdan günümüzde hibridoma teknolojisine dayalı tanı kitlerinin geliştirilmesine daha çok önem verilmektedir. Dünyada kutanöz leishmaniasisin etkeni olan *L.tropica*'nın farklı epitoplarına özgü hibridoma teknolojisine dayalı yapılan çalışma sayısı oldukça azdır. Ülkemizde ise bu konuyla ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamaktadır. Bu çalışmada ilk kez olarak *L.tropica*'nın antijenlerine karşı hibridoma teknolojisine dayalı poliklonal antikorların üretilmesi incelenmiştir.

**MATERYAL ve METOD:** Dondurup-çözme yöntemi kullanılarak *L.tropica*'dan tüm antijen eldesi gerçekleştirilerek, antijenler 6-8 haftalık Balb-C farelere farklı adjuvantlar aracılığıyla verildi. İmmünizasyon sonucunda en yüksek yanıt alınan fareler servikal dislokasyon yöntemi ile öldürülerek dalaklarından B-lenfosit izolasyonu yapıldı ve eş zamanlı olarak Azoguanin-8'e maruz bırakılmış myeloma hücreleri(P3-X63-Ag8.65) ile polietilen glikolün aracılığıyla füzyonu gerçekleştirildi. Füzyon sonrası hücrelerin seçici besiyeri içerisinde eliminasyonu sağlanmış olup, hibridoma hücrelerinde oluşan *L.tropica* antijenlerine karşı antikor yanıtları belirli günlerde ELISA kaplama yapılarak incelendi.

**SONUÇ:** Füzyon sonrası 10. ve 20. Günlerde yapılan ELISA sonuçlarına göre hibridoma hücrelerinin belirli titrelerde tüm *L.tropica* parazit antijenlerine karşı antikor yanıtı oluşturduğu saptandı. 20.gün sonundaki ELISA sonucunda antikor miktarının 10.gün sonunda yapılan ELISA sonucuna göre daha yüksek seviyede olduğu tespit edildi.

**TARTIŞMA:** Dondurma çözme yöntemi ile elde edilen *L.tropica* parazitlerinin antijen kokteyllerine karşı oluşan B-lenfositleri ile myeloma hücrelerinin füzyonu sonucunda oluşan hibridomaların poliklonal antikor ürettiği ve tanı amaçlı kullanılabileceği ortaya çıkmıştır. Çalışmalarımızın sonraki aşamasında alt klonlamaya geçilerek *L.tropica*'ya

karşı monoklonal antikorların elde edilmesi, tanı kitinin geliştirilmesi ve kitin kütanöz leishmaniasis ile enfekte olmuş deney hayvanlarında ve hastalık açısından endemik olan bölgelerdeki hastalar üzerinde incelenmesi planlanmaktadır.

**TEŞEKKÜRLER:** Bu çalışma T.C. Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı tarafından desteklenmiştir. (Proje no: 0254.STZ.2013-2). Ayrıca myeloma hücre hattını tarafımıza sağlayan Ege Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. S. İsmet Deliloğlu GÜRHAN'a ve Arş. Gör. Mehmet Özgün ÖZEN'e teşekkür ederiz.

## HER2 pozitif meme kanserine karşı aşı adayı antijenik epitopların biyoinformatik yöntemlerle belirlenmesi

Müge Anıl<sup>1,2</sup>, Esra Atalay Şahar<sup>3</sup>, Mert Döşkaya<sup>4</sup>, Hüseyin Can<sup>3</sup>, Yüksel Gürüz<sup>4</sup>, Sultan Gülçe İz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Ana Bilim Dalı, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>3</sup>Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji Bölümü, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>4</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

Email: anl.muge@gmail.com

**GİRİŞ ve AMAÇ:** ErbB2 geninin ürünü olan epidermal büyüme faktörü 2 (HER2)'nin fazla ekspresyonu meme kanserinde tümör agresifliği ve zayıf prognoz ile ilişkilidir ve HER2 pozitif meme kanserleri tüm meme kanserlerinin yaklaşık olarak %20'sini oluşturmaktadır. Bu sebeple HER2 meme kanseri hastalarının tedavisinde kritik bir hedef haline gelmiştir.

Bu çalışmada sıçan HER2 pozitif tümörü oluşturulan fare modeline karşı sıçan HER2 ekstraselüler domainin biyoinformatik yöntemlerle incelenip klinik öncesi çalışmalarda kullanılmak üzere antijenik epitoplarının saptanması hedeflenmiştir. Çalışmanın diğer bir hedefi ise hayvan modelinde çalışmalar sonrasında klinik çalışmalarda kullanılmak üzere insan HER2 ekstraselüler domainin biyoinformatik yöntemlerle incelenip antijenik epitoplarının saptanmasıdır.

**MATERYAL ve METOD:** Antijenik epitop belirleme programı, Immunoepitope Database and Analysis Resource ([www.iedb.org](http://www.iedb.org)) kullanılarak MHC-1 hücre epitopları saptanmıştır. Sıçan HER2 ekstraselüler domaini için MHC-1 analizi; sınıflama yüzdesi 2.5'ten küçük olacak şekilde seçilerek yapılmıştır. Ayrıca immün epitop seçiminde HER2 ekstraselüler domaini üzerinde daha önce immünojenitesi gösterilen 1-106, 267-376 ve 487-596 aa (amino asit) dizileri de dikkate alınmıştır (1). İnsan HER2 ekstraselüler domaini için MHC-1 analizi ise; HLA-A\*02:06, HLA-A\*31:01, HLA-B\*35:01, HLA-B \*54:01 allelleri için ve sınıflama yüzdesi 2'den küçük olacak şekilde seçilerek yapılmıştır (2). Ayrıca Trastuzumab, Pertuzumab bağlanma bölgeleri ve heterodimerizasyon bölgesi de dikkate alınmıştır (3).

**SONUÇ:** Sıçan HER2 ekstraselüler domaini üzerinde 11 adet 2.5'ten küçük 15 aa'lık immün epitop belirlenmiştir. Bu epitopların 9 adedinin daha önce çalışmalarda immünojenitesi gösterilen 1-106, 267-376 ve 487-596 aa parçaları üzerinde bulunduğu 2 adedinin ise bu parçaların dışında kaldığı görülmüştür. İnsan HER2 ekstraselüler domaini üzerinde ise 144 adet sınıflama yüzdesi 1 ve 1'den küçük aa dizisi saptanmıştır. Bu aa dizilerinden 12 adedi daha önce meme kanseri hastalarında fazlalığı gösterilen HLA-A\*02:06, HLA-A\*31:01, HLA-B\*35:01, HLA-B \*54:01 allelleri üzerindedir.

**TARTIŞMA:** Bu çalışmada sıçan HER2 ekstraselüler domaini üzerinde belirlenen 9 adet 15aa'lık immün epitopun klinik öncesi fare modelinde DNA ve rekombinant protein aşısı şeklinde kullanılabileceği düşünülmektedir. İnsan HER2 ekstraselüler domaini üzerinde belirlenen 12 adet immün epitobun ise fare çalışmalarının ardından klinik çalışmalarda DNA ve rekombinant protein aşısı şeklinde kullanılabileceği düşünülmektedir.

**KAYNAKLAR:**

1. Marchini, C., Kalogris, C., Garulli, C. et al., 2013, Tailoring DNA vaccines: designing strategies against HER2-positive cancers, *Frontiers in Oncology*, 3(122): doi: 10.3389/fonc.2013.00122.
2. Tsuda, B., Kametani, Y., Goto, Y., et al., 2012, A Human B cell receptor epitope-based erbB-2 peptide (N: 163-182) with pan-reactivity to the T cells of japanese breast cancer patients, *Vaccines & Vaccination*, 3(7): doi: 10.4172/2157-7560.1000159.
3. Deng, X., Zheng, X., Yang, H., et al., 2014, Comparative analysis of evolutionarily conserved motifs of epidermal growth factor receptor 2 (HER2) predicts novel potential therapeutic epitopes, *PLOS ONE*, 9(9): e106448. doi:10.1371/journal.pone.0106448.

## ***Plasmodium falciparum* sıtmasına karşı multi-stage aşı geliştirmede kullanılabilir multi-epitop proteinin biyoinformatik yöntemlerle tasarlanması**

Hüseyin Can<sup>1</sup>, Esra Atalay Şahar<sup>1</sup>, Muhammet Karakavuk<sup>2</sup>, Sultan Gülçe İz<sup>3</sup>, Aysu Değirmenci Döşkaya<sup>2</sup>, Yüksel Gürüz<sup>2</sup>, Mert Döşkaya<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji Bölümü, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>2</sup> Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>3</sup> Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye  
Email: mkarakavuk@gmail.com

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Sıtma insanların en önemli paraziter hastalığı olup, dünyada her yıl yaklaşık 250 milyon kişi sıtma ile enfekte olmakta ve 800 bin kişi ölmektedir. Yıllarca ihmal edildikten sonra, sıtma ile şavaş için son yıllarda uluslararası fonlar oluşturulmuştur. Bu kapsamda; Artemisin dayanaklı kombine tedavi (ACT), insektisit emdirilmiş cibinlikler (ITNs) ve vektörlerle mücadele yöntemleri kullanılmıştır. Ancak sıtma görülen yerlerdeki altyapı sorunları, oluşan artemisin ve insektisit direnciden dolayı bu uygulamalar yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle sıtma kontrolü ve eliminasyonunda en önemli anahtar etkili aşı geliştirmektir. Sıtmada konakta gelişim dönemleri ve konak immunitesi; pre-eritrositer dönem, aseksüel eritrositer dönem ve gametositik dönem olmak üzere 3 dönemde incelenir. Aşı çalışmaları da bu 3 döneme paralel olarak ilerlemektedir. Pre-eritrositer dönem aşıları: serbest sporozoitlere ve infekte hepatositlere karşı oluşturulan aşılar; Aseksüel eritrositer dönem aşıları: merozoitler, şizontlar ve infekte eritrositlere karşı oluşturulan aşılar; Transmission-blocking aşılar ise gametositlere ve ookinete karşı oluşturulan aşılardır. Bu çalışmada *P. falciparum* sıtmasına karşı DNA ve rekombinant aşılarda kullanılabilir proteinlerin biyoinformatik analizi yapılarak antijenik epitoplarının saptanması amaçlanmıştır.

**MATERYAL ve METOD:** *P. falciparum*, CSP ve LSA-1 proteinleri pre-eritrositer dönem, MSP-2 ve CSA-L proteinleri eritrositer dönem ve yüzey protein 25 ise gametositik dönem proteini olarak seçilmiştir. Bu proteinlerin aminoasit ve nükleik asit dizileri [www.plasmodb.org](http://www.plasmodb.org) ve [www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/) veri tabanlarından elde edilmiştir. MHC-1 ve MHC-2 ve B hücre epitop analizleri [www.iedb.org](http://www.iedb.org) ve [sysbio.unl.edu/SVMTRIP/](http://sysbio.unl.edu/SVMTRIP/) epitop programları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. MHC-1 analizi ve MHC-2 analizleri 2 farklı yöntemle yapılmıştır. MHC-1 epitopları saptanırken hedef genler literatürde kullanılan üç allel (HLA-A24, HLA-B14, HLA-B35) ve 53 adet allel içeren tüm referans set ile analiz edilmiştir. MHC-2 epitopları, iki allel (HLA DRB1 1302, HLA DQB1 0501) ve 27 adet allel içeren tüm referans seti kullanılarak ortaya konmuştur. Son olarak N ve O glikolizasyon analizleri; [www.cbs.dtu.dk/services/NetNGlyc/](http://www.cbs.dtu.dk/services/NetNGlyc/) ve [www.cbs.dtu.dk/services/NetOGlyc/](http://www.cbs.dtu.dk/services/NetOGlyc/) glikolizasyon biyoinformatik yöntemleri ile gerçekleştirilmiştir.

**SONUÇ:** İki farklı allel seti kullanılarak iki farklı büyüklükte protein dizisi oluşturulmuştur. MHC-1 analizi sonucu CSP'de 6, LSA-1'de 4, MSP-2'de 4, CSA-L'de 4 ve yüzey protein 25'de 3 epitop bölgesi bulunurken tüm alleller kullanıldığında iç içe girmiş, CSP'de 56, LSA 1'de 68, MSP-2'de 70, CSA-L'de 110 ve yüzey protein 25 de 86 tane epitop bölgesi bulunmuştur. MHC-2 analizinde iki allel kullanılması sonucu CSP'de 2, LSA-1'de 6, MSP-2'de 9, CSA-L'de 2 ve yüzey protein 25'de 3 epitop bölgesine rastlanırken tüm referans set kullanıldığında CSP'de 120, LSA-1'de 131, MSP-2'de 102, CSA-L'de 183 ve yüzey protein 25'de 105 epitop bölgesi saptanmıştır. B hücre epitop analizinde 6 epitop CSP ve MSP-2'de, 4 epitop LSA-1'de, 2 epitop CSA-L'de ve 5 epitop yüzey protein 25'de bulunmuştur. Tüm analizler sonucu 75 ve 125 kilodalton büyüklüğünde iki protein dizisi elde edilmiştir.

**TARTIŞMA:** MHC-1 ve MHC-2 analizleri tüm alleller ile gerçekleştirildiğinde ortaya çıkan epitop sayısı artmıştır. Allel sayısının yükselmesi proteinin antijenik özelliğini artırması beklenmektedir. Bu çalışmada geliştirilen iki farklı büyüklükteki multi-epitop protein ile *P. falciparum* sıtmasına karşı multi-stage DNA ve Rekombinant protein aşısı geliştirilmesi mümkündür.

## ***Plasmodium falciparum* sıtmasının fare modeli olan *P. berghei*'nin bütün dönemlerine etkili multi-epitop aşısı adayları antijenin biyoinformatik yöntemlerle geliştirilmesi**

Muhammet Karakavuk<sup>1</sup>, Esra Atalay Şahar<sup>2</sup>, Hüseyin Can<sup>2</sup>, Sultan Gülçe İz<sup>3</sup>, Aysu Değirmenci Döşkaya<sup>1</sup>, Yüksel Gürüz<sup>1</sup>, Mert Döşkaya<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>2</sup> Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji Bölümü, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>3</sup> Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

Email: mkarakavuk@gmail.com

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Sıtma Dünya'daki en önemli paraziter hastalıktır. Her yıl çoğunluğu çocuklar olmak üzere yaklaşık 800 bin kişi sıtmadan dolayı hayatını kaybetmektedir. Bu sebeple hastalığın kontrolü için yoğun çaba harcanmaktadır. Bu kapsamda etkili aşısı geliştirme en büyük hedeflerdendir. Aşısı çalışmalarında hayvan modelleri önemli yer tutmaktadır. Bu kapsamda fare, gece maymunu (*Simia trivirgata*), rhesus maymunu (*Macaca mulatta*) gibi hayvanlar kullanılmaktadır. *Plasmodium berghei* ve *P. yoelii* fare hayvan modellerinde en çok kullanılan sıtma türleridir. Farelerde benzer patolojik bozukluklar oluşturmamasından dolayı *P. berghei*, *P. falciparum* sıtması için en çok tercih edilen hayvan modelidir. Bu çalışmada *P. falciparum* sıtmasının fare modeli olan *P. berghei*'ye karşı DNA ve rekombinant aşılarda kullanılacak aşısı adayları proteinlerin biyoinformatik yöntemlerle incelenip antijenik epitoplara saptanması hedeflenmiştir.

**MATERYAL ve METOD:** *P. berghei*'ye ait pre-eritrositer dönem; CSP ve LSA-1, eritrositer dönem; MSP-4/5 ve CSA-L ve gametositik dönem; Pbs25 proteinleri incelenmiştir. [www.plasmodb.org](http://www.plasmodb.org) ve [www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/) veri tabanları kullanılarak seçilen proteinlerin aminoasit ve nükleik asit dizileri belirlenmiştir. Antijenik epitop programı, [www.iedb.org](http://www.iedb.org) ve [sysbio.unl.edu/SVMTriP](http://sysbio.unl.edu/SVMTriP) kullanılarak MHC-1 ve B hücre epitoplara saptanmıştır. MHC-1 analizi; H-2-Db ve H-2 Dd allelleri ve tüm allelleri kullanılarak 2 farklı şekilde yapılmıştır. N ve O glikolizasyon analizleri, [www.cbs.dtu.dk/services/NetNGlyc/](http://www.cbs.dtu.dk/services/NetNGlyc/) ve [www.cbs.dtu.dk/services/NetOGlyc/](http://www.cbs.dtu.dk/services/NetOGlyc/) glikolizasyon biyoinformatik programları ile yapılmıştır.

**SONUÇ:** MHC-1 epitop analizinde iki (H-2-Db ve H-2 Dd) ve altı allel (H-2-Db, H-2 Dd, H-2-Kb, H-2-Kd, H-2-Kk, H-2-Ld) serisi kullanılması ile iki farklı büyüklükte protein dizisi tasarlanmıştır. H-2-Db ve H-2 Dd allelleri kullanımı sonucu CSP'de 1, LSA-1'de 4, MSP-4/5' de 2, CSA-L'de 2 ve Pbs 25'de 2 tane MHC-1 epitop bölgesi bulunmuştur. Altı allel kullanıldığında kullanıldığında CSP'de 3, LSA 1'de 13, MSP-4/5'de 5, CSA-L'de 15 ve Pbs25'de 18 tane MHC-1 epitop bölgesi bulunmuştur. B hücre epitop analizinde; 4 epitop CSP, 3 epitop MSP-4/5, 10 epitop LSA-1, 2 epitop CSA-L ve 5 epitop yüzey protein 25'de saptanmıştır. Saptanan epitop bölgeleri birleştirildiğinde 74 ve 97 kilodalton büyüklüğünde iki protein dizisi oluşmuştur.

**TARTIŞMA:** İki farklı allel seti ile yapılan MHC-1 analizleri sonucu iki farklı büyüklükte protein tasarlanmıştır. Altı allel içeren set kullanımında epitop sayısı, iki allel kullanımında ortaya çıkan epitop sayısından fazladır. Bu çalışmada biyoinformatik analizlerle geliştirilen multi-stage ve multi-epitop proteinlerin DNA ve rekombinant protein sıtma aşu modellerinde kullanılabileceği düşünölmüştür.



## ***Toxoplasma gondii*'ye Ait Antijenik Proteinler Arasından Aşı Adayı Olabilecek Proteinlerin Biyoinformatik Yöntemlerle Belirlenmesi**

Esra Atalay Şahar<sup>1</sup>, Mert Döşkaya<sup>2</sup>, Hüseyin Can<sup>1</sup>, Sultan Gülçe İz<sup>3</sup>,  
Aysu Değirmenci Döşkaya<sup>2</sup>, Mina Kalantari-Dehaghi<sup>4</sup>, Remziye Deveci<sup>1</sup>,  
Yüksel Gürüz<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji Bölümü, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>2</sup> Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>3</sup> Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>4</sup> California Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, CA 92617, A.B.D.

Email: esra.atalay.sahar@gmail.com

**GİRİŞ ve AMAÇ:** *Toxoplasma gondii*, toksoplazmozis enfeksiyonuna neden olan, hemen hemen her sıcakkanlı hayvanı, kuş türlerini ve insanları enfekte edebilen bir zorunlu hücre içi parazittir. İnsan yaşamını tehdit eden ağır klinik tablolar oluşturmasının yanında, hayvanlarda oluşturduğu enfeksiyon ile ekonomik zararlara da neden olmaktadır. *T. gondii*'ye karşı geliştirilecek aşı, toksoplazmozis enfeksiyonundan ve yarattığı zararlardan korunmak için büyük önem taşımaktadır. Aşı geliştirmede ise en kritik nokta antijen keşfi ve doğru antijenin kullanılmasıdır.

*T. gondii*'ye karşı konak korunmasında başlıca doku uygunluk kompleksi (MHC) immun cevabın regülasyonunda önemli rol oynamaktadır. Peptitlerine ayrılmış olan antijenik protein MHC tarafından T hücrelerine sunulmaktadır. T hücreleri MHC moleküllerinin sunduğu epitop bölgeleri ile bağlanarak immun yanıtı uyarmaktadır. Bu sebeple bu çalışmada aşı adayı 49 protein içinden Tc hücrelerinin bağlanacağı MHC-I ve B hücre epitop bölgelerinin araştırılması hedeflenmiştir. Ayrıca *T. gondii*'nin ökaryotik bir organizma olmasından dolayı epitop bölgelerinin glikozilleneceği ve bu durumun immun cevabı etkileyeceği göz önüne alınarak N-bağlı glikozilasyon ve O-bağlı glikozilasyon bölgelerinin de belirlenmesi hedeflenmiştir.

**MATERYAL ve METOD:** Çalışma grubumuz tarafından protein mikroarray taraması ile belirlenen 49 aşı adayı antijenik protein Immune Epitope Database and Analysis Resource (<http://tools.immuneepitope.org/mhci/>) programı ile Tc MHC-I epitop bölgeleri analiz edilmiştir. B hücre epitop analizinde ise SVMTriP programı (<http://sysbio.unl.edu/SVMTriP/prediction.php>) kullanılmıştır. N- ve O- bağı glikozilasyonlar NetNGlyc 1.0 Server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetNGlyc/>) ve NetOGlyc 4.0 Server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetOGlyc/>) adlı programlar kullanılarak analiz edilmiştir.

**SONUÇ:** Aşı adayı olarak belirlenen 6 proteinde sırasıyla 10 (%1,38), 10 (%1,38), 10 (%0,95), 8 (%2,2), 5 (%1,6) ve 4 (%1,69) adet B lenfosit epitopu bulunmaktadır. MHC I epitopları ise rD6, rH6, rA4, rE4, rH2 ve rE6 proteinlerinde sırasıyla 13 (%1,79), 12 (%1,14), 10 (%3,19), 10 (%2,75), 9 (%3,81) ve 8 (%1,11) adet bulunmaktadır.

Aşı adayı rD6, rA4, rE6 ve rH6 proteinlerinde sırasıyla 3 (%0,41), 2 (%0,64), 2 (%0,28), 2 (%0,19) adet N-bağlı glikozilasyon bölgesi bulunmaktadır. rH2 ve rE4 proteinlerinde N-bağlı glikozilasyon bölgesi bulunmamaktadır. O-bağlı glikozilasyon bölgeleri ise rH6, rE6, rD6, rE4, rA4 ve rH2 proteinlerinde sırasıyla 81 (%7,7), 69 (%9,54), 53 (%7,29), 21 (%5,77), 6 (%1,92) ve 4 (%1,69) adet bulunmaktadır

Aşı adayı 6 proteinin epitop bölgelerindeki glikozilasyon miktarı incelendiğinde B epitop bölgesinde N-bağlı glikozilasyon bölgesi bulunmadığı, O-bağlı glikozilasyonun ise rD6, rE6, rH6, rE4, rA4 proteinlerinde sırasıyla 18, 18, 10, 9 ve 2 adet olduğu saptanmıştır. MHC I epitop bölgesinde N-bağlı glikozilasyon bölgesi rD6 ve rH6 proteinlerinde sadece birer adet bulunduğu, O-bağlı glikozilasyonun ise rE4, rD6, rH6 ve rE6 proteinlerinde sırasıyla 7, 7, 5 ve 4 adet olduğu saptanmıştır.

**TARTIŞMA:** Bu çalışma ile 49 aşı adayı olabilecek antijenik protein içinden 6 tanesi biyoinformatik analiz sonucunda seçilmiştir. Bu proteinlerle geliştirilecek aşı formülasyonunun kuvvetli hücrel ve humoral yanıt uyarması beklenmektedir.

**TEŞEKKÜRLER:** Bu proje TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (Proje no: SBAG 110S200)

## Kütle Spektrometresi ile Aşı Adayı Antijenlerin Fosfoproteomiks Karakterizasyonu

Umut Şahar<sup>1</sup>, Hüseyin Can<sup>1</sup>, Mert Döşkaya<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

Email: umutsahar@yahoo.com

Proteinler üzerinde oluşan fosforilasyon, sık rastlanan ve çok önemli kovalent bağlı bir post-translasyonel modifikasyondur (PTM). Protein üzerindeki fosforilasyon; serin (Ser), treonin (Thr) ve tirozin (Tyr) aminoasitlerinin hidroksil gruplarında meydana gelmektedir. Fosforilasyonda kinaz enzimleri Ser, Thr veya Tyr aminoasitlerini fosforlama işlevini yaparken fosfataz enzimleri fosfor içeren grupları kesmektedir. Fosforilasyonun da içinde olduğu sinyal yollarındaki düzensizlikler veya değişiklikler tümöre dönüşümün belirteçidir.

Fosfo-protein/peptit üzerindeki fosfo-modifikasyonların incelenmesi için bazı metotlar geliştirilmiştir. Genellikle analiz öncesinde ilk olarak, konsantre biçimde fosfopeptidlerin elde edilebilmesi için metal afinite kromatografisi, katyon-değişim kromatografisi, peptit immün çöktürme gibi yöntemler uygulanmaktadır. Daha sonra fosforilasyon noktalarının belirlenmesinde özellikle kütle spektrometresi (MS ve MS/MS) ve kütle spektrometresi dışında da 2D jel elektroforezi, 32P-işaretleme tekniği ve PAGE sonrası radyo görüntüleme sistemleri gibi diğer yöntemlerde kullanılabilmektedir. Ayrıca kromatografik veya Edman degradasyonu ile de fosforilasyon bölgeleri belirlenebilmektedir. LC-MS/MS sistemi ile analizde fosfopeptit iyonlarının parçalanması sonrası fosforik asit yapıdan uzaklaştırılmakta (neutral loss) ve fosforilasyon bu şekilde (98 Da kayıp kütle sayesinde) tespit edilebilmektedir. Ek olarak MALDI-MS sistemi ile de fosfat analizi yapılabilmekte ve bu analizde fosfataz enzimi kullanılarak orijinal peptit ve enzimle muamele edilmiş peptit arasındaki 80 Da kütle farkının saptanması sonucu yapının fosfatlı olduğu anlaşılmaktadır.

Fosfoproteinlerin parçalanmasıyla oluşan fosfopeptitler ile kansere özgü MHC-I ve II oluştuğu ve bu yapıların T hücrelerince tanındığı ve ayrıca lösemi örneklerinden izole edilen fosfopeptidlerin sağlıklı hücrelerde immün yanıt oluşturduğu bildirilmiştir. MHC-I ile ilişkili bu antijenik fosfopeptitlerin kanser immunoterapisinde işlevsel olabileceği belirtilmektedir. Fosforilasyon noktasının belirlenmesi ile kinaz-substrat ilişkisi, sinyal yolları, protein-protein ilişkisi aydınlatılabilmekte ve böylece hastalıkların nedenleri açıklanabilmektedir. Ayrıca aşı adayları antijenlerin üretim öncesinde fonksiyonel niteliklerinin simülasyonu ve karakterizasyonu için fosfoproteomiks kritik bir öneme sahip olmaktadır.

## Yenilebilir Aşı Üretimi Amaçlı Virüs Antijenlerinin Mikroalgal Sistemlerde Üretimi

Çiğdem Demirkaya, Sultan Gülce İz, Meltem Conk Dalay

Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye  
Email: demirkayacigdem@gmail.com

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Yenilebilir aşular, ucuz olmaları, uygulamasının ve saklanması kolay olması, güvenli ve sosyo kültürel açıdan özellikle az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler için umut vaat eden aşılama sistemleridir. Yenilebilir aşı teknolojisinde, antijen olarak seçilmiş gen uygun organizmaya aktarılır ve daha sonra bu organizmadan istenilen antijenin üretimi sağlanır. Mikroalgler, prokaryotik sistemlerin yüksek büyüme hızı ile ökaryotik sistemlerin sahip olduğu post-transkripsiyonel ve post-translasyonel gibi ekspresyon sistemlerinin bütün avantajlarını birleştirerek, rekombinant kompleks proteinlerin üretimini başarıyla gerçekleştirirler. Bu çalışmada mikroalglerin tranformasyonu ile elde edilecek protein bazlı yenilebilir aşı üretiminin ilk basamağı olarak antijen üretimi hedeflenmektedir.

**MATERYAL ve METOD:** Mikroalglerden yenilebilir aşı üretimi için antijen üretiminde en çok tercih edilen model organizma *Chlamydomonas reinhardtii* isimli bir yeşil algdir. Mikroalglerin genellikle plastit genomuna gen transferi yardımıyla dışarıdan bir gen aktarımı ve antijen üretimi gerçekleştirilmektedir. Plastit genomuna gen aktarımı altın veya tungsten kaplanmış DNA parçacıklarının bombardıman yöntemiyle aktarılıp homolog rekombinasyon gerçekleştirilmesiyle yapılmaktadır. Nükleer transformasyon da ise elektroporasyon ve cam boncuklarla hücre duvarına hasar verilerek gen aktarımı yapılmaktadır. Transformasyon sonrasında ise toplam protein analizi, Western Blot ve ELISA gibi in vitro testlerle üretilen antijen miktarı ve karakterizasyonu gerçekleştirilmektedir.

**SONUÇ:** İlk mikroalglerden aşı üretimi denemesi Sun ve ark. (2003) tarafından şap aşısı hastalığı için şap virüsünün yapısal proteini olan VP1 proteinin üretilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Üretilen antijen özelliği taşıyan protein, toplam portin miktarının %3-4'ünü oluştururken, in vivo denemelerde immun reaksiyon oluşmasını sağlamıştır. Daha sonra Hepatit B, HPV gibi ciddi problemlere yol açan virüslere karşı aşı üretimi amaçlı antijen üretimi çalışmaları yapılmıştır (Hempel ve ark., 2011, Dermutas ve ark., 2013). Üretilen antijenlerin immun yanıtı sağladığı gözlemlenmiştir.

**TARTIŞMA:** İnsan aşularının, algal bazlı üretim platformları ile üretilmesi, HPV gibi pahalı ve önemli hastalıkların önlenmesinde yeni, ucuz bir alternatif olarak kabul edilmektedir. Henüz küçük ölçekte yapılan araştırmaların, büyük ölçeğe aktarılması ve optimizasyonu ile daha iyi bir alternatif haline gelecektir.

## Poster Konusu: İnsanlarda görülen enfeksiyöz ajanlara karşı geliştirilen aşılar

P-8

### Leishmaniasis'e Karşı YüzeY Moleküllerine Dayalı Aşı Geliştirmek Üzere *L. tropica* Parazitlerinin Büyük Ölçekli Çoğaltılmasının Optimizasyonu

Gölnaz Yıldırım Köken, Özlem Ayşe Özyılmaz, Aslı Pınar Zorba, Gülesme Yılmaz, Simge Karlığa, Emrah Şefik Abamor, Melahat Bağirova

Yıldız Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, Hücre Kültürü ve Doku Mühendisliği Laboratuvarı, Esenler/İstanbul, 34220, Türkiye  
Email: gulnazildirim88@gmail.com

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Leishmania parazitlerinin yüzeY antijenlerini elde edebilmek için parazitlerin büyük ölçekli kültürüne ihtiyaç duyulmaktadır. Leishmania parazitlerinin kültür ortamında çoğaltılması prokaryotlara kıyasla oldukça zor ve zaman alıcıdır. Diğer yandan, literatürde büyük ölçekte *L. tropica* parazitlerinin üretilmesine yönelik çalışmalar sınırlıdır. Bu çalışmada ilk kez, aşı geliştirmek üzere *L. tropica*'nın en immunojen aşı adayı molekülü lipofosfoglikanın (LPG) elde edilebilmesi için parazitlerin büyük ölçekli çoğaltılmasında yeni bir yaklaşımın geliştirilmesi amaçlanmıştır.

**MATERYAL ve METOD:** Kriyobanktan çıkarılan *L. tropica* promastigotları, 5 ml %10FBS'li RPMI içeren 25 cm<sup>2</sup> lik flaska 10<sup>6</sup> parazit/ml olacak şekilde ekilmiştir. Parazit sayısı 10<sup>7</sup> parazit/ml değerine ulaştığında besiyeri miktarı iki katına çıkarılmıştır. Aynı döngü tekrarlanarak 10<sup>7</sup> parazit/ml sayısına ulaşıncaya, 25 ml %5FBS'li RPMI bulunan 75 cm<sup>2</sup> lik flask içerisine 10<sup>6</sup> parazit/ml olacak şekilde ekim yapılmıştır. 10<sup>7</sup> parazit/ml sayısına ulaşıldığında 300 ml Brain Heart Infusion (BHI) içeren erlene 10<sup>6</sup> parazit/ml olacak şekilde ekim yapılmış ve dördüncü gün besiyeri miktarı iki katına çıkarılmıştır. Promastigotlar, metasiklik evrede 4°C'de 4000 rpm'de 25 dk santrifüj edilmiş ve pelletler, antijenin eldesi için gerekli işlemlerin yapılacağı güne kadar -20°C'de saklanmıştır.

**SONUÇ:** *L. tropica* parazitlerinden LPG eldesi için uygulanan işlemler sonucunda 5 x 10<sup>6</sup> ile başlanan parazit kültürü 96 saat sonra 10<sup>9</sup> parazit sayısına ulaşmıştır. Erlenlerde yapılan kültürasyonun sonunda BHI içeren ortamda parazit sayısının 15x10<sup>6</sup>/ml'ye ulaştığı saptanmıştır. Böylece, büyük ölçekli kültürasyon sonunda parazit sayısının başlangıca göre 2000 kat arttığı tespit edilmiştir.

**TARTIŞMA:** Leishmania parazitlerinin doğrudan büyük ölçekli kültürünün yapılması ortamda parazit miktarının yetersiz olması yol açmaktadır. Bunun nedeni, az sayıda parazitin büyük ölçekli kültür ortamına tam olarak adaptasyon sağlayamaması ve büyüme için uygun ortamın oluşmamasıdır. Bu çalışmada ilk kez, parazit sayısı ve besiyeri miktarının kademeli olarak artırılmasıyla büyük ölçekte Leishmania kültürü

elde edilmiş ve mevcut yöntemlerden farklı olarak daha büyük miktarda parazit biyokütlesinin eldesi mümkün olmuştur. Geliştirilen bu yeni yaklaşımın gelecekte Leishmaniasis'e karşı aşı ve tanı kitlerinin geliştirilmesinde büyük katkıda bulunacağı düşünülmektedir.

**TEŞEKKÜRLER:** Bu çalışma T.C. Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı tarafından desteklenmiştir. (Proje no: 0254.STZ.2013-2).

## Farklı Aşı Formülasyonlarının Makrofaj Hücre Kültür Sisteminde Etkinliğinin İncelenmesi

Özlem Ayşe Özyılmaz, Melahat Bağirova, Emrah Şefik Abamor,  
Adil M. Allahverdiyev

Yıldız Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, Hücre Kültürü ve Doku Mühendisliği  
Laboratuvarı, Esenler/İstanbul, 34220, Türkiye  
Email: ozlemayseozyilmaz@gmail.com

**GİRİŞ VE AMAÇ:** Leishmaniasis, *Leishmania* türündeki zorunlu hücre içi parazitlerin neden olduğu tropikal bir hastalıktır. Hastalık Türkiye'nin de içinde olduğu 98 ülkede endemik olup, enfekte kişilerin sayısı ise 12 milyondur. Hastalığın bu kadar yaygın olmasının en önemli sebeplerinden biri etkili ve güvenilir bir aşının eksikliğidir. Son yıllarda, Leishmaniasise karşı aşı geliştirilmesine yönelik çalışmalarda, çözünür *leishmania* antijenleri (ÇLAG), çeşitli antijenik epitoplara içerdiğinden sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak bu antijenler sadece uygun bir adjuvan ile birlikte kullanıldığında etkili olabilmektedir. Son zamanlarda bazı polimerlerin adjuvan özelliğe sahip olduğunun ortaya çıkarılmasıyla, bu moleküllerin çeşitli enfeksiyon hastalıklarına karşı aşı çalışmalarında kullanımı artmıştır. FDA onaylı ve suda çözünebilir bir polimer olan polioksidonyum (PO) da enfeksiyonlara karşı aşı geliştirilmesinde etkili bir immünostimulan olarak kabul edilmektedir. Ancak günümüze kadar, PO'un herhangi bir antijenle birlikte Leishmaniasise karşı aşı geliştirilmesinde adjuvan olarak kullanıldığını gösteren herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Bu nedenle, bu çalışmada, ilk kez olarak, ÇLAG ve PO içeren formülasyonların makrofajların nitrik oksit (NO) üretimi üzerindeki etkinliklerinin incelenmesi ve bu formülasyonlara maruz kalan makrofaj hücrelerinin parazitler üzerindeki inhibitör etkisinin belirlenmesiyle uygulanan formülasyonun aşı adayı potansiyelinin *in vitro* olarak tespit edilmesi amaçlanmıştır.

**MATERYAL ve METOD:** Deneylerin ilk aşamasında J774 makrofaj hücreleri 96 kuyucuklu plakaya ekildi. Ertesi gün farklı PO-ÇLAG kombinasyonları makrofaj hücrelerine uygulandı ve hücreler 48 saat inkübe edildi. İnkübasyonun ardından, NO ölçümü için kültür ortamından 50 µl alınarak 96'lık plate eklendi. Örneklerin üzerine 50 µl Griess reaktifi eklenerek 540 nm'de absorbansları ölçüldü. Geriye kalan makrofaj hücreleri ise parazitlerle enfekte edildi. 48 saatlik inkübasyon sonrası makrofajlar, sodyum dodesil sülfat ile lize uğratıldı. Hücre içi amastigotlar serbest kaldıktan sonra üzerlerine RPMI besiyerinden eklendi ve 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant uzaklaştırıldı. Bu işlemde sonra amastigot pelleti 110 µl besiyeri ile süspanse edildi. Süspansiyondan 10 µl thoma lamında sayım için kullanıldı. Geriye kalan 100 µl 96'lık plakaya MTT deneyi için ekildi. MTT çözeltisinden (10 mg/ml) her kuyucuğa eklendi ve 37°C'de 4 saat inkübe edildi. İnkübasyonun ardından 100 µl DMSO eklenerek 30 dakika beklendikten sonra 570 nm'de absorbansı ölçüldü.

**SONUÇ:** ÇLAG'nin, PO'nun 250 µg/ml ve 500 µg/ml'lik konsantrasyonlarıyla oluşturulan formülasyonlara maruz bırakılan makrofajların, kontrol grubuna göre daha yüksek miktarda NO ürettiği tespit edilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla uygulanan formülasyonlar makrofajların ürettiği NO miktarını 3-4 kat arttırmıştır. Diğer yandan, aynı konsantrasyonlara maruz kalan makrofajların, parazitlerle enfeksiyonu sonucunda, kontrol grubuna kıyasla *leishmania* proliferasyonunu yaklaşık 2,5 kat azalttığı tespit edilmiştir. ( $p<0,05$ ).

**TARTIŞMA:** Son yıllarda Leishmaniasise karşı aşı geliştirilmesinde *leishmania* antijenleri yanında farklı adjuvanlar kullanılmaktadır. Bu çalışmada da ilk kez olarak FDA onaylı bir immünoestimülan polimer olan PO'nun çözünür *leishmania* antijenleri ile oluşturulan kombinasyonlarının enfekte olmuş ve olmamış makrofaj hücre kültür sistemindeki etkinlikleri incelenmiştir. Sonuçlara göre, PO'nun 250 µg/ml ve 500 µg/ml konsantrasyonlarda ÇLAG ile oluşturduğu kombinasyonların, kontrole göre enfekte olmamış makrofajlarda NO üretimini stimüle ettiği, enfekte olmuş makrofajlarda ise parazit proliferasyonunu inhibe ettiği saptanmıştır. Elde edilen bu sonuçlar geliştirilen bu yeni formülasyonların Leishmaniasise karşı aşı geliştirilmesinde ümit verici olduğunu göstermektedir. Çalışmanın daha sonraki aşamasında *in vitro* etkinliği saptanmış olan bu formülasyonların deney hayvanlarında leishmaniasise karşı etkinliğinin incelenmesi planlanmaktadır.

**TEŞEKKÜRLER:** Bu çalışma T.C. Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı ve TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (Proje no: 0254.STZ.2013-2 ve SBAG 213S148).



## Uzun Süreli Makrofaj Hücre Kültür Sisteminin Leishmaniasise Karşı Aşı Geliştirilmesindeki Önemi

Emrah Şefik Abamor, Özlem Ayşe Özyılmaz, Melahat Bağirova,  
Adil M. Allahverdiyev

Yıldız Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, Hücre Kültürü ve Doku Mühendisliği  
Laboratuvarı, Esenler/İstanbul, 34220, Türkiye  
Email: esabamor@gmail.com

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Ancak, uygun aşı formülasyonlarının saptanmasında deney hayvanlarının kullanımı oldukça zaman alıcı, zahmetli, maliyetli ve pek çok farenin sakrifikasyonuna neden olduğundan etik açıdan da sorunlu bir işlemdir. Bu nedenle, aşı adaylarının etkinliğinin *in vitro* sistemler üzerinde incelenmesi oldukça önemlidir. Doğal immün sistemin önemli hücrelerinden olan makrofajlar aynı zamanda *leishmania* parazitlerinin konak hücrelerini oluşturmaktadır. Makrofajlar tarafından algılanan herhangi bir formülasyona karşı oluşan nitrik oksit (NO) ve serbest radikaller immün yanıtın önemli bileşenleridir. Aşı geliştirilmesinin temel ilkeleri, genel olarak çeşitli deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalara dayanmaktadır. Bu bilgiler ışığında makrofaj hücre kültür sisteminin leishmaniasise karşı geliştirilen aşı formülasyonlarının etkinliğinin belirlenmesinde kullanılabilmesinin uygun olduğu düşünülmektedir. Literatürde *L.infantum*'a karşı aşı geliştirilmesinde uzun süreli makrofaj hücre kültür sisteminin kullanılmasına ve etkinliğine yönelik yeterli bilgiye rastlamadık. Buna göre de, bu çalışmada ilk kez olarak uzun süreli makrofaj hücre kültür sisteminde, farklı yöntemlerle hazırlanmış *leishmania* antijenlerinin polioksidonyum (PO) adjuvanı ile birlikte oluşturulan formülasyonlarının makrofajların NO üretme potansiyelleri üzerindeki etkinliklerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

**MATERYAL ve METOD:** J774 makrofaj hücrelerinin kültürü %10 FBS içeren RPMI besiyeri içerisinde %5 CO<sub>2</sub>'li inkübatörde gerçekleştirildi. Deneylerin ilk aşamasında J774 hücreleri 96 kuyucuklu plaklara ekildi. 24 saatlik inkübasyonun ardından farklı PO-Antijen (Ag) kombinasyonları makrofaj hücrelerine uygulandı ve hücreler 37°C'de 48 saat inkübe edildi. İnkübasyonun ardından standartlardan ve NO ölçümü yapılacak kültür ortamından 50 µl alınarak 96'lık plaklara eklendi. Bu örneklerin üzerine 50 µl Griess reaktifi eklenerek oda sıcaklığında, karanlıkta 10 dk. inkübasyona bırakıldı. Ardından 540 nm'de absorbans ölçüldü.

**SONUÇ:** Dondurulup çözme ve otoklavlama gibi iki farklı yöntemle hazırlanan *leishmania* antijenlerinin PO ile fiziksel karışım halindeki formülasyonlarının makrofajlara verilmesinin ardından geçen 48 saatlik sürede, her iki formülasyonun da hücrelerin NO üretme potansiyellerini anlamlı şekilde arttırdıkları tespit edildi. Özellikle PO'nun 250 µg/ml ve 500 µg/ml konsantrasyonlarının antijenle birlikte, kontrole kıyasla NO üretimini 3-4 kat arttırdıkları belirlendi ( $p < 0,05$ ).

**TARTIŞMA:** Leishmaniasise karşı aşı geliştirilmesinde deneysel hayvan modelleri kullanılması yanında immünize edilmiş hayvan modellerinden elde edilen peritoneal makrofajlarda NO ve sitokin ölçümü gibi parametreler incelenmektedir. Yapılan bu çalışmada ilk kez olarak aşı formülasyonunun *in vitro* etkinliğini belirlemede makrofaj hücre kültür modelinin kullanımının uygun olduğu gösterilmiştir. Önerilen bu sistemin gelecekte Leishmaniasise karşı aşı geliştirilmesi çalışmalarında immün yanıt oluşumunun göstergesi olan sitokin ölçümü gibi diğer parametrelerin incelenmesi için de uygun olduğu düşünülmektedir. Bu yeni sistem *in vivo* sistemin yukarıda bahsedilen dezavantajının barındırmamakla birlikte aşı adaylarının etkinliğinin belirlenmesine hız kazandıracaktır.

**TEŞEKKÜRLER:** Bu çalışma T.C. Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı ve TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (Proje no: 0254.STZ.2013-2 ve SBAG 213S148)

## Toxoplazmozise Karşı Geliştirilen Adjuvante 6-Valantlı Rekombinant Protein Aşısının Oluşturduğu İmmun Yanıt ve Korunmanın Belirlenmesi

Esra Atalay Şahar<sup>1</sup>, Mert Döşkaya<sup>2</sup>, Hüseyin Can<sup>1</sup>, Sultan Gülçe İz<sup>3</sup>, Aysu Değirmenci Döşkaya<sup>2</sup>, Mina Kalantari-Dehaghi<sup>4</sup>, Remziye Deveci<sup>1</sup>, Yüksel Gürüz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji Bölümü, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>3</sup>Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>4</sup>California Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, CA 92617, A.B.D.

Email: esra.atalay.sahar@gmail.com

**GİRİŞ ve AMAÇ:** *Toxoplasma gondii*, toksoplazmozis enfeksiyonuna neden olan zorunlu hücre içi parazittir. Toksoplazmozis enfeksiyonu dünya nüfusunun üçte birini enfekte etmektedir. İmmun sistemi sağlam kişilerde, genellikle asemptomatik hastalık oluştururken, immün sistemi baskılanmış kişilerde ise (organ transplantasyon, AIDS, kanser tedavisi gören hastalar) ciddi klinik tablolara hatta ölüme neden olabilmektedir. Hamilelik sırasında bulaşta ise yeni doğanlarda konjenital anomalilere veya düşüklere neden olabilmektedir. Bu sebeplerden dolayı *T. gondii*'ye karşı geliştirilecek aşı enfeksiyondan korunmak için büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada *T. gondii*'ye karşı multivalan rekombinant protein aşısı geliştirilmesi amaçlanmıştır.

**MATERYAL ve METOD:** Çalışma grubumuz tarafından protein mikroarray taraması ile belirlenen *T. gondii*'ye ait antijenik proteinler arasından 49 tanesi aşı geliştirmek amaçlı seçilmiştir. 49 aşı adayı protein küçük çaplı ekspresyon ve saflaştırma özelliklerine göre analiz edilmiştir. Analiz sonucunda altı protein aşı adayı olarak seçilmiş ve ilk kez 6-Valantlı adjuvante rekombinant protein aşı formülasyonu geliştirilmiştir [6-Valant (+) Montanide]. Fareler üç hafta aryla iki kez aşılanmış ve daha sonra uyarılan humoral immün yanıt Western blot ve Rec-ELISA yöntemleriyle hücresel immün yanıt ise flow sitometri ve sitokin ELISA ile belirlenmiştir. Aşılanan fareler *T. gondii* Ankara suşu takizoiti ile intraperitoneal yoldan ölümcül dozda enfekte edilerek oluşturulan korunma belirlenmiştir.

**SONUÇ:** Aşılama sonrası 6-Valant (+) Montanide aşısı kontrollere göre kuvvetli total IgG yanıtı uyarmıştır ( $P<0,0001$ ). IgG1 ve IgG2a yanıtı incelendiğinde polarizasyonun belirgin şekilde  $T_H1$  yönüne doğru olduğu belirlenmiştir ( $P<0,001$ ). IFN- $\gamma$  salgılayan CD4 T-Yardımcı lenfositleri ile IFN- $\gamma$  salgılayan CD8 T-Sitotoksik lenfosit oranlarının kontrollere göre sırasıyla 1,45-2 ve 1,6-2 kat arasında arttığı saptanmıştır. Ayrıca lenfositlerin hücre dışına salgıladığı IFN- $\gamma$  miktarları incelendiğinde 6-Valant (+) Montanide aşısının kontrollere göre belirgin şekilde daha fazla olduğu ( $P<0,001$ ) saptanmıştır. Bu sonuçlar 6-Valant (+) Montanide aşısının güçlü koruyucu  $T_H1$  immün yanıt oluşturduğunu göstermektedir. Aşılanan farelerin yaşam süresininin  $8,38\pm 2,13$  güne çıkartıldığı ve kontrollere göre belirgin şekilde yüksek olduğu saptanmıştır ( $P<0,01$ ).

**TARTIŞMA:** Bu çalışmada protein mikroarray tarama ile seçilmiş 49 aşı adayı olabilecek antijenik protein içinden 6 tanesi seçilmiş ve ilk defa 6-Valantlı rekombinant protein aşısı geliştirilmiştir. Adjuvante 6-Valantlı rekombinant protein aşısının kuvvetli humoral ve hücresel immun yanıt uyardığı ve lümül toksoplazmozise karşı korunma zamanını uzattığı belirlenmiştir.

**TEŞEKKÜRLER:** Bu proje TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (Proje no: SBAG 110S200)

## Poster Konusu: Veteriner aşılar

P-12

### Türkiye’de Kullanılan BVDV Aşılarının Yerel Suşlara Karşı Oluşturduğu Bağışıklık Düzeyleri

Gizem Alpay, Kadir Yeşilbağ

Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı, Bursa  
Email: kyesilbag@uludag.edu.tr

**GİRİŞ VE AMAÇ:** Bovine viral diarrhoea virus (BVDV) tüm dünyada ve ülkemizde yaygın olarak görülen bir etkenidir. BVDV enfeksiyonlarıyla mücadelede; persiste enfekte hayvanların eliminasyonu ve aşılama uygulamalarından yararlanılmaktadır. BVDV genetik alt gruplarının bölgesel dağılımları ve alt gruplar arasındaki çapraz bağışıklık farklılıkları aşılama ile sağlanan korumayı etkilemektedir. Bu çalışmada Türkiye’de kullanılan BVDV aşılarının yerel suşlara karşı oluşturduğu humoral yanıt düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

**MATERYAL ve METOD:** Ülkemizde satışa sunulan 3 adet inaktif aşı (1.aşı: BVDV-1a/monovalan; 2.aşı: BVDV -1a ve BVDV-2/polivalan; 3.aşı: BVDV-1a/ polivalan) BVDV antikor ve antijenleri yönünden negatif olan sığırlara 4x5 deney düzeninde uygulandı. Tamamı ithal olan aşılarla yapılan immunizasyonlar üretici firmaların önerdikleri şekilde 2 doz kullanılarak gerçekleştirildi. Tüm hayvanlardan 15 gün ara ile 6 defa serum örneği alındı. Toplam 20 hayvana ait tüm serum örnekleri Türkiye’de varlığı belirlenen 7 adet BVDV-1 (BVDV-1a,b,d,f,h,i,r) ve 1 adet BVDV-2 (BVDV-2a) alt grubunda yer alan toplam 11 virus suşuna karşı nötralizasyon immunoperoksidaz testi (N-PLA) ile serolojik olarak incelendi.

**SONUÇ:** Nötralizan antikor titre değerlerinin geometrik ortalamaları kıyaslandığında; BVDV-1a ile hazırlanmış monovalan aşının (1.aşı) bu çalışmada test edilen tüm BVDV alt gruplarına karşı diğer aşılarla kıyasla daha yüksek antikor titresini sağladığı görüldü. Diğer iki aşının kullanımıyla BVDV-1b alt grubuna karşı gelişen antikor yanıtının koruyucu titrenin altında olduğu belirlendi. Her üç aşı ile BVDV-1d ve BVDV-1r suşlarına karşı gelişen yanıtlarda önerilen koruyucu antikor titre değerlerinden düşük değerlerle karşılaşabileceği görüldü. Türkiye’de en yaygın alt grup olduğu gösterilen BVDV-1/ alt grubuna karşı her üç aşı ile yüksek antikor yanıt elde edildi. Türkiye’den izole edilen BVDV-2 izolatına karşı ise tüm aşıların düşük bağışıklık yanıtı geliştirdiği görüldü.

**TARTIŞMA:** Kullanılan ticari aşıların Türkiye’de görülen BVDV alt gruplarının bir bölümüne karşı düşük nötralizan antikor yanıtı oluşturması ve test edilen her üç aşı ile BVDV-2 Türkiye izolatına karşı düşük antikor yanıtının görülmesi ithal aşıların koruyuculuğu konusunda tereddütler oluşturmaktadır.

**TEŞEKKÜRLER:** Bu proje UÜ-BAP (Proje no: V-2010-42) ve TÜBİTAK tarafından (Proje no: 109 O 762) desteklenmiştir.

## Poster Konusu: Diğer aşilar (immünolojik, nörolojik v.b. hastalıklara karşı)

P-13

### Karbohidrat Tabanlı Aşilar: Aşilamaya Yeni Bir Yaklaşım

Seçkin Soya

Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, Bornova/İzmir, 35040, Türkiye

Email: seckin\_soya@yahoo.com

Glikokonjugatlarının biyolojik süreçlerde oynadığı çok sayıdaki rol, hem normal hem de hastalıklı durumlarda moleküler etkileşimlerin doğasını belirlemede büyük ilgi uyandırmaktadır. Aşilamaya karşı immun yanıtın daha spesifik ve kuvvetli olmasının sağlanması bu tür etkileşimlerin belirlenmesinin temelinde yatmaktadır. Atenüe, inaktive, toksoid ve proteinik yapıdaki aşiların yanı sıra, son yıllarda polisakkarit ve glikokonjugat aşiları geliştirilmeye başlanmıştır. Polisakkarit aşiları, T hücre bağımsız immun yanıtı teşvit etmekte ve bu sebeple güçlü ve devamlı bir immun yanıt oluşturmada eksik kalmaktadır. Glikokonjugat aşiları ise, T hücre bağımlı immun yanıt oluşturarak polisakkarit spesifik B hücrelerini aktive etmekte ve antijen spesifik IgG tip antikor oluşturan B hücrelerini ve bellek hücrelerini aktive ederek etkili bir immun yanıt oluşturmaktadır.

Karbohidratların yapılarındaki heterojenlik, örneklerin biyolojik kaynaklardan saf ve yeterli miktarlarda izolasyonunun yapılmasında son derece zorluk çıkarmaktadır. Kimyasal sentez, biyolojik araştırmalar için saf ve yapısal olarak tanımlanabilen oligosakkaritler üretmek için avantajlar sunmaktadır. Glikokonjugat aşilarının temelini; bir protein taşıyıcısı, antijenik karbohidrat yapıları ve bu yapıları protein taşıyıcısına bağlayan bir sentetik bağlayıcı oluşturmaktadır. Bu aşı bileşenlerini analiz etmek için çeşitli metotlar geliştirilmiştir. Antijenik oligosakkarit yapılarını NMR, LC-MS ve kromatografik vb., taşıyıcı proteinleri kütle spektrometresi, jel elektroforezi ve izoelektrik fokuslama vb. metotlarla analiz etmek mümkündür. Günümüze kadar büyük ilaç şirketlerinin de aralarında bulunduğu 11 firma tarafından 18 glikokonjugat aşısı lisanslanmış ve bu aşilar *H. influenzae* tip b, Meningokok, Pneumokok spesifiktir. Kanser, sıtma, candidiasis, AIDS vb. hastalıklara karşı denemeler halen devam etmektedir.

Sonuç olarak glikokonjugat aşiları, yeni geliştirilecek aşilar için çok yönlü temeller sağlamakta ve geliştirilen sentetik yaklaşımlarla aşı geliştirilmesinde yeni bir çağ başlatmıştır. Spesifik bakteri enfeksiyonlarına karşı eski yöntemlerle geliştirilmiş aşilar, yeni doğanlarda ve çocuklarda düşük etkili ve kısa zamanlı koruma sağlarken, glikokonjugat aşiları çok çeşitli hastalıklara ve patojenlere karşı insanlarda başarılı bir şekilde koruma sağlamaktadır. Glikokonjugat aşilarının yeni geliştirilecek olan sentez ve

analiz metotlarıyla çok daha çeşitli ve efektif aşı geliştirilmesine ışık tutacağı düşünülmektedir.

#### **Kaynaklar**

- N. Ravenscroft, P. Costantino, P. Talaga, R. Rodriguez and W. Egan, 2015, Chapter 8: Glycoconjugate Vaccines, p: 301-381, *Vaccine Analysis: Strategies, Principles, and Control*, Eds. B. K. Nunnally, V. E. Turula, R. D. Sitrin, *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*.
- G. M. Doshi, P. P. Shanbhag, G. V. Aggarwal, M. D. Shahare and E. A. Martis, 2011, Carbohydrate Vaccines - A burgeoning field of Glycomics, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 01(02): 17-22.
- R. D. Astronomo and D. R. Burton, 2010, Carbohydrate vaccines: developing sweet solutions to sticky situations?, *Nature Reviews - Drug Discovery*, 9: 308-324
- S. F. Slovin, S. J. Keding and G. Ragupathi, 2005, Carbohydrate vaccines as immunotherapy for cancer, *Immunology and Cell Biology*, 83: 418-428.

## Poster Konusu: Aşı immunolojisi

P-14

### Kızamık Aşuları Potens Değerlendirmesinde Gerçek Zamanlı Hücre Analiz Sistemleri (xCELLigence Teknolojisi) ile Standart Metodun (CCID50) Karşılaştırılması

Filiz Şengün, Hanife Ebru Sarpay, Mehmet Kürşat Derici, Muhammet Ali Oruç

Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Analiz Kontrol Laboratuvarları Dairesi Başkanlığı,  
Tıbbi Biyolojik Ürünler Laboratuvarları, Sıhhiye/Ankara, 06100, Türkiye  
Email: filiz.sengun@titck.gov.tr

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Kızamık(Measles) aşısı, ülkemizde uygulanan “Ulusal Aşı Programı” içinde önemli yer tutan bir antijendir. Laboratuvarımızdaki aşı kalite kontrol çalışmalarında aşının fizikokimyasal parametreleri, sterilitesi yanısıra immunité gücünü gösteren identite, termostabilite ve potens testleri bulunmaktadır. Kızamık aşısı potens analizi, Dünya Sağlık Örgütü ve Avrupa Farmokopesinde standart metod olan “% 50 Hücre Kültürü Enfekte Doz Metodu” (CCID50) ile çalışılmakta olup sonuçlar görsel olarak yorumlandığından ileri eğitim ve tecrübe gerektirmektedir. Bu nedenle yöntemin, doğruluk, tekrarlanabilirlik ve kesinlik kriterleri ortaya konmuş alternatif bir sistem ile değiştirilebilmesi amaçlandı. Bu kapsamda Kızamık aşı virüsü kullanılarak vero hücrelerinde Gerçek Zamanlı Hücre Analiz Sistemi(xCELLigence cihazı) ile CCID50 yöntemi karşılaştırılmıştır.

**MATERYAL ve METOD;** XCELLigence sistemleri, monolayer tip hücrelerin sayısını, morfolojisini ya da yüzeye yapışma durumunu empedans’a bağlı olarak ölçen cihazlardır. Cihaz üzerinde kullanılan özel platelerin (E-plate) tabanı altın mikroelektrotlarla kaplıdır. Hücrelerin bu elektrotlar üzerine yapışması elektrot ve medyum arasındaki iyonik ortamda değişim yaratmakta ve empedansta artışa neden olmaktadır. Hücre adhezyonunda ya da yayılımında meydana gelen bir değişim de empedans değerlerini değiştirmektedir. Böylece, CI (Cell Index) değeri olarak gösterilen empedans ölçümü; hücre canlılığını, sayısını, morfolojisini ve adhezyon durumunu gösteren bir değer olmaktadır.

CCID50 metodu, virüs ile enfekte olan hücrelerdeki sitopatik etkinin gözlenmesine ve sayılmasına dayanan bir metoddur. İnoküle edilen hücre kültürlerinin %50’sinde sitopatik etki oluşturacak virüs miktarını belirlemek için kullanılır. Virüsün seri dilüsyonları 96 kuyucuklu pleytlere dağıtılır ve hücre kültürleri ile inkübasyona bırakılır. İnkübasyondan sonra her virüs dilüsyonu için enfekte olmuş hücreler (sitopatojenik etki-CPE) mikroskopta gözlemlenir ve kaydedilir. CPE’ler % matematiksel formüllerle CCID50 olarak hesaplanır. Çalışmamızda bu iki yöntem, aynı ürün için eşzamanlı olarak çalışılarak sonuçları istatistiksel olarak karşılaştırıldı.



**SONUÇ;** Elde edilen erken veriler CI ve CCID50 sonuçlarının bazı faktörler nedeniyle farklılaştığı gözlenmektedir.

**TARTIŞMA;** Standart metodun(CCID50), CI ile karşılaştırılması için, bu iki metodun paralel olarak daha çok sayıda ve farklı deney ortamında test edilmesi gerektiğini düşündürmektedir.

**TEŞEKKÜRLER:** Bu çalışma Elips Sağlık Ürünleri İthalat ve İhracat Ltd. Şti. tarafından desteklenmiştir.

## **İnfluenza (Mevsimsel Grip) Aşılarında SRID Potens Testi için Metod Validasyonu Çalışması**

Mehmet Alkan, Sevilay Mekik, Mehmet Kürşat Derici, Muhammet Ali Oruç

Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Analiz Kontrol Laboratuvarları Dairesi Başkanlığı,  
Tıbbi Biyolojik Ürünler Laboratuvarları, Sıhhiye/Ankara, 06100, Türkiye  
Email: mehmet.alkan@titck.gov.tr

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Grip (İnfluenza) hastalığı solunum yoluyla bulaşan, bölgesel ve küresel çapta salgınlara ve kitlesel ölümlere yol açan önemli bir toplum sağlığı sorunudur. Zarflı bir RNA virüsü olan influenzanın A, B ve C olmak üzere üç ana tipi ve birçok alt tipi mevcuttur. Virusun yüzeyinde hemagglütinin (H) ve nöraminidaz (N) aktivitesine sahip antijenik glikoprotein yapılar bulunur. İnfluenza aşısı içeriği her yıl Dünya Sağlık Örgütü (WHO) önerileri dikkate alınarak sonraki yıl görülme olasılığı en yüksek olan suşlara yönelik olarak hazırlanmaktadır. Trivalan aşılar iki A suşu ve bir B suşuna karşı koruyucu iken, kuadrivalan aşılar ek bir B suşuna karşı da koruyucudur.

**MATERYAL ve METOD:** İnfluenza aşısının potens miktarı tek radyal diffüzyon (SRID) yöntemiyle nicel olarak tespit edilmektedir. Çalışmamızda, SRID test yönteminin TS EN ISO/IEC 17025 akreditasyon süreci ve metod validasyonu esas alınmıştır. Temel kantitatif immundiffüzyon tekniği olarak bilinen SRID yönteminde agaroz jel içindeki antiserum ve antijen arasındaki etkileşimden yararlanılır. Test ürünü ile referans aşı antijeni, antiserum ile etkileşince ortaya çıkan presipitasyon zonları, boyama sonrası net bir şekilde görülür. Test, referans ve numune eğrilerinin regresyon katsayısının >0.95 olması kaydıyla geçerlidir. Numune için bulunan sonuç düşük ve yüksek limit sınırları % 80 -125 aralığında olmalıdır.

**SONUÇ:** Üç haftalık test süresi sonucuna testin validasyonu ve presipitasyon zonlarının çaplarına bağlı olarak geçerlilik kriterleri başarı ile sağlanmıştır. Regresyon katsayısının >0.95'in üzerinde olduğu belirlenmiş, numune potens değerinin % 80 -125 aralığında olduğu görülmüştür. Bu testin metod validasyonu amacıyla, iki analist tarafından altı farklı günde ve her bir gün içinde ikişer çalışma yapılmıştır. %RSD (Bağıl Standart Sapma), kesinlik, tekrarlanabilirlik, ortalama kesinlik (farklı günlerde farklı analistlerin çalışmaları) ve tekrar üretilebilirlik (farklı laboratuvarlar arası karşılaştırılmalı test yapılması) hesaplanmıştır.

**TARTIŞMA:** Analizlerin, kalite sistemi ile (17025) standardize hale getirilmesi, laboratuvarın sonuç güvenirliliği ve doğruluğunun sağlanması açısından önemlidir.

## Difteri Aşısı Potens Testinin CCM (Cell Culture Method) Metodu İle Tespit Edilmesi

Hakan Büzkaya, Nüvide Doğan, Fahri Mercan, Dönsel Çelik, Mehmet Kürşat Derici, Muhammet Ali Oruç

Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Analiz ve Kontrol Laboratuvarları Dairesi Başkanlığı, Tıbbi Biyolojik Ürünler Birimi Sıhhiye/ Ankara, 06100, Türkiye  
Email: hakan.buzkaya@titck.gov.tr

**GİRİŞ VE AMAÇ:** *Corynebacterium Diphtheria*, difteri hastalığının etkenidir. Bu hastalık halk arasında kuşpalazı diye bilinir. *C.diphtheria* sporsuz, kapsülsüz, hareketsiz pleomorfik gram pozitif basildir. Bakterinin oluşturduğu ekzotoksin hastalığın klinik belirtilerinden sorumludur. Boğaz ağrısı, tonsil, farinks ve larinks kaplayan membranların varlığı ile karakterize olan difteride, hastalığın sonuçlarından mikroorganizmanın salgıladığı ekzotoksin sorumludur. Aşı ile önlenilebilir bir hastalık olmasına rağmen, gelişmekte olan ülkelerde aşılama programının yetersizliği ve ülkeler arası seyahatler nedeniyle halen yaygınlığını ve önemini sürdürmektedir. Bu çalışmada WHO ve Avrupa Farmakopesinin önerdiği test yöntemleri arasında bulunan potens testlerinden serolojik/vero hücresi test yöntemi uygulanmıştır.

**MATERYAL VE METOD:** Bu metodda difteri aşılarının relatif potensi, referans difteri toksoid aşısı ile numune difteri toksoid aşısının karşılaştırmalı olarak saptanmıştır. Bu yöntemde beş haftalık dişi fare (18-22 gr) kullanılmıştır. Referans difteri toksoid aşısının ve numune difteri toksoid aşısının iki katlı dilüsyonları hazırlanmış ve 0.5 ml/s.c. olarak immünize edilmiştir. Beş haftalık immünizasyon periyodundan sonra deney hayvanlarından kan alınmıştır. Farelerde oluşan difteri antikorları belirli oranda difteri toksiniyle minimum bir saat nötrale edilmiş ve difteri toksinine karşı duyarlı vero hücre ilavesiyle ortamda kalan difteri toksinin metabolik inhibisyonu sonucunda oluşan hücre poliferasyonu ve dejenerasyonu değerlendirilmiştir. Değerlendirme sonucunda test edilecek aşının aktivitesinin standart aşı ile istatistiki olarak karşılaştırılmış ve numunenin relatif potensi hesaplanmıştır.

**SONUÇ:** Bu metod;15 Ekim 1978 tarihinde, Birleşmiş Milletler Eğitim, Bilim ve Kültür Örgütü (UNESCO) Merkezi Paris'te Hayvan Hakları Evrensel Beyannamesine göre 3R (refah-azaltma-yerine koyma) kuralına göre toksin uygulaması deney hayvanı üzerinde uygulanmadığından deney hayvanı refanı artırmaktadır. Metod hassasiyeti 0.01IU/ml (kısmen koruma sağlayan en düşük Antitoksin düzeyi) düzeyindedir. Metod serolojik test avantajlarını da taşımaktadır (kalitatif ve kantitatif data, serum örneklerinin saklanabiliyor olması, tutarlılığın izlenmesi, materyal değişimi, serolojik kombinasyon).

**TARTIŞMA:** Bu metod insan serumu difteri antitoksin düzeyini belirlemede de kullanılmaktadır. ELISA metodu ile karşılaştırıldığında antitoksin düzeylerinin saptanmasında ELISA metodunun saptayamadığı alt limit değerleri saptamaktadır.

## Poster Konusu: Aşı çalışmalarında kullanılan hayvan modelleri

P-17

### Albino Kobaylarda İnfeksiyöz Pankreatik Nekrozis Virusuna Karşı Antiserum Üretimi

Kemal Pekmez<sup>1</sup>, Gülnur Kalaycı<sup>1</sup>, Esin Hameş<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü Viroloji Bölümü, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyomühendislik Bölümü, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye  
Email: kemalpekmez07@hotmail.com

**GİRİŞ ve AMAÇ:** İnfeksiyöz pankreatik nekrozis (IPN), alabalıklarda yüksek mortalite ile seyreden, önemli ekonomik kayıplara neden olan viral bir hastalık olup, ülkemizde yaygın olarak görülmektedir. Hastalığın teşhisinde çeşitli metotlar (IFAT, ELISA, RT-PCR, Real Time RT-PCR) kullanılmaktadır. Etken virüs persiste enfeksiyona yol açması nedeniyle hücre kültüründe virus izolasyonunu takiben identifikasyon testleri, uluslararası standart yöntem olarak kullanılmaktadır. Söz konusu yöntemler ile hastalığın teşhisi en az 24-48 saat ve donanımlı laboratuvarlara ihtiyaç duyulmaktadır. Klinik enfekte veya virüs yoğunluğu yüksek balıklarda laboratuvar tanısının çok daha hızlı yapılabilmesi hastalıkla mücadelede başarıyı arttıracaktır. Mücadelede bir başka önemli konu da aşılama. Halen klasik aşuların iyileştirilmesinin yanında subunit aşular ya da DNA aşuları gibi biyoteknolojik ürünler de denenmektedir. Bu çalışmada, IPN enfeksiyonunun tanısında kullanılmak üzere koagülünasyon testinin geliştirilmesi kapsamında IPNV Spjarup (Sp) ve VR299 serotiplerine karşı hayvan modeli olarak albino kobaylarda poliklonal antiserum üretimi gerçekleştirilmiştir.

**MATERYAL ve METOD:** Referans Sp ve VR299 serotipleri Bluegill Fry (BF-2) hücre kültüründe üretilmiş, doku kültürü infektif doz 50 (DKID50) belirlenmiş, saflaştırılmış ve albino kobayların bağışıklanmasında kullanılmıştır. Kobaylarından alınan kanların serumları alınarak inaktivasyonu yapılmış, serum nötralizasyon testi (SNT) ile SN50 değerleri ve serotipler arası çapraz reaksiyonlar belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar literatürde bildirilen değerlerle karşılaştırılmıştır.

**SONUÇ:** Elde edilen Sp ve VR299 antiserumlarının SNT ile Sp serotipinin Sp ve VR299 antiserumları ile nötralizasyonu sonucunda SN50 değerleri sırasıyla 1/38459 ve 1/707, VR299 serotipinin VR299 ve Sp antiserumları ile nötralizasyonu sonucunda SN50 değerleri ise sırasıyla 1/32359, ve 1/595 bulunmuştur.

**TARTIŞMA:** Bu çalışmada IPNV'nin Sp ve VR299 serotiplerine karşı albino kobaylarda poliklonal antiserum elde edilmiştir. Elde edilen antiserumların SN50 değerleri diğer çalışmalar ile karşılaştırıldığı zaman değerlerin daha düşük olduğu görülmektedir. Bununla birlikte üretilen antiserumların serotipler arası vermiş olduğu çapraz

reaksiyonların da çok daha düşük olduğu saptanmıştır. Bulguların, koaglitünasyon tanı kiti oluşturma çalışmalarının yanında mevcut ve geliştirilmesi planlanan IPNV aşılarının etkinliklerinin deney hayvanlarında belirlenmesi çalışmalarında da yardımcı olabileceğini dűřündürmektedir.

**TEŐEKKŐRLER:** Bu proje Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlıđı, Tarımsal Arařtırmalar ve Politikalar Genel Műdűrlűđű tarafından desteklenmektedir. (Proje no: TAGEM/HSGYAD /14/A11/P03/50).

## BCG ve Acellular Boğmaca Aşılarının Kalite Kontrol Testleri

F. Fulya Pirlepe Katılı, Aysun Koca, Mehmet Kürşat Derici, Muhammet Ali Oruç

Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Analiz ve Kontrol Laboratuvarları Dairesi Başkanlığı, Tıbbi Biyolojik Ürünler Laboratuvarları, Sıhhiye/Ankara, 06100, Türkiye  
Email: fulya.katili@titck.gov.tr

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Bulaşıcı hastalıklara karşı savaşta aşılar önemli bir rol oynamaktadır. Aşı üretiminde kullanılan materyaller genellikle patojen bakteri ve virüslerdir. Aşılar başlıca canlı-atenüe, inaktive, toxoid ve rekombinant aşılar olarak farklı üretim prosedürlerine sahiptir. Her ürün mümkün olan en üst düzeyde güvenilir immünolojik potense sahip olmalıdır. Bu nedenle bir biyolojik materyal olan aşılardan hem üretimi sürecinde hem de son ürün düzeyinde kalite kontrolleri gereklidir. Canlı-atenüe bir aşının son ürün kalite kontrolü, inaktive bir aşının kalite kontrolü ile temelde benzerlik göstermekle birlikte biyolojik testler bakımından farklı prosedürleri içermektedir. Bu kapsamda laboratuvarımıza gelen iki farklı bakteri aşısında uygulanan, iki farklı potens testinin metodolojik farklılıklarını ortaya koymayı amaçladık.

**MATERYAL ve METOD:** Bakteriye kökenli canlı-atenüe bir aşı olan BCG (*Mycobacterium bovis*) aşısı ile inaktive bir aşı olan Acellular Boğmaca (*Bordetella pertussis*) aşısı kalite kontrol test prosedürleri farklılık gösterir. Bu ürünlerin laboratuvarımızdaki kalite kontrol testleri, in-vivo ve in-vitro yöntemler ile uluslararası yasal düzenlemeler doğrultusunda final ürün düzeyinde gerçekleştirilir. Kontrol testlerinin bir bölümü ise in-vivo olarak başlatılıp in-vitro olarak sonuçlandırılır. İn-vivo çalışmalarda deney hayvanı olarak CD-1 tipi fareler kullanılmaktadır. İn-vitro çalışmalarda ise katı vasat kullanılarak CFU hesaplaması yapılmakta, aşının immünojenite testi ise ELISA metoduyla fare serumunda antikor düzeylerinin ölçümü ile yapılmaktadır.

**SONUÇ:** Çalışmamızda, laboratuvarımıza kalite kontrol amacı ile gelen BCG ve Boğmaca aşılarının final ürünlerinde yapılan kalite kontrol testleri ve son beş (5) yılı kapsayan seri analizleri sunulmaktadır.

**TARTIŞMA:** Aşılarında seri bazında yapılan kalite kontrol çalışmalarına bağlı olarak yapılan trend analizleri, aşının kalitesi için olası risklerin saptanmasında ve önlemlerin alınmasında yardımcı olmaktadır.

## Poster Konusu: Vektör, adjuvant ve immunomodölatörler

P-19

### Hibridoma Teknolojisine Dayalı *L.tropica*'ya Karşı Poliklonal Antikor Üretilmesinde Farklı Adjuvantların Etkinliğinin İncelenmesi

Aslı Pınar Zorba, Gülnaz Yıldırım Köken, Melahat Bağirova, Adil Allahverdiyev

Yıldız Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, Hücre Kültürü ve Doku Mühendisliği Laboratuvarı, Esenler/İstanbul, 341220 Türkiye

Email: aslipinarzorba@gmail.com

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Hibridoma teknolojisine dayalı olarak antikorların üretilmesi, tanı kitlerinin geliştirilmesinde, hastalıkların tedavisinde, aşılamada ve izole edilmiş antijenlerin saflaştırılmasında oldukça önemlidir. Çeşitli enfeksiyonlara karşı poliklonal antikor geliştirilmesine dayalı çalışmalar yürütülse de, dünyanın ve ülkemizin ciddi halk sağlığı problemlerinden biri olan Leishmaniasis'e karşı bu tür çalışmalar oldukça yetersizdir. Bu alandaki çalışmaların az olmasının esas nedenleri, zahmetli, zaman alıcı olması ve yüksek sorumluluk gerektirmesidir. Diğer yandan, hibridoma oluşturulmasında deney hayvanları üzerinde uygulanan adjuvantların az sayıda ve toksik olması, beklenen immün yanıtın yeterli düzeyde olmaması bu tür çalışmaların sayısını sınırlandırmaktadır. Bu çalışma doğrultusunda, FDA onaylı Polioksidonyum'un (PO) hibridoma hücrelerinin antikor üretmesindeki etkinliği, günümüzde yaygın olarak kullanılan FREUND adjuvantı ile kıyaslı olarak incelenmiştir.

**MATERYAL ve METOD:** Kutanöz Leishmaniasis'in etkeni *L.tropica* kültüründen elde edilen parazitlerden dondurma çözme yöntemi ile antijen hazırlandı. PO ve FREUND adjuvantı ile karıştırılarak 6-8 haftalık Balb-c farelere intraperitoneal olarak inokule edildi. 3., 5. ve 7. immünizasyon sonrası farelerden elde edilen serumlarda antikor oluşumu ELISA yöntemi ile incelendi. Serumdaki antikor düzeyi istenen düzeye ulaştığında fareler servikal dislokasyon yöntemiyle öldürüldü ve dalaktan B-lenfosit izole edildi. Buna paralel olarak, Azoguanine-8'e maruz kalan myeloma (P3-X63-Ag8.65) hücreleri kültüre edildi. Hücrelerin füzyonu Polietilen glikol (PEG) ile gerçekleştirildi. Sonraki aşamalarda protokole uygun olarak seçici besiyerleri içerisinde kültüre edilen hibridomaların poliklonal antikor üretilip üretilmediği, belli aralıklarda ELISA yöntemi ile incelendi.

**SONUÇ:** FREUND adjuvantı ile immünize edilmiş farelerde, 8. immünizasyon sonrasında, PO ile immünize edilmiş farelerde ise 9. immünizasyon sonucunda antikor düzeyinin kontrole göre yaklaşık 5.5 kat arttığı saptandı. Her iki gruptan elde edilen hibridoma kültürünün 10. ve 20. günlerinde *L.tropica*'ya karşı poliklonal antikor oluşumu gözlemlendi. Ayrıca PO ile immünize edilmiş farelerden oluşturulan hibridomaların, sadece parazitlere karşı değil; aynı zamanda PO'nun kendine karşı da yanıt oluşturduğu tespit edildi.

**TARTIŞMA:** Freund adjuvantının toksik olması nedeniyle alternatif olarak yeni adjuvanların geliştirilmesi oldukça önemlidir. Bu çalışmada ilk kez olarak PO'nun hibridoma teknolojisine dayalı poliklonal antikor üretiminde potansiyel bir aday olduğu gösterildi. Freund adjuvantından farklı olarak, PO kullanılarak oluşturulan hibridomaların ürettikleri antikorların, hem *L.tropica* parazitlerine hem de PO'a karşı immün yanıt oluşturmaları, bu antikorların spesifitesinin tayin edilmesinin gerektiğini ortaya koymaktadır. Buna göre de çalışmanın daha sonraki aşamasında alt klonlamaya geçilerek yalnızca *L.tropica*'ya özgü uygun antikorların seçilimi yapılacaktır. Ayrıca, PO'nun FDA onaylı olması nedeniyle, geliştirilen hibridomaların ürettikleri antikorların sadece *L.tropicaya* karşı immün yanıt oluşturduğunun belirlenmesi durumunda, monoklonal antikor üretiminde FREUND'a göre daha uygun bir adjuvant olduğu düşünülebilecektir.

**TEŞEKKÜRLER:** Bu çalışma T.C. Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı tarafından desteklenmiştir. (Proje no: 0254.STZ.2013-2). Ayrıca myeloma hücre hattını tarafımıza sağlayan Ege Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. S. İsmet Deliloğlu GÜRHAN'a ve Arş. Gör. Mehmet Özgün ÖZEN'e teşekkür ederiz.



## Nanopartikül Temelli DNA Aşısı Taşınım Sistemleri

Pelin Sağlam Metiner<sup>1,2</sup>, Müge Anıl<sup>1,2</sup>, Mert Döşkaya<sup>3</sup>, Yüksel Gürüz<sup>3</sup>,  
Sultan Gülçe İz<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Ana Bilim Dalı, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>3</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye  
Email: pelin.metiner@gmail.com

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Aşı geliştirme çalışmalarında nanoteknoloji giderek önem kazanmaktadır. Kompozisyonu, boyutu, şekli ve yüzey özellikleri değişen çok sayıda nanopartikül, hem aşı etkinliğinin artırılması hem de aşının hedeflenmesinde kullanılmaktadır. Nanopartiküllerin hücresel bileşenlere yakın boyutlarda olması, canlı hücreye endositoz ile girişini mümkün kılmaktadır [1]. DNA aşılarının nanopartiküller ile taşınmasının; transfeksiyon etkinliğini ve immünojeniteyi arttırmak, hücresel ve antikor yanıtlarının ikisini de uyarmak, uygulama esnasında özel bir ekipmanlara gereksinim yaratmamak gibi avantajları bulunurken nanopartiküllerin; vücut içerisinde uzun sürede yaratacağı etkilerin henüz bilinmemesi gibi bazı dezavantajları da bulunmaktadır [2].

DNA aşısı taşıyıcısı olarak; kitosan, aljinat, pullulan ve inulin gibi polimerik nanopartiküller, altın, silika temelli ve karbon temelli nanopartiküller gibi inorganik nanopartiküller, nano boyutta organize olabilen posfolipitler olan nano-liposomlar ve enfeksiyöz olmayan- nükleik asidin biyoyumlu kapsid proteini içerisine paketlenmesi ile oluşturulan virüs-benzeri partüküller (VLP) kullanılabilir [3]. Son yıllarda tek kaynaklı nanopartiküllerin işlevlerini arttırmak veya dezavantajlarını gidermek amacıyla kompleks nanopartiküllerin kullanımı söz konusudur. Poli g-glutamik asit/kitosan, poli g-glutamik asit/ polietilenimin, kitosan/tripolifosfat ve polietilenglikol/lipozom nanopartikülleri dikkat çeken DNA taşınım sistemlerindedir [1, 2, 3].

**TARTIŞMA:** Nanopartiküllerin DNA aşılarının taşınmasında sunduğu avantajlar yeni stratejiler açısından gelecek vaat etmektedir. Fakat vücutta uzun dönemde oluşacak sitotoksik etkiler potansiyel bir sorun olarak görülmektedir. Nanopartikül kullanımının nispeten daha kısa bir tarihinin olması insan kullanımında güvenilirlik profilinin henüz anlaşılammış olmasına neden olmaktadır. Bu sebeple, günümüzde bu konuda pek çok çalışma sürdürülmektedir. Bu çalışmalar sonucunda güvenli bir profil gösterilebilir ise bu yeni aşı taşınım sistemlerinin yaygın olarak kullanılacak etkili bir yöntem olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, nanopartikül bazlı DNA aşıları; bu stratejinin hücre transfeksiyon etkinliğini ve immünojeniteyi arttırması ve hedefleme stratejilerine olanak sağlaması sayesinde gelecekte tek doz uygulamalarına ve iğne gerektirmeyen aşı uygulamalarına fırsat tanıyacak bir strateji olarak görülmektedir.

KAYNAKLAR:

1. Treuel, L., Jiang, X., Nienhaus, G.U., 2013, New views on cellular uptake and trafficking of manufactured nanoparticles. *Journal of the Royal Society Interface*, <http://dx.doi.org/10.1098/rsif.2012.0939>
2. Gregory, A. E., Titball R. and Williamson, D., 2013, Vaccine delivery using nanoparticles, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 3(13): 10.3389/fcimb.2013.00013.
3. Zhaoa, L., Seta, A., Wibowoa, N., Zhaoa, C. X., Mitterb, N., Yua, C., Middelberga, A. P. J., 2013, Nanoparticle vaccines, *Vaccine*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.11.069>.

## Poster Konusu: Üretim ve İmalat

P-21

### ***Theileria annulata* ile Enfekte T Lenfositlerin Biyoreaktörde Üretimi**

Duygu Ayyıldız Tamış<sup>1</sup>, Nilay Ünal<sup>2</sup>, S. İsmet Deliloğlu Gürhan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Bornova/İzmir, Türkiye

<sup>2</sup>Dollvet Veteriner Aşı İlaç Biyolojik Madde Üretimi San. ve Tic. A.Ş. Şanlıurfa, Türkiye

Email: duyguayyildiz@gmail.com

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Tropikal theileriosis Türkiye’de en önemli sığır hastalıklarından biridir. Özellikle ithal ve melez sığırlarda neden olduğu mortalite ve ekonomik kayıplar nedeniyle sığır endüstrisi için büyük bir tehlike teşkil etmektedir. Attenüe *Theileria annulata* aşısı, attenüe *Theileria annulata* şizontları ile enfekte lenfoid hücrelerden hazırlanan bir doku kültürü aşısıdır; canlı bir aşıdır. Canlı parazitlerin kullanıldığı aşılar 20 yılı aşkın süredir mevcuttur, ancak kesin olarak etkinliği bulunmasına rağmen büyük ölçeklerde kullanılmamaktadır. Aşı üretimi ve dağıtımındaki altyapı eksiklikleri ve bölgesel parazit farklılıkları bu aşuların kullanımını azaltmaktadır. *T.annulata*’nın şizont evresi lenfosit hücrelerinde form aldığından aşı üretimi çalışmalarında enfekte T-lenfosit hücre hatları kullanılmaktadır. Bu zamana kadar yapılan büyük ölçekli aşı üretimi çalışmaları monolayer kültür şartlarında döner şişe üretim sistemlerinde gerçekleştirilmiştir. Ancak, bu şekilde üretilen aşılarda sadece belirli hacimlerde çalışılabildiğinden ürün verimi azdır ve çok fazla iş gücü gerekmektedir. Bu çalışmada, *T. annulata*’nın büyük ölçekli üretimlerinin yapılabileceği farklı tiplerdeki biyoreaktörlerde süspansiyon kültürüne adapte edilmiş T-lenfosit hücrelerinin üretim optimizasyonlarının gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.

**MATERYAL ve METOD:** *Theileria annulata* ile enfekte T lenfositlerin üretimi için döner şişe, vibrofermentör, karıştırmalı tank biyoreaktör, karıştırmalı ve havalandırılmalı tank biyoreaktörler ve dalgalı-çalkalamalı tek kullanımlık biyoreaktör gibi farklı kültür sistemleri ile çalışılmıştır. Kullanılan üretim sistemleri zaman zaman temel alınarak hücre yoğunlukları açısından karşılaştırılmıştır. Karıştırmalı ve havalandırılmalı tank biyoreaktörde 2 L, vibrofermentör ve dalgalı-çalkalamalı tek kullanımlık biyoreaktör 1-L ve karıştırmalı tank biyoreaktör ise 500-ml hacimde üretimler gerçekleştirilmiştir. Üretimlerde pH, çözülmüş oksijen, havalandırma hızı, sıcaklık ve karıştırma hızı gibi parametreler kontrol edilmiştir. Günlük hücre sayımı ile hücre yoğunluğu değerleri elde edilmiştir.

**SONUÇ:** Hem vibrofermentörde hem de karıştırmalı ve havalandırılmalı tip biyoreaktörde, spinner flaskta ve dalgalı-çalkalamalı tek kullanımlık biyoreaktör yapılan üretime göre daha yüksek canlı hücre konsantrasyonlarına ulaşılmıştır. Ayrıca, karıştırmalı ve havalandırılmalı tip biyoreaktörde, diğer kültür sistemlerine göre hücre canlılığının daha uzun süre korunduğu gözlemlenmiştir.

**TARTIŞMA:** Karıştırmalı tank biyoreaktörde *T. annulata*'nın üretimin veriminin arttırılması için karıştırma hızı, havalandırma hızı, çözünmüş oksijen ve pH gibi parametrelerin optimizasyon çalışmaları yapılabilir.

**TEŞEKKÜRLER:** Bu çalışma Dollvet Veteriner Aşı İlaç Biyolojik Madde Üretimi San. ve Tic. A.Ş. tarafından desteklenmiştir.

## Poster Konusu: Klinik araştırma (Epidemiyolojik çalışmalar, aşı uygulama yolları, aşıların koruyuculuğu ve güvenliği, v.b.)

P-22

### Buzağılarda Solunum Sistemi Viral Hastalıklarına Karşı Optimum Aşılama Zamanının Belirlenmesi

Pelin Tuncer, Kadir Yeşilbağ

Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Görükle/Bursa, 16059, Türkiye  
Email: tuncerp@uludag.edu.tr

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Sığırlarda önemli sürü sağlığı problemlerinden biri olan solunum sistemi hastalık kompleksi içinde yer alan bovine respiratory syncytial virus (BRSV), bovine parainfluenza virus tip 3 (PI-3), bovine herpesvirus 1 (BHV-1), bovine viral diarrhoea virus (BVDV), bovine adenovirus tip 3 (BAV-3) ve bovine coronavirus (BCoV) enfeksiyonları ile mücadele sürü sağlığının devamlılığını sağlayabilmek yanında özellikle ekonomik yönden yetiştirici için önem arz etmektedir. Bu çalışmada, Türkiye koşullarında sözü edilen etkenlere karşı yeni doğan buzağılarda mevcut maternal antikorların gerileme dönemleri ve işletmelerde uygulanması gereken optimum aşılama zamanlarının ortaya konulması hedeflenmiştir.

**MATERYAL ve METOD:** Örneklemeye yapılan işletmeler yönetim politikaları gereği aşı uygulamayan (n=94) ve aşı uygulayan (n=18) şeklinde iki grupta incelendi. İşletmelerde aynı ay içinde doğan buzağılardan yaşamlarının 1., 2., 3., 4., 6., 8., 10. ve 12. aylarında; annelerinden ise 1. ay örnekleme sırasında kan örneği alındı. Aşılanan gruptaki buzağılara 4 aylık yaşta iken BRSV, PI-3, BHV-1, BVDV-1 ve BVDV-2 etkenlerini içeren polivalan aşı uygulandı. Antikor titrelerini belirleyebilmek için 8 defa örneklenen 112 buzağının serum örneklerine serum nötralizasyon testi (SN50) uygulandı.

**SONUÇ:** Aşısız buzağı popülasyonunda BRSV, PI-3, BVDV, BAV-3 ve BCoV'un buzağıları erken yaşta enfekte ettiği ve sürüdeki seronegatif buzağuların yıl boyunca enfeksiyonun sirkülasyonunda rol oynadığı belirlendi. BRSV, PI-3, BVDV, BAV-3'e karşı 3. ayda, BCoV'a karşı ise 4. ayda maternal antikorların kaybolmaya başladığı görülürken, BHV-1'e karşı maternal antikor varlığı tespit edilemedi. Aşılı buzağılarda ise 4. ayda uygulanan polivalan aşı sonrasında antikor titrelerinin hızla azalmaya başladığı belirlendi.

**TARTIŞMA:** Bu çalışmada, maternal antikorların 2. aydan itibaren gerilemeye başladığı, buzağuların yeni enfeksiyonla 4.-8. aylarda karşılaştığı ve enfeksiyonların doğal olarak popülasyonda sirküle olduğu tespit edildi. Elde edilen bu verilere dayanılarak buzağılarda ilk aşılamanın 2.-4. aylar arasında yapılması ve pasif immunitenin aşı üzerinde yapabileceği olumsuz etkiyi en aza indirmek ve daha güçlü bir bağışıklık sağlayabilmek için 1 ay sonra tekrar dozunun uygulanmasının yararlı olacağı değerlendirildi.



# DİZİN

## A

Abamor, E.Ş .....	49,61,63,65
Aksu, H.....	30
Alkan, M.....	74
Allahverdiyev, A.M.....	19, 49,63,65,79
Alpay, G.....	69
Altun, S.....	23
Anıl, M.....	51, 81
Arslan, A.....	22
Arslanhan, A.....	29
Atalay Şahar,E.....	51,53,55,57,67

## B

Bağirova, M .....	49, 61,63,65,79
Büzkaaya, H .....	75

## C

Can H .....	51, 53, 55,57,59,67
Canatan, H.....	29, 30
Christensen, D.....	15

## Ç

Çakır, M.....	30
Çavuşoğlu, D.....	36
Çelik, D.....	75

## D

Dalay, M.C .....	60
Değirmenci Döşkaya, A.....	53,55,57,67
Demirkaya, Ç.....	60
Dennis, V.A.....	15
Derici, M.K.....	41, 72,74,75,78
Deveci, R .....	57, 67
Doğan, N.....	75
Döşkaya, M.....	51,53,55,57,59,67,81
Dursun, S.....	24

## E

Eroğlu, E.....	17
----------------	----

## F

Felgner, P.L .....	13
--------------------	----

## G

Gedik, A.....	25
Gedik, Y.....	25
Gülce İz, S.....	32, 51,53,55,57,60,67,81
Gürhan, İ.D.....	83
Gürüz, Y.....	51, 53, 55,57,67,81

## H

Haçarız, O .....	16
Hameş, E.....	76
Hill, A.V.S .....	14

## İ

İskender, B .....	29
İzgi, K .....	29

## K

Kalantari-Dehaghi, M.....	57, 67
Kalaycı, G.....	76
Kaplan, H .....	24
Karaca, B.....	26
Karakavuk, M.....	53, 55
Karlığa, S.....	61
Katılı, F.F.P.....	78
Kaya, S .....	30
Koca, A.....	78
Köken, G.Y.....	49, 61, 79
Kurt, B.....	30

## M

Mekik, S .....	74
Mercan, F.....	75

## O

Oruç, M.A.....	72,74,75,78
----------------	-------------

---

<b>Ö</b>	
Özdarendeli, A.....	18
Özkul, A.....	21
Özyer, M.....	25
Özyılmaz, Ö.A.....	61, 63, 65

---

<b>P</b>	
Pekmez, K.....	76
Pirinççi, D.....	24

---

<b>S</b>	
Sağlam Metiner, P.....	81
Sarpay, H.E.....	72
Sezen, S.....	29, 30
Singh, S.R.....	17
Soya, S.....	70

---

<b>Ş</b>	
Şahar, U.....	59
Şakalar, Ç.....	29, 30
Şenel, S.....	34
Şengün, F.....	72

---

<b>T</b>	
Tamiş, D.A.....	83
Tel, O.Y.....	24
Tiwari, P.M.....	17
Topaç, O.....	42
Topal, O.M.....	38
Tuncer, P.....	85
Turan, A.....	30
Turan, E.....	45

---

<b>Ü</b>	
Ünal, N.....	24, 83

---

<b>Y</b>	
Yeniay, L.....	31
Yeşilbağ, K.....	69, 85
Yılmaz, G.....	61

---

<b>Z</b>	
Zorba, A.P.....	49, 61, 79

---

<b>W</b>	
Waffo, A.B.....	17



## **SPONSORLAR**

## **ORGANİZASYON KOMİTESİ**

### **Onursal Başkan**

Prof. Dr. Candeğer YILMAZ  
Prof. Dr. Mehmet Ali ÖZCEL

### **Kongre Düzenleme Kurulu Başkanı**

Prof. Dr. Adnan Yüksel GÜRÜZ

### **Kongre Düzenleme Kurulu**

Prof. Dr. Adnan Yüksel GÜRÜZ  
Prof. Dr. Saime İsmet GÜRHAN  
Prof. Dr. Selim BADUR  
Prof. Dr. Aykut ÖZDARENDELİ  
Prof. Dr. Ercüment KARASULU  
Prof. Dr. Philip Louis FELGNER  
Prof. Dr. Adrian HILL  
Doç. Dr. Mert DÖŞKAYA  
Doç. Dr. Aysu DEĞİRMECİ DÖŞKAYA  
Yard. Doç. Dr. Sultan GÜLCE İZ  
Dr. Dennis CHRISTENSEN  
Dr. Hüseyin CAN  
Dr. Umut ŞAHAR  
Biyomüh. Müge ANIL  
Moleküler Biyolog Esra ATALAY  
Ar. Gör. Muhammet KARAKAVUK  
Biyomüh. Pelin SAĞLAM METİNER

### **Kongre Sekreterliği**

Doç. Dr. Mert Döşkaya

## **Kongre Bilim Kurulu**

Prof. Dr. Adnan Yüksel GÜRÜZ

Prof. Dr. Saime İsmet GÜRHAN

Prof. Dr. Philip Louis FELGNER

Prof. Dr. Adrian HILL

Prof. Dr. Selim BADUR

Prof. Dr. Aykut ÖZDARENDELİ

Prof. Dr. Ercüment KARASULU

Prof. Dr. Aykut ÖZKUL

Prof. Dr. Rüçhan USLU

Prof. Dr. Esin HAMEŞ

Doç. Dr. Mert DÖŞKAYA

Doç. Dr. Aysu DEĞİRMENCİ DÖŞKAYA

Yrd. Doç. Dr. Sultan GÜLÇE İZ

Dr. Dennis CHRISTENSEN

# İÇİNDEKİLER

Sayfa  
No

<b>Kongre Programı</b>	1
<b>Sözlü Bildiri Özetleri</b>	9
SB-1	13
SB-2	14
SB-3	15
SB-4	16
SB-5	17
SB-6	18
SB-7	19
SB-8	21
SB-9	22
SB-10	23
SB-11	24
SB-12	25
SB-13	26
SB-14	29
SB-15	30
SB-16	31
SB-17	32
SB-18	34
SB-19	36
SB-20	38
SB-21	40
SB-22	41
SB-23	42
SB-24	45
<b>Poster Bildiri Özetleri</b>	47
PB-1	49

PB-2	51
PB-3	53
PB-4	55
PB-5	57
PB-6	59
PB-7	60
PB-8	61
PB-9	63
PB-10	65
PB-11	67
PB-12	69
PB-13	70
PB-14	72
PB-15	74
PB-16	75
PB-17	76
PB-18	78
PB-19	79
PB-20	81
PB-21	83
PB-22	85
<b>Dizin</b>	<b>87</b>
<b>Sponsorlar</b>	<b>91</b>

# ***KONGRE PROGRAMI***

---



<b>29 NİSAN 2015, ÇARŞAMBA</b>		<b>20 Mayıs Amfisi</b>
<b>KAYIT</b>		<b>08:00-09:00</b>
<b>AÇILIŞ</b>	<b>Başlık: <i>Kongre Açılış Konuşması</i></b> <b>Konuşmacı:</b>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Prof. Dr. Candeğer YILMAZ</b> (Ege Üniversitesi Rektörü)</li> <li>• <b>Prof. Dr. Yeşim KIRAZLI</b> (Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanı)</li> <li>• <b>Prof. Dr. A. Yüksel GÜRÜZ</b> (Aşı Bilimi Derneği Başkanı)</li> </ul>	<b>09:00-09:15</b>
	<hr/>	
<b>SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 1</b>	<b>Başkanlar:</b>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Prof. Dr. A. Yüksel GÜRÜZ</b> (Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Aşı Bilimi Derneği)</li> <li>• <b>Doç. Dr. Mert DÖŞKAYA</b> (Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Aşı Bilimi Derneği)</li> </ul>	<b>09:15-10:00</b>
	<b>Oturum Konusu: <i>Aşı Tasarlanması ve Aşı hedefi olan enfeksiyon hastalıkları (Oturum Dili İngilizcedir)</i></b>	
<b>SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 1</b>	<b>Sözlü Bildiri-1: <i>DNA vaccines</i></b> <b>Konuşmacı: Prof. Philip Louis FELGNER</b> (University of California, Irvine Protein Microarray Laboratuvarı)	<b>09:15-09:30</b>
	<b>Sözlü Bildiri-2: <i>Recent progress with malaria vaccines</i></b> <b>Konuşmacı: Prof. Adrian HILL</b> (Oxford Üniversitesi, Jenner Enstitüsü)	<b>09:30-09:45</b>
	<b>Sözlü Bildiri-3: <i>Recent progress towards a novel efficient TB vaccine</i></b> <b>Konuşmacı: Dr. Dennis CHRISTENSEN</b> (Danimarka Statens Serum Enstitüsü, Aşı Araştırma ve Geliştirme Merkezi)	<b>09:45-10:00</b>
<b>KAHVE MOLASI</b>		<b>10:00-10:15</b>



---

**Başkanlar:**

- **Prof. Dr. Ülgen Zeki OK**  
(Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı)
- **Prof. Dr. Aykut ÖZDARENELİ** **10:15-11:15**  
(Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Viroloji Bilim Dalı)

**Oturum Konusu: Aşı Tasarlanması ve Aşı hedefi  
olan enfeksiyon hastalıkları**

---

**Sözlü Bildiri-4: Aşı geliştirilmesinde güncel omiks  
yaklaşımlar**

**Konuşmacı: Dr. Orçun HAÇARIZ** **10:15-10:30**  
(TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi Gen  
Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsü)

---

**SÖZLÜ  
BİLDİRİ  
OTURUMU 2**

**Sözlü Bildiri-5: Respiratory syncytial virüsüne  
karşı RSV-F DNA aşısının geliştirilmesi ve BALB/c  
tipi farelerde immün yanıtın incelenmesi** **10:30-10:45**  
**Konuşmacı: Yard. Doç. Dr. Erdal EROĞLU**  
(Celal Bayar Üniversitesi Mühendislik  
Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü)

---

**Sözlü Bildiri-6: Kırım-Kongo Kanamalı Ateş  
Hastalığına karşı hücre kültür tabanlı inaktif aşı  
geliştirme çalışmaları**

**Konuşmacı: Prof. Dr. Aykut ÖZDARENELİ** **10:45-11:00**  
(Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Viroloji  
Bilim Dalı, Aşı Araştırma ve Geliştirme  
Merkezi)

---

**Sözlü Bildiri-7: Leishmaniasis'e karşı aşı  
geliştirilmesinde ortaya çıkan problemler ve yeni  
yaklaşımlar**

**Konuşmacı: Prof. Dr. Adil ALLAHVERDİYEV** **11:00-11:15**  
(Yıldız Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik  
Bölümü)

---

	<b>Başkanlar:</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Prof. Dr. S. İsmet DELİLOĞLU GÜRHAN</b> (Ege Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü)</li><li>• <b>Vet. Hekim Gökhan ÖZDEMİR</b> (İzmir Veteriner Hekimler Odası)</li></ul>	<b>11:15-12:30</b>
	<b>Oturum Konusu: Veteriner Aşılar</b>	
	<b>Sözlü Bildiri-8: Veteriner aşıları alanında bir biyobenzer örneği: gE ifade etmeyen rekombinant BoHV-1 elde edilmesi</b>	<b>11:15-11:30</b>
	<b>Konuşmacı: Prof. Dr. Aykut ÖZKUL</b> (Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı)	
	<b>Sözlü Bildiri-9: Veteriner aşıları ve kalite kontrol prosedürleri</b>	<b>11:30-11:45</b>
	<b>Konuşmacı: Vet. Hekim Dr. Ahmet ARSLAN</b> (Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü, Veteriner Biyolojik Ürünler Kontrol Bölümü)	
<b>SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 3</b>	<b>Sözlü Bildiri-10: Gökkuşuğu alabalıklarında Yersinia ruckeri'ye karşı serotip 1 ve 2 kombine inaktif aşı geliştirilmesi</b>	<b>11:45-12:00</b>
	<b>Konuşmacı: Prof. Dr. Soner ALTUN</b> (Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim Dalı)	
	<b>Sözlü Bildiri-11: Sığırların trichophytosis hastalığına karşı aşı üretimi</b>	<b>12:00-12:15</b>
	<b>Konuşmacı: Vet. Hekim Nilay ÜNAL</b> (Dollvet Veteriner Aşı İlaç Biyolojik Madde Üretim Tic. ve San. A.Ş.)	
	<b>Sözlü Bildiri-12: Büyükbaş hayvanlarda E. coli ve Cl. perfringens Tip C enfeksiyonlarına karşı antiserum üretimi</b>	<b>12:15-12:30</b>
	<b>Konuşmacı: Biyomüh. Yaprak GEDİK</b> (AtaFen Veteriner Aşı Üretim Tic. ve San. A.Ş.)	
	<b>ÖĞLE ARASI</b>	<b>12:30-13:30</b>

---

**Başkan:**

- **Prof. Dr. Rüçhan USLU**

(Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Onkoloji Bilim Dalı)

**13:30-14:30**

**Oturum Konusu: *Diğer Aşılar (Kanser, nörolojik, immünolojik aşılar)***

---

**Sözlü Bildiri-13: *Akciğer kanserinde yeni terapötik yaklaşımlar: Nedir bu akciğer kanseri aşısı?***

**Konuşmacı: Doç. Dr. Burçak KARACA**

(Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Medikal Onkoloji Bilim Dalı)

**13:30-13:45**

---

**Sözlü Bildiri-14: *Uroplakin 3A proteininden türetilen antijenik peptidin iki farklı adjuvanla immün cevap yanıtlarının karşılaştırılması olarak değerlendirilmesi***

**Konuşmacı: Yard. Doç. Dr. Kenan İZGİ**

(Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı)

**13:45-14:00**

---

**Sözlü Bildiri-15: *Over kanserinde üretilen AMHR2'nin ekstrasellüler bir peptidini hedef alan bir monoklonal antikorun kanser immünterapide kullanılmak üzere üretilmesi***

**Konuşmacı: Doç. Dr. Çağrı ŞAKALAR**

(Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı)

**14:00-14:15**

---

**Sözlü Bildiri-16: *Meme kanserinde aşı modelleri***

**Konuşmacı: Doç. Dr. Levent YENİAY**

(Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı)

**14:15-14:30**

---

**Başkan:**

- **Prof. Dr. Adil ALLAHVERDİYEV**

(Yıldız Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü)

**14:30-15:00**

**Oturum Konusu: *Aşı immünolojisi, vektör, adjuvant immunomodülatörler***

---

**SÖZLÜ  
BİLDİRİ  
OTURUMU 4**

**SÖZLÜ  
BİLDİRİ  
OTURUMU 5**

---

	<b>Sözlü Bildiri-17: DNA aşuları ile uyarılan immün yanıtın artırılması ve moleküler adjuvantlar</b> <b>Konuşmacı: Yard. Doç. Dr. Sultan GÜLÇE İZ</b> (Ege Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü)	<b>14:30-14:45</b>
	<b>Sözlü Bildiri-18: Girişimsel olmayan aşı formülasyonu geliştirilmesi: adjuvanlar/taşıyıcı sistemler</b> <b>Konuşmacı: Prof. Dr. Sevda ŞENEL</b> (Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı)	<b>14:45-15:00</b>
	<b>KAHVE MOLASI</b>	<b>15:00-15:15</b>
<b>POSTER OTURUMU</b>	<b>POSTER SUNUMLARI</b> (Yer: 20 Mayıs Amfisi Fuayesi)	<b>15:15-15:30</b>

---

**Başkanlar:**

• **Dr. Kürşat DERİCİ**

(Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Analiz ve Kontrol Laboratuvarları Dairesi Başkanlığı, Tıbbi Biyolojik Ürünler Laboratuvarları Birim Sorumlusu)

**15:30-16:30**

• **Dr. Osman TOPAÇ**

(Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Aşı ile Önlenbilir Hastalıklar Daire Başkanı)

**Oturum Konusu: Aşı üretimi**

---

**SÖZLÜ  
BİLDİRİ  
OTURUMU 6**

**Sözlü Bildiri-19: Prevenar yerli üretimi süreci ve yerli üretim zorlukları**

**Konuşmacı: Devrim ÇAVUŞOĞLU**

(Pfizer A.Ş. Teknik Genel Müdür)

**15:30-15:45**

---

**Sözlü Bildiri-20: Beşeri aşılarında ülkemizde ki mevcut durum, planlananlar ve yapılanlar**

**Konuşmacı: Dr. O. Mutlu TOPAL**

(Keymen İlaç A.Ş.)

**15:45-16:00**

---

**Sözlü Bildiri-21: Aşı üretiminde geleceğin üretim tesisleri-prosesleri**

**Konuşmacı: Ömer Cem ERDEM**

(Sartonet Seperasyon Teknolojileri Ltd. Şti.)

**16:00-16:15**

---

---

**Sözlü Bildiri-22: Ülkemizde aşı kalite kontrol analizleri ve seri serbest bırakılması**

**Konuşmacı: Dr. Kürşat DERİCİ**

**16:15-16:30**

(Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Analiz ve Kontrol Laboratuvarları Daire Başkanlığı, Tıbbi Biyolojik Ürünler Laboratuvarı)

---

**Başkanlar:**

• **Prof. Dr. Hüsnü PULLUKÇU**

(Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı)

• **Uzm. Dr. Seher MUSAONBAŞIOĞLU**

(Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Bulaşıcı Hastalıklar Kontrol Programları Başkan Yardımcısı)

**16:30-17:00**

**Oturum Konusu: Klinik araştırmalar (Epidemiyolojik çalışmalar, aşı uygulama yolları, aşıların koruyuculuğu ve güvenliği), İmmünizasyon programı, finans ve ekonomi politikaları**

**SÖZLÜ  
BİLDİRİ**

**OTURUMU 7**

---

**Sözlü Bildiri-23: Genişletilmiş bağışıklama programı**

**Konuşmacı: Dr. Osman TOPAÇ**

**16:30-16:45**

(Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Aşı ile Önlenebilir Hastalıklar Daire Başkanı)

---

**Sözlü Bildiri-24: Ulusal aşı kapasitesini geliştirmeye yönelik politikalar**

**Konuşmacı: Dr. Emin TURAN**

**16:45-17:00**

(Sanofi-Pasteur A.Ş.)

---

**GALA YEMEĞİ (Ege Üniversitesi Konukevi)**

**19:30**

<b>30 NİSAN 2015, ÇARŞAMBA</b>	<b>20 Mayıs Amfisi</b>
<b>KAPANIŞ TÖRENİ ve KATILIM BELGELERİNİN TAKDİMİ</b>	<b>08:00-09:00</b>
<b>SOSYAL PROGRAM</b>	<b>09:00-20:00</b>



## ***SÖZLÜ BİLDİRİ ÖZETLERİ***

---





**DNA Vaccines**

Philip L. Felgner

University of California Irvine, School of Medicine, Irvine, CA 92697, USA

Email: pfelgner@uci.edu

Beginning in 1990 a tool 'naked DNA' became available to those involved in vaccine development. It showed great promise for both the improvement of existing vaccines and the development of vaccines against disease targets for which there are so far no effective vaccines. And yet the discovery that naked DNA could be used in vaccination came about more or less by accident, as a result of attempts to use non-replicating bacterial plasmid expression vectors (encoding proteins of interest) for gene therapy. In experiments designed to test the use of cationic liposomes (lipid-based packages) for delivering plasmid DNA into cells, it was found that the 'control' animals, into which naked DNA alone was injected intramuscularly, expressed the highest levels of the transgenic protein. This unexpected discovery suggested a new approach to immune stimulation. If animals could be transfected by injection with DNA, such that the encoded protein was expressed in situ, would immunity specific to this protein (the antigen) result? The answer is yes. In 1993, studies in mice showed that intramuscular injection of plasmid DNA encoding influenza virus antigens generated immune responses from both the humoral system (antibodies and B cells) and the cell-mediated system (cytotoxic T cells); these immune responses were sufficient to protect the animals against a live influenza virus infection. These results set off a flurry of research and development activity leading to the more than 4000 papers on 'DNA vaccines' in the literature today. All of the key developments leading to this productive area of immunology and vaccine research occurred in Dr. Felgner's laboratory. That naked DNA could be expressed in mouse muscle after direct injection was published in 1990 in *Science*. And the demonstration of naked DNA vaccines was published in *Science* in 1993. The history and progress of this interesting area of immunology and vaccine science will be reviewed here.

## Recent Progress with Malaria Vaccines

Adrian V. S. Hill

The Jenner Institute, Oxford University

Email: adrian.hill@ndm.ox.ac.uk

A highly effective malaria vaccine is a major goal of global health research and will likely require a multi-stage product. To date, RTS,S/AS01, the leading candidate vaccine has achieved 30-50% efficacy of modest duration in a phase 3 trial. Oxford researchers are developing the concept of a highly effective multi-stage *P. falciparum* vaccine to the point of proof-of-concept phase II testing in Europe, prior to trials in malaria-endemic areas.

Remarkable recent advances in vaccine design for all four stages of the *P. falciparum* parasite's life-cycle allow testing of a multi-stage multi-component vaccine for the first time, with strong chances of success. These advances are i) the availability of a new vectored prime-boost vaccination regime based on the chimpanzee adenovirus technology that has been found to induce exceptionally potent CD8<sup>+</sup> T cell responses and high titre antibodies against multiple malaria antigens; ii) the development of an improved virus-like particle (VLP) version of the leading partially protective RTS,S sporozoite vaccine candidate, termed R21, that lacks the excess of HBsAg in RTS,S; iii) the identification, using a vector technology screen, of the blood-stage antigen RH5 as the first antigen to induce potent strain-transcending neutralisation of blood-stage parasites in *in vitro* growth inhibition assays; and iv) the demonstration that antibodies against a mosquito-stage antigens that induce 100% transmission blocking against field isolates of *P. falciparum* in Africa are inducible by a new nanoparticle vaccine candidate.

In parallel similar approaches using vectors and VLPs are underway to target the pre-erythrocytic stages of *P. vivax*, including the hypnozoite, and a phase I trial of the vivax blood-stage vaccine candidate, PvRII, is nearing completion.

We are aiming to undertake phase I / II clinical trials to assess the *P. falciparum* pre-erythrocytic, blood-stage and mosquito-stage components individually, and then together, using state-of-the art immunomonitoring, key functional assays of vaccine-induced immunogenicity, and sporozoite and blood-stage parasite challenges to measure efficacy prior to field testing. An update on this programme will be presented. A viral vectored prime-boost regime has recently shown high efficacy against malaria infection in East Africa and the first combination trial of RTS,S/AS01 with these vectors has been completed.

Substantial progress has also been made in attaining high level efficacy against homologous parasite strain challenge with cryopreserved irradiated sporozoites. Intravenous immunisation was required for efficacy along with four to five immunisations and field trials of this approach are now beginning.

The prospects for achieving high level vaccine efficacy in the field with some of these approaches now appear very good.

## **Recent Progress Towards a Novel Efficient TB Vaccine**

Dennis Christensen

Statens Serum Institut, Copenhagen, Denmark  
Email: den@ssi.dk

More than one-third of the world's population is infected with *Mycobacterium tuberculosis*. The only vaccine, *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin (BCG), does not prevent adult pulmonary TB or reactivation of latent infection. Candidate vaccines currently under clinical development have been designed to improve BCG efficacy but not prevent reactivation of latent infection.

The vaccine discovery paradigm for Tuberculosis has thus been to mimic the natural immune response to infection and thus to select dominant antigens and administer them in delivery systems that promote strong Th1 responses, because IFN-gamma is recognized as the main protective cytokine during infection. However, the BCG vaccine is a strong inducer of IFN-gamma producing Th1 cells yet has limited protection in adults, and the MVA-Ag85 vaccine that boosts these responses even higher recently showed disappointing data in a clinical efficacy trial.

I will discuss ongoing efforts to improve the efficacy of subunit vaccines through adjuvant design and antigen composition with a focus on the most important features for a novel TB vaccine to be administered to a global population with a high prevalence of latent TB.

Recent data from mouse and non-human primate models of vaccine promoted protective immunity suggest that instead of boosting Th1 and IFN- $\gamma$ , supplementing BCG with central memory T cells (TCM) that are insufficiently induced by BCG may be a feasible avenue towards TB vaccines that efficiently protect the TB infected lung. We have thus found that although BCG control *M. tuberculosis* growth for 7 weeks of infection, the protection was gradually lost as the infection entered the chronic phase. The resulting regrowth of *M. tuberculosis* coincided with an almost complete disappearance of central memory T cells. Booster vaccination with a subunit vaccine (Ag85B-ESAT-6+CAF01) that expanded the TCM population, and the maintained this population in the late stage of infection was associated with enhanced control of bacterial growth. These results thus suggest that TCM cells with the potential to continuously replenish the T cells at the site of infection can prevent attrition and functional exhaustion, and thus efficiently prevent reactivation of latent infection.

**Aşı Geliştirilmesinde Güncel Omiks Yaklaşımlar**

Orçun Haçarız

TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsü, Gebze, Kocaeli

Email: orcun.hacariz@tubitak.gov.tr

Günümüzde insan ve hayvan sağlığı açısından önem arz eden ve büyük ekonomik kayıplara yol açan birçok parazite (*Fasciola hepatica* gibi) karşı etkili aşılar geliştirilememektedir. Bu durumun başlıca nedenlerinden birinin parazit biyolojisinin tam olarak anlaşılabilmesi olduğu düşünülmektedir. Alışılmış yöntemlerle sınırlı sayıda parazit molekülü tanımlanabilirken, omiks (omics; bir biyolojik maddenin tümünün incelenmesi) yaklaşımları ile tanımlanabilen molekül sayısı binlerce olabilmektedir.

Proteomik (protein-omics); tüm proteinlerin, genomik (gen-omics); tüm DNA'nın, transkriptomik (transcript-omics) ise tüm transkriptlerin (mRNA) araştırılması anlamında kullanılmaktadır. Sıvı kromatografisine bağlı kütle spektrometre yöntemleri proteomik çalışmalarında yaygın olarak kullanılmakta, yeni nesil dizileme ile tüm genetik madde incelenebilmektedir. Bahsedilen yöntemler, laboratuvar çalışmalarından elde edilen verinin çeşitli işlem kümeleri ile bilgisayar ortamında (in silico) anlamlandırılmasına dayanmaktadır.

Bu sunumda, güncel omiks yaklaşımlarının *F. hepatica* ile ilgili sağladığı bulgular geçmişteki ve şu an yürütülen çalışmalar dâhilinde aşı geliştirme yönünden tartışılacaktır.

## Respiratory Syncytial Virüsüne Karşı RSV-F DNA Aşısının Geliştirilmesi ve BALB/c Tipi Farelerde İmmün Yanıtın İncelenmesi

Erdal Eroğlu<sup>1,2</sup>, Pooja M. Tiwari<sup>2</sup>, Alain B. Waffo<sup>2</sup>, Vida A. Dennis<sup>2</sup>, Shree R. Singh<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Celal Bayar Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Muradiye/ Manisa, 45140, Türkiye

<sup>2</sup>Alabama State Üniversitesi, NanoBiotechnology Araştırma Merkezi, Montgomery/ Alabama, 36104, USA

Email: erogluerdal@gmail.com

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Respiratuvar sinsitiyal virüsü (RSV) özellikle 2 yaşına kadar hemen hemen tüm çocuklarda görülmekle birlikte, tüm dünyada ölümlere varan ciddi solunum yolu enfeksiyonlarına sebep olmaktadır. Bu virüse karşı sadece yüksek risk altındaki çocuklarda izin verilen bazı genel antiviral ilaçlar dışında, henüz koruma sağlayan lisanslı bir aşı geliştirilememiştir. Bundan 50 yıl kadar önce yapılan aşı geliştirme denemelerinde, formalin ile inaktive edilmiş aşı Th2 tipinde bağışıklık sonucu tetikleyerek alerjik reaksiyonlara sebep olmuş ve bazı deneklerde ölüme sebebiyet vermiştir. Yaptığımız çalışmada RSV'nin yüzeyinde bulunan RSV-F (fusion) proteinini ifade eden gen bölgesi pHCMV1 vektörüne klonlanarak RSV'ye karşı bir DNA aşısı geliştirilmiş ve BALB/c tipi farelerde immün yanıtın tipi incelenmiştir.

**MATERYAL ve METOD:** RSV-F proteinini ifade eden gen bölgesi PCR ile çoğaltılarak, *BamHI* ve *NotI* restriksiyon enzimi kesim noktalarından pHCMV1 vektörü içine klonlanmasıyla bir DNA aşısı geliştirilmiştir. Ayrıca, geliştirilen aşı GFP geni ile de etiketlenmiştir. Daha sonra saflaştırılan DNA aşısı BALB/C tipi farelere kol kası yoluyla 1, 15 ve 29'uncu günlerde uygulanarak, fareler immünize edilmiştir. Ayrıca, 0, 14, 28 ve 49'uncu günlerde farelerden kan örnekleri toplanarak ELİSA tekniği ile üretilen toplam IgG ve isotipleri (IgG2a, IgG2b ve IgG1) belirlenmiştir. Son olarak, toplanan kan örnekleri değişik oranlarda seyreltilerek *in vitro* da canlı RSV üzerine uygulanmıştır.

**SONUÇ:** Öncelikli olarak, geliştirilen DNA aşısının *in vitro* da üretildiği GFP etiketi sayesinde gösterilmiştir. Kan örneklerinde, 28inci günden sonra (özellikle 49'uncu günde) RSV'ye özel IgG üretildiği gösterilmiştir. IgG'nin isotiplerine bakıldığında yüksek oranda IgG2a ve IgG2b gözlenirken IgG1'e rastlanmamıştır. İso tip oranları (IgG1/IgG2a ve IgG2b/IgG2a) göz önünde bulundurulduğunda, geliştirilen DNA aşısının doğal RSV enfeksiyonlarında olduğu gibi Th1 tipi antibadi yanıtı tetiklediği gözlenmiştir. Son olarak, kan örneklerinin (1:8, 1:16 seyreltmelerde) canlı RSV'nin enfeksiyon kabiliyetini *in vitro* da %46' ya kadar düşürdüğü gösterilmiştir.

**TARTIŞMA:** Yapmış olduğumuz çalışmada RSV-F DNA aşısının BALB/c tipi farelerde doğal RSV enfeksiyonlarındaki gibi Th1 tipi antibadi yanıtı tetiklediği görülmüştür.

**TEŞEKKÜRLER:** Bu proje NSF-CREST ve NSF-HBCU-UP tarafından desteklenmiştir (Proje no: HRD-1241701 ve HRD-1135863)

## Kırım-Kongo Kanamalı Ateş Hastalığına Karşı Hücre Kültür Tabanlı İnaktif Aşı Geliştirme Çalışmaları

Aykut Özdarendeli

Erciyes Üniversitesi, Aşı Araştırma ve Geliştirme Merkezi  
Email: aozdarendeli@erciyes.edu.tr

Enfeksiyöz hastalıklar, günümüzde halk sağlığı açısından en önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden olmaya devam etmektedirler. Viral hemorajik hastalıklar birçok ülkede olduğu gibi son yıllarda ülkemizde de görülmekte olup hem toplum genelini hem de halk sağlığı çalışanlarını tehdit etmektedir. Önemli viral hemorajik hastalığa neden olan bazı virüsler (Lassa, Marburg, Ebola, Dengue, Hanta ve Kırım-Kongo kanamalı ateş hastalığı virüsleri vb.) bir enfeksiyon ajanı olarak toplum sağlığını tehdit ederken aynı zamanda biyolojik silah olarak kullanılma potansiyelinde olmaları ayrı bir önem atfedilmesine neden olmaktadır.

Kırım-Kongo kanamalı ateş hastalığı (KKKAH) virüsü Bunyaviridae ailesinin *Nairovirus* genusunda yer almaktadır. KKKAH virüsü diğer memelilerin aksine sadece insanlarda ciddi klinik semptomlarla seyrederek. İnsanlardaki kanamalı hastalık tablosu peteşi, yaygın ekimoz, kanama ve karaciğerdeki fonksiyon bozukluğu şeklinde kendini göstererek mortalite oranı %30'lara kadar çıkabilir. Son yıllarda vaka sayılarının artması ve yeni coğrafik bölgelerde hastalığın ortaya çıkması hastalığın kontrol altına alınması için acil kontrol stratejilerinin geliştirilmesini gerektirmektedir. Ülkemizdeki KKKAH ile ilgili ilk klinik vakalar 2002 yılında Tokat'da bildirilmiş ve şu ana kadar 8000'in üzerinde vaka görülmüş olup ülkemiz ciddi bir KKKAH salgını ile karşı karşıyadır. 2014 yılında 900'ün üzerinde vaka bildirilmiş ve mortalite oranı yaklaşık %5'dir. Bu nedenle ülkemiz için KKKAH karşı aşı geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır.

Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'nun (TÜBİTAK) desteklediği 108G126 nolu proje kapsamında KKKAH'a karşı, çalışma grubumuz tarafından hücre kültürü tabanlı inaktif bir aşı geliştirilmiştir. Yapılan çalışmalarda aşı uygulanan Balb/c farelerinde yüksek düzeyde nötralizan antikorların oluştuğu saptanmıştır. Daha da önemlisi aşılanan IFNAR farelerinin KKKAH Kelkit06 suşu ile eprüvasyonunda %80'lik koruma oranının olduğu bulunmuştur. Devam eden projede Faz I aşamasına başarı ile gelinmiş ve çalışmalar devam etmektedir.

## Leishmaniasis'e Karşı Aşı Geliştirilmesinde Ortaya Çıkan Problemler ve Yeni Yaklaşımlar

Adil M. Allahverdiyev

Yıldız Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, Hücre Kültürü ve Doku Mühendisliği  
Laboratuvarı, Esenler/İstanbul, 34220, Türkiye  
Email: adilmoglu@gmail.com

Leishmaniasis dünyanın ve ülkemizin en önemli halk sağlığı problemlerinden birisidir. Uzun yıllardan beri leishmaniasise karşı aşı geliştirilmesi için çalışmalar yapılmasına rağmen, halen etkin bir aşı bulunmamaktadır. Şimdiye kadar yapılan aşı çalışmalarının temelini, öldürülmüş, atennüe edilmiş tüm parazit antijenleri, saflaştırmış, rekombinant protein aşılı ve DNA aşılı oluşturmaktadır. Uygulanan farklı tür aşılıların avantajları yanında, klinikte kullanımını sınırlandıran pek çok dezavantajı da bulunmaktadır. Yapılan son çalışmalarda parazitin en önemli yüzey antijenlerinden biri olan LPG'ye önem verilmektedir. Ancak LPG'nin tek başına veya mevcut adjuvanlarla yeterli etkinlik sağlamadığı gösterilmiştir. Buna göre de, daha önce tamamladığımız 108S170 no'lu TÜBİTAK projesi kapsamında ilk kez olarak LPG'nin, daha önce adjuvan özelliği gösterilmiş olan poliakrilik asit (PAA) ile konjugatı hazırlanması ve bu konjugatın fare modellerinde antileishmanial aşı olarak etkinliği incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar, LPG-PAA konjugatının Visseral Leishmaniasis'e karşı %83 oranında koruma sağladığını göstermiştir.

Leishmaniasis'e karşı aşı geliştirilmesinde uygulanan başka bir yöntem de zayıflatılmış(atennüe) aşılıların kullanılmasıdır. Mevcut yaklaşımlardan farklı olarak, bu alanda yaptığımız çalışmalarda ilk kez olarak polielektrolitlere (Polioksidonyum (POX) ve Polietilenglikol (PEG)) maruz bırakılan canlı *L.infantum* parazitlerinin virülanslığı azaltılmış formları elde edilmiş ve yapılan in vitro ve in vivo çalışmalar sonucunda bunların etkin bir aşı adayı olduğu ortaya çıkmıştır.

Bu çalışmalarda özellikle POX molekülünün yüksek miktarda adjuvan özelliğe sahip olduğunun tespit edilmesinin ardından, bu molekülün farklı yöntemlerle hazırlanan öldürülmüş *Leishmania* parazitleriyle birlikte fiziksel karışım halindeki formülasyonlarının güçlü bir koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir. Adjuvanlara dayalı aşılıların geliştirilmesinde bazı avantajların yanında, antijenlerin, antijen sunucu hücrelere düşük verimlilikle tanıtılması, formülasyonların sekonder immün yanıtı indükleyememesi nedeniyle uzun süreli koruma sağlanamaması gibi bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Son yıllarda, bu dezavantajları barındırmayan, antijenlerin direkt olarak antijen sunucu hücrelere transferine imkan sağlayan ve yüksek adjuvan özellikli nanopartiküllere dayalı taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesine yönelik çalışmalar önem kazanmıştır. Bu özelliklerini dikkate alarak, çalışmalarımızın daha sonraki aşamasında, Poli-laktik-ko-glikolik asit (PLGA) nanopartiküllerine dayalı taşıyıcı sistemlere *Leishmania* parazitlerinin farklı yöntemlerle elde edilen immünojen moleküllerini



yükleyerek hazırlanan formülasyonların ilk kez olarak aşı adayı potansiyelleri belirlenecektir. Bu konu ile ilgili çalışmalarımız 1003 no'lu Öncelikli Alanlar TÜBİTAK Projesi kapsamında yürütülmektedir.

Ayrıca, laboratuvarımızda elde edilen immünojen LPG molekülü kullanılarak hibridoma teknolojisine dayalı tanı kiti geliştirilmesi için çalışmalarımız Santez projesi kapsamında yürütülmektedir. Böylece, laboratuvarımızda Leishmaniasis'e karşı aşı geliştirilmesine yönelik yapılan ve yapılmakta olan çalışmalar, dünya ve ülkemiz açısından oldukça önemli olup, yeni nesil aşuların elde edilmesinde geleceğe yönelik yeni ümitlerin doğmasına yol açmaktadır.

Teşekkürler: Bu çalışma T.C. Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı ve TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (Proje no: 0254.STZ.2013-2 ve SBAG 213S148).

## Veteriner Aşıları Alanında Bir Biyobenzer Örneği: gE İfade Etmeyen Rekombinant BoHV-1 Elde Edilmesi

Aykut Özkul

Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı  
Email: aykut.ozkul@ankara.edu.tr

Koruyucu hekimlik uygulamalarının en önemli araçlarının başında şüphesiz aşılar gelmektedir. Aşılarla ilgili tarihsel süreç MÖ 2000 yıllarına kadar uzanmaktadır. Günümüzde çok farklı aşı üretim protokolleri tanımlanmış olsa da hepsinin ortak özelliği yüksek teknoloji desteği ile ve spesifik hedeflere uygun olarak üretilmeleridir. Bu kapsamda günümüzde üzerinde en çok odaklanılan aşıların başında “**DIVA**” (*Differentiation Infected and Vaccinated Animals*) yaklaşımı olanlar gelmektedir. Bu çalışmada daha önce tanımlanmış, patent süresi dolmak üzere olan ve veteriner sağlığında kullanılan bir aşının Biyobenzerinin geliştirilmesi planlanmıştır. Bu amaçla özellikle sığır yetiştiricilikleri açısından verim performansını olumsuz etkileyen Sığır Herpesvirüs tip 1 (BoHV-1)'in bir aşı adayı olarak defektif (gE ifade etmeyen) mutantının elde edilmesi planlanmıştır. Elde edilen virus inaktive edildikten sonra aşı formülasyonu geliştirilmiş ve ticari eşdeğeri paralelinde sahada bir grup hayvanda denenmiştir. Gerek bireysel bağışıklık verileri ve gerekse elde edilen bağışık yanıtın gücü açısından yapılan değerlendirmelerde çalışmamızda geliştirilen ve ticari olarak piyasada bulunan aşılar arasında eşdeğer bir bağışıklama elde edildiği gözlenmiştir. Bu açıdan değerlendirildiğinde sunulan çalışma veteriner sağlığında kullanılmak üzere geliştirilen bir biyobenzer aşı olma niteliğindeki ilk olma özelliğindedir.

**Veteriner Aşıları ve Kalite Kontrol Prosedürleri**

Ahmet Arslan

Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü, Veteriner Biyolojik Ürünler Kontrol Bölümü  
Email: ahmetarslan@bornovavet.gov.tr

Ülkemizdeki veteriner biyolojik ürünlerin üretimi ile ithalat / ihracatı için mevcut mevzuatların tanımı, kapsamı ve uygulamaları özetlenerek, esas aldığı uluslararası mevzuatlar tanımlanmıştır. Bu ürünlerde satışa esas ve diğer amaçlarla (satış izni dışındaki) kalite kontrol testlerinin yapılması ve satış izinlerinin düzenlenmesinden sorumlu İzmir Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü bünyesindeki Veteriner Biyolojik Ürünler Kalite Kontrol Merkezinin görev ve sorumlulukları ile yapısı ve personel durumu özetlenmiştir.

Veteriner biyolojik ürünlerde uygulanmakta olan kalite kontrol işlemleri hakkında bilgi verilmiş ve kalite kontrol işlemlerindeki yaklaşımlar tanımlanmıştır. Veteriner aşıları ve immün serumlardan numune alma işlemlerini de kapsayacak şekilde uygulanan test tipleri, bu testlerin nitelikleri ve yaklaşık test süreleri belirtilmiştir. Yıllara göre kalite kontrol testi yapılan biyolojik ürünlerin sayıları, hayvan ve aşı türüne göre dağılımları, satış izni verilen toplam dozları, uygun çıkan / çıkmayan ürünlerin miktarları ile genel toplam içindeki ülkemizde üretilen veya ithal edilen biyolojik ürünlerin payları ile ilgili değerlendirmeler sunulmuştur. Satış izni verilen veteriner biyolojik ürünlerin sahada izlenmesine yönelik sistemlerden bahsedilmiştir.

Veteriner biyolojik ürünlerde pazarlama izni verilmesindeki süreçler tanımlanmış ve pazarlama izin dosyalarını değerlendirerek karara bağlayan “Veteriner Biyolojik Ürünler Değerlendirme Komisyonu”nun çalışma usul ve esasları konusunda bilgilendirme yapılmıştır. Pazarlama izin dosyalarında bulunması gereken temel bölümler tanımlanmıştır. Ayrıca ülkemizdeki ruhsatlı veteriner biyolojik ürünlerin sayısı, hayvan türlerine göre dağılımları, toplam ruhsatlı biyolojik ürün içindeki ülkemizde üretilen ve ithal edilen ürünlerin payları hususunda değerlendirmeler yapılmıştır. Yıllara göre komisyona giren pazarlama izin dosya sayıları konusunda veriler sunulmuştur.

## Gökkuşığı Alabalıklarında *Yersinia ruckeri*'ye Karşı Serotip1 ve 2 Kombine İnaktif Aşı Geliştirilmesi

Soner Altun

Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim Dalı Görükle/Bursa  
16059, Türkiye  
Email: saltun@uludag.edu.tr

**GİRİŞ VE AMAÇ:** Bu güne kadar hazırlanan ticari yersiniozis aşıları serotip 1'den hazırlanmış olup bu aşılardan diğer serotipler için de koruyucu olduğu yaygın bir görüştür. Ancak, son yıllarda yapılan çalışmalar serotip 1'den hazırlanmış olan *Yersinia ruckeri* aşılarının istenilen korunmayı sağlanamadığından serotip 2 suşuyla kombine edilen aşılardan kullanımı üzerinde durulmaktadır. Bu çalışmada *Yersinia ruckeri* suşlarından seçilen biri serotip 1, diğeri serotip 2 özellikte olan iki izolattan üç farklı deneysel aşı hazırlanmıştır. Deneysel aşılardan gökkuşığı alabalıklarına (immersiyon ve enjeksiyon yöntemleriyle) uygulanması sonucunda, hem serotip 1'den hazırlanmış olan (A<sub>1</sub>), hem de serotip 2'den hazırlanan (A<sub>2</sub>) aşısına oranla kombine aşının (A<sub>3</sub>) daha yüksek düzeyde korunma sağladığı (serotip farklılıklarının önemli olduğu) tespit edilmiştir.

**MATERYAL ve METOD:** SDS-PAGE ve immunblot analizi sonucunda belirlenen 6 adet *Yersinia ruckeri* suşu üzerinde virulens çalışmaları yapılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda iki farklı *Yersinia ruckeri* suşu deneysel aşı üretiminde kullanılmak üzere seçilmiştir. Aşı üretimi için *Yersinia ruckeri* suşları pH'sı 7.2 olan TSB içerisinde çalkalamalı soğutmalı inkübatörde 24 - 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası 2 N NaOH kullanılarak kültürlerin pH'sı 9.8'e otomatik pH metre yükseltilmiş ve 2 saat süreyle bekletilmiştir. Bu pH'da lize olan hücreler santrifüjle 6000 dev / dk.) ayrılarak % 0.3 formalinde (+4 °C'de 12 saat tutularak) inaktive edilmiştir. Ürettiğimiz deneysel aşılardan (A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>) deney gruplarına immersiyon ve enjeksiyon yöntemiyle ayrı ayrı uygulanmıştır. Aşılardan sonra 25, 45, 75 ve 105. günlerde deney grubundaki balıklara periton içi enjeksiyonla (0.1 ml), LD<sub>70</sub> oranındaki virulansı yüksek *Y. ruckeri* suşları ile epruvasyon yapılarak RPS oranlarına göre aşılardan etkinlikleri değerlendirilmiştir.

**SONUÇ:** Bu çalışmada hazırlanan üç deneysel aşının sağladığı bağışıklık seviyeleri değerlendirildiğinde, immersiyon yöntemiyle aşılardan A<sub>3</sub>, A<sub>1</sub> ve A<sub>2</sub>'ye oranla daha yüksek korunma sağlamıştır (P < 0.01). Enjeksiyon yöntemiyle aşılardan ise sadece 45. gün A<sub>3</sub>, A<sub>1</sub>'e oranla (P < 0.05), A<sub>2</sub>'ye oranla (P < 0.01) seviyesinde istatistiki önemi olan bir koruyuculuk farkı görülürken diğer günlerde istatistiki farklılık bulunmamıştır. Ancak kombine aşı (A<sub>3</sub>) diğer aşılardan oranla her iki uygulama yöntemine göre daha yüksek koruma sağlamıştır.

**TARTIŞMA:** Bu çalışmada Serotip I ve serotip II'nin kombinasyonundan hazırlanan (A<sub>3</sub>) aşının diğer aşılardan (A<sub>1</sub> ve A<sub>2</sub>'ye oranla) daha yüksek korunma (bağışıklık) sağladığı saptanmıştır. Günümüzde yalnızca serotip I'den hazırlanmış olan ticari aşılardan kullanılması nedeniyle çalışmamızda elde edilen sonuçlar önem taşımaktadır.

## **Sığırların *Trichophytosis* Hastalığına Karşı Aşı Üretimi**

**Nilay Ünal<sup>1</sup>, Derya Pirinççi<sup>1</sup>, Osman Yaşar Tel<sup>2</sup>, Serdal Dursun<sup>1</sup>, Hülya Kaplan<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Dollvet Veteriner Aşı İlaç Biyolojik Madde Üretim Ticaret ve Sanayi A.Ş.

<sup>2</sup>Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji A.B.D.

Email: n.unal@dollvet.com.tr

Trichophytosis, insan ve hayvanların *Trycophyton* genusuna ait funguslar tarafından oluşturulan bulaşıcı bir hastalıktır. Dünyada hayvancılık sektöründe önemli ekonomik kayıplara neden olan ve zoonoz bir hastalık olmasından dolayı da insan sağlığını tehdit eden bulaşıcı bir deri hastalığıdır. Hastalığa bağlı olarak ortaya çıkan et ve süt kaybı, deri kalitesinin bozulması büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Ayrıca, özellikle hayvan bakımı yapan kişilerin ve veteriner hekimlerin sağlığını büyük ölçüde tehdit etmektedir. Bu projenin amacı söz konusu enfeksiyona karşı saha izolatlarından seçilecek şuşlar kullanılarak attenüe canlı aşı hazırlamak ve bu aşının ülkemizde enfeksiyona neden olan hastalık etkenine karşı koruyuculuğu ve tedavi edici özelliğini saptamaktır.

Bu proje iki aşamalı olarak uygulanmıştır: Birinci aşaması hasta hayvanlardan numunelerin toplanması, izolasyon ve identifikasyonu ile elde edilen izolatlardan aşı suşu seçimi işlemleridir. Bu çalışmalar Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji A.B.D. ile birlikte gerçekleştirilmiştir. İkinci aşamada ise seçilen şuşlar ile endüstriyel düzeyde aşı üretimi uygulamaları yapılmıştır.

Çalışmanın birinci aşamasında Türkiye'nin değişik bölgelerindeki illerde saptanan Trichophytosisli hayvanlardan toplam 187 adet materyal toplanmış, makroskopik ve mikroskopik değerlendirmeler sonucunda seçilen 20 izolat ITS1 bölgelerinin iki yönlü baz dizisinin sekans analizi ile belirlenmesi sonucu moleküler olarak *Trichophyton verrucosum* yönünden identifiye edilmiştir.

Sonuçta, seçilen izolatların halen aşı uygulamalarında kullanılmakta olan şuşlarla %99 uyumlu olduğu saptanmıştır. Daha sonra immunojenite testleri gerçekleştirilmiş, aşı suşu olarak seçilmiş ve attenüe edilmiş olan şuşlar çoğaltılarak sterilite, zararsızlık ve saflık yönünden Avrupa Farmakopisi'nde belirtilen şartlara uygun olarak test edilmiş, stoklanmıştır.

Projenin ikinci aşamasında seçilen bu attenüe şuşlar kültüre edilerek çoğaltılmış ve aşı üretimi gerçekleştirilmiştir. Üretilen aşular potens ve güvenlik testleri ile değerlendirilmiştir. Çalışmalar sonucunda sığırların trichophytosis hastalığına karşı etkili ilk yerli trichophytosis aşısı üretimi gerçekleştirilmiştir.

Teşekkür: Bu çalışma, KOSGEB Ar-Ge İnnovasyon ve KOSGEB Endüstriyel Uygulamalar Programları tarafından desteklenmiştir.

## **Büyükbaş Hayvanlarda *E. coli* ve *Cl. perfringens* Tip C Enfeksiyonlarına Karşı Antiserum Üretimi**

Yaprak Gedik, Mestan Özyer, Ahmet Gedik

Ata Fen A.Ş.

Email: yaprakgedik@gmail.com

*E.coli* ve *C.perfringens* tip C etkenleri özellikle 1-20 günlük yeni doğan yavrularda yüksek ölüm oranıyla seyreden Septisemi ve Enterotoksemi enfeksiyonlarına neden olmaktadır. Yeni doğan yavrularda *E.coli*'den kaynaklanan septisemi vakaları özellikle buzağılarda olmak üzere küçük ve büyükbaş hayvanlarda yaygın olarak seyreden bir enfeksiyondur. *E.coli* septisemisi kuzu ve oğlaklarda da ciddi kayıplara neden olabilmektedir. Aynı şekilde *C.perfringens* Tip C beta toksininden ileri gelen toksemiler yeni doğan yavrularda yaygın olarak ölümlere neden olurlar. Bu tip enfeksiyonlarda tedavi şansı oldukça düşüktür ve yeni doğan yavruların aşılama yoluyla korunması mümkün değildir. Yavruların *E.coli* enfeksiyonlarından korunması annelerin gebeliğin son döneminde aşılama yoluyla mümkün olsa da, yavruların annelerinden koruyucu düzeyde antikor alarak bu hastalıklardan korunması uygulama, sevk ve idareye bağlı birçok nedenle tam olarak gerçekleşmemektedir. Bu nedenle yeni doğan yavruların hiperimmün serum ile korunmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Kombine antiserum üretim sürecinde ilk olarak hayvanların immunizasyonunda kullanılacak antijenlerin (*E.coli* K99 ve *C.perfringens* tip C beta toksoitlerin) üretimi ve kalite kontrol testleri yapılmıştır. Hazırlanan antijenler formüle edildikten sonra serum hayvanlarına 6-10 kez uygulanarak hiperimmunizasyon yapılmış ve hayvanların serumları alınmıştır. İstenen antikor seviyesine ulaşıldığı tespit edilen antiserumlar inaktivasyon, filtrasyon, konsantrasyon gibi proseslerden geçirildikten sonra formüle edilmiş ve önce laboratuvar ortamında, daha sonra deney hayvanlarında test edilmiştir. Ön deneme çalışmalarının olumlu sonuçlanması ile hedef hayvanlarda testler yapılmıştır. Elde edilen kombine antiserum sterilite, zararsızlık, etkinlik ve stabilite gibi çeşitli kalite kontrol testlerine tabi tutulmuştur. Yapılan çalışmalar sonucunda üretilen antiserum standardize edilerek *E. coli* ve *C. perfringens* in sebep olduğu hastalıklara karşı kullanılabilir kombine antiserum elde edilmiştir.

Kombine antiserumlar koruyuculuk özelliğinin yanında tedavi etme amacıyla da kullanılabilir. *E.coli* ve *C. perfringens* tip C etkenlerine karşı koruma sağlayacak bir antiserumun koruyucu ve tedavi edici amaçla kullanılabilir olması ve antiserum kullanımının ölümlere karşı hızlı ve güvenli bir koruma sağlama çiftlik sahipleri ve veteriner hekimler tarafından tercih edilmesini sağlamaktadır.

## **Akciğer Kanserinde Yeni Terapötik Yaklaşımlar: Nedir Bu Akciğer Kanseri Aşısı?**

Burçak Karaca

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Medikal Onkoloji Bilim Dalı  
Email: karacaburcak@hotmail.com

Akciğer kanseri halen tüm dünyadaki kansere bağlı en sık ölüm nedenidir. İleri evre hastalıkta medyan sağkalım 10 ay civarında iken EGFR ve ALK inhibitörleri gibi moleküler hedefleyici ajanların kullanımı ile hastalığın kaderi değişime uğramıştır.

Tümör immunolojisi alanında yapılan çalışmalar artmakta ve hedef antijenlerin belirlenmesi ile immuno-terapötik yaklaşımlar yeni tedavi trendini oluşturmaktadır.

Kanser immunoterapisindeki temel amaç, tümör hücresi tarafından çeşitli yollarla susturulmuş olan immun sistemi yeniden aktive etmek ve tümör hücrelerini tanı hale getirmektir. Bu konuda üç temel yaklaşım söz konusudur. Bunlardan ilki tümörle ilgili antijenlerin hedef alındığı monoklonal antikor aracılı hücre ölümü, ikincisi non-antijen spesifik immun sistem modülasyonu yapan check point inhibitörleri ve üçüncüsü de tümör ilişkili antijenler aracılığıyla immun sistemin T helper, T sitotoksik hücrelerini uyarmayı ve uygun antikor oluşumunun tetiklenmesi hedefleyen terapötik kanser aşılardır.

İyi bir aşının içeriğinde mümkünse tümör spesifik iyi bir antijen, taşıyıcı sistem, immun sistemi tetikleyen bir adjuvan ve immun supresyonu engelleyebilecek modülatör moleküller bulunmalıdır.

### **1.TAM PROTEİN AŞILARI**

#### **1A. MAGE-3**

Aşı çalışmalarına bakıldığında ilk umut verici sonuçlar Melanoma Associated Antijen-3 (MAGE-3) ile elde edilmiştir. Bu proteinin fonksiyonu tam olarak bilinmemekle beraber hem erken hem de ileri evde küçük hücreli dışı akciğer kanserinde (KHDAK) pozitif saptanmakta ve kötü prognozla ilişkilendirilmektedir. Testis ve plasenta dışında yalnızca tümör dokusunda bulunmakta ve KHDAK'de %20-50 oranında MAGE-A3 ekspresyonu saptanmaktadır. Aşı, purifiye MAGE- A3 rekombinan proteini ve H. influenza protein D füzyon kompleksinden oluşmaktadır. Faz II çalışmasında erken evre (IB ve II), opere 182 hasta dahil edilmiş ve aşı ile plasebo karşılaştırılmıştır. Hastalısız sağkalım ve genel sağkalım sürelerinde aşı lehine bir uzama gözlenmiş olsa da istatistiksel anlamlı bir değere ulaşamamıştır. Tümör hücrelerinde MAGE-A3 pozitifliği kantitatif RNA PCR ile ölçülmüştür. Aynı aşı Faz III MAGRIT (MAGE-A3 as Adjuvant NSCLC Immunotherapy) çalışmasında opere evre IB - IIIA KHDAK hastalarında değerlendirilmiş olup 2270 hastanın alındığı bu çalışmanın sonuçları beklenmektedir.

## 1B. TG4010

Müsinöz glikoprotein-1 (MUC-1) epitelyal hücre yüzeylerinde bulunan yüksek oranda glikolize bir transmembran proteindir. Normal hücreler glikolipid, glikoprotein ve serbest glikanlardan oluşan kalın bir şeker tabakasıyla kaplı iken kanserde, hücre yüzeyindeki glikolizasyon bozular ve bu durum sialic asid'in aberran ekspresyonuna yol açar. MUC-1 pek çok kanser tipinde over-eksprese edilmektedir ve kötü prognozla ilintilidir. MUC-1'e karşı geliştirilen TG 4010, Ankara virusu kullanılarak MUC1 ve interlökin-2 eksprese eder şekilde yapılmıştır. Faz II çalışmasında ileri evre (IIIB-IV) hastalarda ilk seçim kemoterapi (KT) ve aşı kombinasyonu sonrasında idame aşı tedavisi ile KT tek başına karşılaştırılmıştır. Altıncı ayda %43 hastanın progresyonsuz olduğu görülmüştür. Ayrıca, tanı anında bazal aktive natural killer (NK) hücre sayısının önemli bir prediktif belirteç olduğu ileri sürülmüştür. Bazal aktive NK sayısı yüksek olan hastalarda medyan genel sağkalım 10.3 ay iken, düşük olanlarda 18 ay bulunmuştur (p:0.02). Faz III- TIME çalışması sürmektedir.

## 1C. CIMAvax-EGF

CIMAvax-EGF (Küba aşısı), Human rekombinant EGF ile Neisseria meningitidis tabanlı taşıyıcı protein ve adjuvan olarak Montanide içermektedir. EGF'ye karşı antikor oluşturarak EGFR sinyal iletilisini azaltmayı amaçlar. İlk olarak ileri evre (stage IIIB/IV) KHDAK'de 80 hastada ilk seri KT sonrası en az stabil yanıt verenlerde idame aşı tedavisi ile diğer kolda tedavisiz izlem karşılaştırılmış ve 60 yaşından genç, iyi antikor yanıtı olan hastalarda sağkalım avantajı gösterilmiştir (11.6 ay vs 5.3 ay, p:0.01). Faz III çalışmasında ise toplam 17 ülkeden 405 hasta dahil edilmiş, 351 hastanın preliminere verilerine göre, aşı lehine genel sağkalım farkı gözlenmiştir (11.2 ay vs 7.7 ay). Ayrıca tedavinin 4. ayında yüksek antikor titresi ( $>1/4000$ ) geliştirmiş olmak immunolojik bir surrogate marker olarak kullanılabilir gibi görünmektedir.

## 2. PEPTİD AŞILARI

### 2A. L-BLP25

MUC1'in 25 aminoasit dizisinin ard arda tekrarından oluşur. Faz II çalışmasında evre IIIB/IV olan ve kemoradyoterapi (KRT)/KT sonrasında en az stabil yanıt elde edilmiş 171 hastada idame tedavi olarak aşı tedavisi en iyi destek bakım ile karşılaştırılmış ve anlamlı genel sağkalım farkı sağlanamamıştır (17.2 vs 13 ay). Alt grup analizlerinde ise evre IIIB ve eş zamanlı KRT alanlarda faydalı olduğu görülmüştür (medyan genel sağkalım 30.6 ay vs 13.3 ay).

Faz III çalışması, START'ta ( Stimulating Targeted Antigenic Responses to NSCLC) Evre III, K-RT ya da KRT sonrası hastalar 2:1 randomizasyon ile aşı ve plasebo kollarına ayrılarak değerlendirilmiştir. Genel sağkalım farkı olmamakla birlikte (25 ay vs 23 ay) eşzamanlı KRT alanlarda bu süre 30.8 ay vs 20.8 olarak saptanmıştır. Diğer bir Faz III çalışma INSPIRE devam etmektedir.



### **3.GANGLİOZİD AŞILARI**

Gangliosidler, en az bir sialik asid halkası taşıyan glikosfingolipid moleküller olup hücre yüzeyinde eksprese olur. NeuGc- GM3 ( Neu-glikolize sialik asit içeren ganglioside) hemen hemen tüm epitelyal tip kanser hücre yüzeylerinde eksprese olan yaygın bir antijendir. Racotumomab ise NGcGM3 antijenini taklit eden bir proteine karşı bir antikordur. Erken sonuçları ümit vericidir ve Faz III çalışma sonuçları beklenmektedir.

### **4. TAM TÜMÖR HÜCRESİ AŞILARI**

#### **4A. BELAGENPUMATUCEL-L (LUCANIX)**

Işınlanmış dört farklı akciğer kanser hücre hattından elde edilmiş allojenik bir tam tümör hücre aşısıdır. İmmün sistemin baskılanması ve kısa sağkalımla ilintili olan TGF-beta sinyalinin hedef alan bir aşısıdır. TGF-b2 antisense plasmid ile TGF-beta salgılaması engellenir.

Faz II çalışmada ileri evre KHDAK hastalarında kullanılmış ve %15 gibi ibr yanıt oranı ve 4 aylık progresyonsuz sağkalım süresi elde edilmiştir. Faz III- STOP çalışmasında evre IIIA-IV KHDAK olan 532 hastada, 1. seri KT sonrasında idame tedavide aşı ile plasebo karşılaştırılmış ve aşı lehine 20.3 ay vs 17.8 ay şeklinde bir genel sağkalım farkı elde edilmiştir. Non-adenokanser grupta fayda olabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak akciğer kanserinde aşı tedavisi ile ilgili faz III çalışma sonuçları beklenmekte ve çalışmalar umut vaad etmektedir.

## Uroplakin 3A Proteininden Türetilen Antijenik Peptidin İki Farklı Adjuvanla İmmün Cevap Yanıtlarının Karşılaştırılması Olarak Değerlendirilmesi

Kenan İzgi<sup>1,3\*</sup>, Banu İskender<sup>2,3\*</sup>, Çağrı Sakalar<sup>2,3</sup>, Aslıhan Arslanhan<sup>1,3</sup>, Sedat Sezen<sup>2,3</sup>, Halit Canatan<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Tıbbi Biyokimya, Tıp Fakültesi, Erciyes Üniversitesi, 38039, Melikgazi, Kayseri

<sup>2</sup>Tıbbi Biyoloji, Tıp Fakültesi, Erciyes Üniversitesi, 38039, Melikgazi, Kayseri

<sup>3</sup>Betül-Ziya Eren Genom ve Kök Hücre Merkezi, Erciyes Üniversitesi, 38039, Melikgazi, Kayseri

Email: kenanizgi@erciyes.edu.tr

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Kanser ya da normal dokuda üretilen organ ya da dokuya özgü immünojenik antijenler tümörü hedef alma adına kanser immünoterapide kullanılabilir. Bir önceki çalışmamızda mesaneye özgü Uroplakin 3A (UPK3A) proteini hedef alınarak T-hücre aracılı mesaneye spesifik otoimmünite geliştirdik. UPK3A mesane kanserlerinde de yüksek oranda ekspresyonundan dolayı iyi seçilmiş bir antijen olup bu antijene karşı otoimmün aracılı immün cevap geliştirerek mesane kanseri karşı aşı geliştirmede kullanılabilir. UPK3A'dan türetilen bu peptidin mesane kanseri aşı çalışmasında kullanılması için güçlü bir immün cevap oluşturması gerekmektedir.

**MATERYAL ve METOD:** Bu çalışmada iyi karakterize edilmiş UPK3A 65-84 peptid immünojenik taşıyıcı protein KLH (Keyhole Limpet Hemocyanin) ile konjuge edilip iki farklı adjuvanla CFA (Complete Freund's Adjuvant) ya da CpG (Cytosine-phosphate-guanine) aşılama yapılarak tümör immün toleransını kırmak için güçlü bir immün cevap elde edilmesi amaçlanmıştır. Antijenin iki farklı adjuvanla kombine kullanımı ile oluşturulan immün yanıt antijene immün hücre proliferasyonu, sitokin ve immün hücre yanıtları karşılaştırmalı olarak ELISA ve RT-PCR ile analiz edildi.

**SONUÇ:** KLH konjuge peptidin CpG adjuvanı ile kombine immünizasyonu CFA adjuvanına ile kombine immünizasyonuna göre anlamlı oranda daha yüksek oranda IL-2, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-17 sitokin üretimi ve daha fazla immün hücre (CD4 T cell, CD8+ T cells, NK cells CD11b, CD45) aktivasyonu gösterek güçlü bir immün cevap geliştirdik.

**TARTIŞMA:** Sonuç olarak KLH ile konjuge peptidin (UPK3A 65-84) CpG adjuvanı ile kombinasyonu fare mesane kanseri modellerinde yeni kanser immünoterapi stratejileri geliştirmek için kullanılabilir.

**TEŞEKKÜRLER:** Bu proje Erciyes Üniversitesi BAP ve TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (TCD-2013-4766 ve Proje no: SBAG 113S927)

## Over Kanserinde Üretilen AMHR2'nin Ekstrasellüler Bir Peptidini Hedef Alan Bir Monoklonal Antikorun Kanser İmmüterapiye Kullanılmak Üzere Üretilmesi

Ali Turan<sup>1,2</sup>, Çağrı Şakalar<sup>1,2,\*</sup>, Savaş Kaya<sup>3</sup>, Huriye Aksu<sup>1,2</sup>, Mustafa Çakır<sup>1,2</sup>, Büşra Kurt<sup>1,2</sup>, Sedat Sezen<sup>1,2</sup>, Halit Canatan<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji A.D., Melikgazi, Kayseri

<sup>2</sup>Erciyes Üniversitesi Genom ve Kök Hücre Araştırma Merkezi, Melikgazi, Kayseri

<sup>3</sup>Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi İmmünoloji A.D., Diyarbakır

Email: sakalar11@hotmail.com

Monoklonal antikor üretimi 1975 yılında Kohler ve Milstein tarafından myeloma hücresi ile dalak hücrelerinin füzyon oluşturulmasıyla çalışılmaya başlamıştır. Böylelikle hibridomalar hem kanser hücreleri gibi sonsuz bölünme özelliği gösterirken hem de B lenfositlerin antikor üretme özelliği sahip olurlar. Son zamanlarda özellikle kanser immün terapiye; kanser hücrelerinde yüksek miktarda üretilen moleküllere karşı elde edilen monoklonal antikorlar kullanılmaktadır. Over (yumurtalık) kanseri dünyada en sık görülen beşinci, kadınlarda ise en sık görülen ikinci kanser tipidir ve en ölümcül olanıdır. Yumurtalık kanseri genel olarak menopozdan sonraki dönemde görülür.

TGF- $\beta$  ailesine ait bir zar-geçen bir protein olan AMHR2 spesifik olarak over ve testislerde bulunur ve ayrıca AMHR2'nin prostat, meme ve insan ovaryum kanser hücre hatlarında ve over kanserlerinde eksprese olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada amacımız; AMHR2'nin hücre dışı kısmını hedef alan bir monoklonal antikor üretilmesidir. Bu kapsamda AMHR2 ekstrasellüler domainini hedef alan bir peptid dizayn edilerek, sentezlenmiştir. Bu peptidle 3 kere aşılanan farelerden alınan dalak hücreleriyle, myeloma hücreleri arasında füzyon oluşturulmuş ve hibridoma klonları elde edilmiştir. Bu klonlar hücre kültür ortamında büyütülerek hedef peptide spesifik bağlanan antikorları üreten klonalar seçilmiş, sonraki aşamada bunlardan stabil olan bir klon elde edilmiştir. Bu klona ait hücreler fareye enjekte edilmiş ve tümör asit sıvısında yüksek oranda spesifik monoklonal antikor varlığı gösterilmiştir. Devam eden çalışmalarda üretilen monoklonal antikorun over kanser hücrelerindeki AMHR2'ye bağlanma kapasitesi ve antikora dayalı hücresel sitotoksikite uyarma potansiyeli test edilecektir.

## **Meme Kanserinin Aşı Tedavisi**

Levent Yeniay

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı  
Email: levent.yeniay@ege.edu.tr

Meme kanserinde gelişen yeni tedavi yöntemlerine rağmen kansere bağlı mortalitenin en önemli nedenleri arasında yer almaktadır. Bu nedenle yeni tedavi seçenekleri yoğun şekilde araştırılmaktadır.

İnflamasyon ve immün sistemden kaçışın kanser gelişiminin karakteristik özelliklerinden olduğu artık bilinmektedir. İmmün sistemin çeşitli şekillerde manipüle edilerek kanser hücrelerinin yok edilebileceği hipotezi bu kavramlar üzerine oluşturulmuştur. Bu stratejide kullanılan yöntemler antikorlar, immünomodülatörler ve aşılardır. Konakçı immün sisteminin kanser hücrelerine karşı aktif-pasif bağışıklandırılarak yok edilmesi temeline dayan bu yaklaşımın pek çok avantajı bulunmaktadır. Tümör hücre antijenlerine karşı oluşturulan bu tip bağışıklık ile; uzun süren, rekkürensleri önleyen, kolay uygulanabilen ve düşük toksisiteye sahip bir tedavi sağlanabilir. Böyle bir ajan kanserin tedavisinde olduğu gibi profilaksisinde de kullanılabilir.

Patogenezinde viral etkenlerin yer aldığı kanser türlerinde ( Serviks kanseri, karaciğer tümörleri gibi) başarılı aşı tedavileri geliştirilebilmiştir. Antijenik özellikleri daha az olan solid organ tümörlerinde ise henüz bu başarı yakalanmış değildir. Sadece prostat kanseri (Sipuleucel-T) ve melanomada (İpilimumab) FDA onayı alınan aşı ve immünomodülatör tedaviler söz konusudur. Meme kanserinde teorik olarak oldukça çekici bu avantajlara rağmen yapılan klinik çalışmalarda bu özelliklere sahip etkili bir aşı henüz geliştirilememiştir.

Güncel aşı platformları; Peptid aşıları, DNA aşıları, dentrik hücre temelli aşılar ve tam hücre temelli aşılarından oluşmaktadır. Bu platformların avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Meme kanseri antijeni (Tumor-associated antigens, TAA's) olarak en çok çalışılan hedefler HER-2 reseptörü, karbonhidrat antijenler, telomeraz reverse transkriptaz (hTERT) ve mucin-1'dir. Bunların içersinden en çok klinik çalışma yapılan HER-2 aşılarıdır. Ancak HER-2 pozitifliği tüm meme kanserli hastalarda % 25-30'dur.

Anti tümör aşıların başka moleküllerle kombinasyonlarında denenmektedir. Bunlar pasif immünoterapi, immünomodülatörler ve anti-HER-2 molekül trastuzumab kombinasyonlarıdır. Klinik çalışmaların hemen hemen hepsi faz 1 ve 2 düzeyindedir. Meme kanserine ait yeni ve daha etkili hedef antijenler ve yolak moleküller halen araştırılmaktadır.

Henüz rutin kullanıma giren bir meme kanseri aşısı olmamasına karşın, bu çalışmaların ufku parlak gözükmektedir. Melanom, serviks tümörleri ve akciğer kanserlerindeki benzer immünterapötiklere ulaşılma ihtimali yüksektir.

## **DNA Aşıları ile Uyarılan İmmun Yanıtın Arttırılması ve Moleküler Adjuvantlar**

Sultan Gülçe İz

Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye  
Email: sultangulce@gmail.com

DNA aşıları, uygun bir vektör sistemine enfeksiyöz organizmanın antijenik bölgelerini kodlayan gen bölgesinin yerleştirilmesi ile oluşturulmaktadır. DNA aşıları daha çok salgınlara neden olan enfeksiyöz hastalıkların tedavisi için umut kaynağı olmuştur. Bununla beraber özellikle hücre içi patojenlerle mücadelede DNA aşılarının hücresel bağışık yanıtı uyarma kapasiteleri en önemli avantajlarındandır. Fakat DNA aşılarının primatlarda ve insanlarda uyardığı bağışık yanıtın istenilen düzeyde olmaması, son yıllarda yapılan çalışmaların DNA aşılarının etkinliğini arttırmak üzerine yoğunlaşmasına neden olmuştur. Bu noktada, adjuvanlar devreye girmektedir. Adjuvantlar genel tanımı ile özgün aşı antijenleri ile birlikte verildiğinde antijene bağımlı bağışık yanıtı arttıran ve süresini uzatan moleküllerdir. Alum, saponinler, mikroküreler, nanopartiküller, lipozomlar, polimerler aşı formulasyonunda yer alan adjuvantlardır. DNA aşı vektörlerinin yapısında yer alan sitokin, kemokin, stimulatör ve ısı şok protein gen bölgeleri moleküler adjuvantlar olarak kullanılır. İmmunostimulatör adjuvantlar; HSP70 (ısı şok proteini 70), monofosforil lipid A, alüminyum tuzları, sitokin plazmitleri, polimerler; polietilenimin (PEI), polimetakrilat,  $\beta$ -siklodesktrin, katyonik poliaminoesterler, poloksomerler, polivinilprolidon (PVP), poli-d-laktik-ko-glikolik asit (PLGA), aljinat, kitozan, poli-orto-ester polimerleri gibi nanomikro-partiküllerdir.

DNA aşılarının etkinliğinin arttırılmasında apoptozun baskılanması önemli rol oynamaktadır. Bu bakımdan apoptozu baskılayıcı Bcl-xL anti-apoptotik proteini geliştirdiğimiz çift promotör DNA aşı plazmitine eklenerek moleküler adjuvant olarak kullanılmıştır.

DNA aşı plazmitine eklenen Bcl-xL anti-apoptotik proteinin etkinliği, *in vitro*'da BHK-21 hücrelerine yapılan transfeksiyon sonucu gösterilmiştir (Gülçe İz et al., 2012). Bu çalışmada, Bcl-xL taşıyan DNA aşı plazmiti ile geçici transfekte edilen hücrelerin kontrol grubuna göre daha uzun yaşadıkları gösterilmiştir. Şap hastalığı ve Toksoplazma gondii parazitine karşı geliştirilen DNA aşılarında da immünizasyonu sonucunda Th1 immün yanıtın arttığı gösterilmiştir. Bcl-xL içeren DNA aşısı ile immünizasyon sonucunda sonucunda CD4+ ve CD8+ T-lenfositlerde antijen spesifik intraselüler IFN- $\gamma$ 'nın daha yüksek seviyede bulunduğunu gösterilmiştir (Gülçe İz et al., 2013; Gülçe İz et al., 2014).

Bcl-xL taşıyan plazmit ekspresyonunun; DNA aşılama hedef hücrede uzatılmış immün yanıt elde edilmesi ve rekombinant protein üretiminde daha yüksek verimde protein üretimi için uygun bir yaklaşım olduğu düşünülmektedir.

**Kaynaklar**

Gülçe İz S., Çalimlioğlu B., Deliloğlu-Gürhan S., 2012, Using Bcl-xL anti-apoptotic protein for altering target cell apoptosis, *Electronic Journal of Biotechnology*, Vol 15, No 5 (2). doi: 10.2225/vol15-issue5-fulltext-2.

Gülçe İz S., Dorskaya M., et al. 2013, Co-expression of the Bcl-xL antiapoptotic protein enhances the induction of Th1-like immune responses in mice immunized with DNA vaccines encoding FMDV B and T cell epitopes, *Veterinary Research Communications*, (article in press) doi:10.1007/s11259-013-9560-3.

Gülçe İz S., Döşkaya M., et al. 2014, A novel dual promoter DNA vaccine induces CD8+ response against *Toxoplasma gondii* sporozoite specific surface protein "SporoSAG" through non-apoptotic cells *Trials in Vaccinology*. DOI: 10.1016/j.trivac.2014.04.003.

## Girişimsel Olmayan Aşı Formülasyonu Geliştirilmesi: Adjuvanlar/ Taşıyıcı Sistemler

Sevda Şenel

Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, 06100, Ankara  
Email: ssenel@hacettepe.edu.tr

Son yıllarda, aşıların uygulanmasında girişimsel olmayan mukozal (oral, nazal, pulmoner) ve dermal yollar üzerinde çalışmalar yoğunlaşmıştır. Ancak, bu yollarla uygulamada immün yanıt düşük olmaktadır. Girişimsel olmayan yollarla yapılan bağışıklamada başarılı olmak için “uygun aşı formülasyonları”nın geliştirilmesi gerekmektedir. Formülasyon tasarımı gerek immün yanıtın artırılması gerekse antijenin in vitro (sıcaklık vb. koşullarda parçalanmadan kalması) ve in vivo (bağışıklık sistemi tarafından alınıncaya kadar fizyolojik koşullarda parçalanmadan kalması) dayanıklılığının korunması yönünden çok önemlidir [1,2]. Ayrıca, geliştirilen formülasyonun kolay uygulanabilir olması da hasta uyuncu açısından önemlidir. Girişimsel olmayan yolla uygulamak amacıyla farklı formülasyon şekilleri geliştirilmiştir. Özellikle adjuvanlar ve taşıyıcı sistemlerden yararlanılmaktadır [3]. Bazı durumlarda geliştirilen formülasyon hem adjuvant hem de taşıyıcı görevi görmektedir. Üzerinde en çok çalışılan adjuvant/taşıyıcı sistemler arasında partiküler sistemler bulunmaktadır [4]. Bunlar patojene benzer özelliklere sahip olacak şekilde tasarlanırlar, ve bu sayede immün sistem tarafından patojenlere benzer şekilde alınır, bu şekilde adjuvant özelliği de gösterirler Bu sunumda, mukozal ve dermal yolla uygulanan aşı formülasyonunun özellikleri özetlendikten sonra bu amaçla kullanılan taşıyıcı sistemler /adjuvanlar tartışılacaktır. En son olarak da grubumuz tarafından bu konuda yapılan çalışmalardan bahsedilecektir [5-8].

### KAYNAKLAR:

1. Şenel S, Cansız M, Rathbone MJ, Buccal delivery of biopharmaceuticals: Vaccines and allergens, in: das Neves J, Sarmento B (Eds) Mucosal Delivery of Biopharmaceuticals, Biology, Challenges and Staretgies, Springer, 2014, s.149-168
2. Sayın B, Şenel S, Chitosan and its derivatives for mucosal immunization, in: R. Jayakumar and M. Prabakaran (Eds) , Current Research and Developments on Chitin and Chitosan in Biomaterials Science, Vol.1: s.145-165, 2008.
3. Arca HÇ, Günbeyaz M, Şenel S, Chitosan-based systems for delivery of vaccine antigens, Expert Rev. Vaccines 8(7):937-953 (2009)
4. Şenel S, Chitosan based particulate systems for non-invasive vaccine delivery, Advances in Polymer Sci, 243, 11-137, 2011, DOI: 10.1007/12\_2011\_120
5. Çokçalışkan C, Ozyoruk F, Gürsoy RN, Alkan M, Günbeyaz-Pınar M, Arca HÇ, Uzunlu E, Şenel S, Chitosan-based systems for intranasal immunization against foot-and-mouth disease, Drug Dev Technol, DOI: 10.3109/10837450.2013.763263

6. Günbeyaz M, Faraji A, Özkul A, Puralı N, Şenel S, Chitosan based delivery systems for mucosal immunization against bovine herpes virus 1 (BHV-1) *Eur. J. Pharm. Sci.* , 41, 531-545 (2010).
7. Sayın B, Somavarapu S, Li XW, Sesardic D, Dorothea Sesardic, Şenel S, Alpar HO; TMC-MCC (N-trimethyl Chitosan- Mono-N-carboxymethyl chitosan) nanocomplexes for mucosal delivery of Vaccines, *Eur. J. Pharm. Sci.* 38, 362–369 (2009)
8. Sayın B, Somavarapu S, Li XW, Thanou M, Sesardic D, Alpar HO, Şenel S, Mono-N-carboxymethyl chitosan (MCC) and N-trimethyl chitosan (TMC) nanoparticles for non-invasive vaccine delivery, *Int. J. Pharm. –Pharm. Nanotechnology*, 363: 139–148 (2008).



## **Konjüge Pnömokok Aşısı Yerli Üretim Projesi**

Devrim Çavuşoğlu

Pfizer İlaçları Ltd.Şti.

Email: devrim.cavusoglu@pfizer.com

Dünyanın en önemli biyoteknoloji ürünlerinden biri olan konjüge pnömokok aşısı Prevenar 13®'ün Türkiye'deki üretim tesisi, Pfizer ve Mefar işbirliği ile 13 Kasım 2012 itibariyle hizmete açılmıştır. Bu tesiste formülasyon aşamasından başlayacak şekilde gerçekleştirilen aşı üretimi, Türkiye'yi Amerika Birleşik Devletleri ve İrlanda'dan sonra Pfizer'in dünya çapındaki üçüncü üretim merkezi konumuna getirmiştir. Mevcut durumda ülkemizdeki yıllık yaklaşık 7 milyon doz Pnömokok aşısı ihtiyacına cevap verecek seviyede çalışan bu tesisin kurulmuş olan kapasitesi ilerleyen yıllarda artabilecek ihtiyaçlara cevap verecek şekilde planlanmıştır.

Ülkemizi kendi ihtiyacı için Pnömokok aşısı üretecek altyapı ve teknolojiye sahip ilk ve tek ülke konuma getiren bu özel projenin hayata geçirilmesi, T.C. Sağlık Bakanlığı ve Pfizer arasında yapılan anlaşma çerçevesinde, Pfizer'in finansal, teknoloji ve know-how desteği ve Mefar'ın steril enjektabl ürün üretim konusundaki yüksek tecrübe ve bilgi birikiminin birleşmesi sonucunda mümkün olmuştur. Yaklaşık 2 sene süren yoğun ve zorlu bir çalışma sonucunda tamamlanmış olan bu proje ve kapsamındaki teknoloji transferi ile formülasyon, dolum, ambalaj, kalite kontrol testleri, serbest bırakma, aşı takip sistemine uyumluluk, ve soğuk zincir depolama ve sevkiyata hazırlık süreçlerinin tamamını kapsamaktadır. Projenin hayata geçirilmesi için Pfizer Türkiye'den 35 kişilik bir proje ekibi, Pfizer'in global üretim merkezlerinden 25 kişilik uzman bir ekip ve Mefar'dan 30 kişilik bir ekip birlikte çalışmış, süreç boyunca taraflar arasındaki hukuki, ticari ve teknolojik alanlarda çözüm odaklı yaklaşımlar sonraki süreçler için önemli bir başarı kriteri olarak ortaya çıkmıştır.

Formülasyon aşamasından itibaren aşı üretimi konusunda ülkemiz için ilkleri barındıran bu proje için hazırlanan 800 adımlık detaylı proje planının ana başlıkları şu şekildedir;

- Proje Planı ve Proje Ekibinin oluşturulması
- Üretim tesisi ve ekipman yatırımları
- Personel eğitimleri
  - Üretim süreçleri
  - Analitik metot ve kalite kontrol testleri transferleri
- Deneme üretimleri
- Validasyon üretimleri ve stabilite çalışmaları
- Yerli üretim ruhsatlandırma süreci
- Soğuk zincir hazırlama ve sevkiyat prosesleri dizayn ve kalifikasyonları

Ülkemize kazandırdığı bilgi birikimi ve tecrübe açısından da son derece değerli olduğuna inandığımız bu uzun soluklu proje ve teknoloji transferi sürecinin başarılı bir biçimde gerçekleşmesini sağlayan en önemli kritik bileşenleri şu şekilde sıralayabiliriz:

- Proje ile ilgili resmi kurumların yol gösterici yaklaşımı ve desteği
- Detaylı proje planı, hazırlık ve takibi
- Proje ekip üyelerinin tecrübe ve motivasyonu
- Proje ekip üyeleri ve yönetim grubu iletişim ve takip planı
- Teknolojiyi transfer edebilme becerisi

Atılmış bu değerli adımın yetişmiş insan kaynağımız ve sektör paydaşlarımızın değerli katkılarıyla daha da ileriye taşınabileceğine inanıyoruz.

## **Beşeri Aşılarda Ülkemizdeki Mevcut Durum, Planlananlar ve Yapılanlar**

O. Mutlu Topal

Keymen İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş.  
Email: omtopal@keymen.com.tr

Beşeri aşı uygulamaları ile ilgili en eski bilgi M.Ö. 590 yılında Çin'de Sung Hanedanı döneminde çiçek hastalığından korunmak için ciltteki iltihaplı maddenin sağlıklı kişilerin burnunun içine verilmesidir. 1721'de Edirne'de İngiltere Büyükelçisinin eşi olan Lady Mary Wortley Montegue İngiltere'ye yazdığı bir mektupta "İstanbul'da çiçek hastalığına karşı "aşı" denilen bir şey (varilasyon metodu) yapıldığını" yazmıştır. Bu mektup aşı yapımına ilişkin en eski belgedir.

1885'te dünyada ilk defa çiçek aşısı uygulaması için Osmanlı'da kanun çıkarılmıştır. 1886 yılında kuduz aşısının üretilip uygulanması için L. Pasteur'un laboratuvarına eğitime gidilmesinin akabinde 1887 Ocak ayı başında kuduz aşısı Osmanlı'ya getirildi ve Mekteb-i Tıbbiye-i Askeriye-i Şahane'de ilk kuduz aşısı üretildi. Kuduz aşısının keşfinden sadece üç yıl sonra, İstanbul'da kuduz aşısı üretilmeye başlanmıştır. Bu merkez, Dünya'nın üçüncü, Doğu ülkelerinin ise ilk kuduz hastalığı tedavi merkezi olmuştur. 1892'de ilk çiçek aşısı üretim evi kurulmuş ve 1927'de verem aşısı üretimi başlanmıştır. Diğer aşılardan üretilmesi ile gelişen süreç 1998'de tüm aşılardan üretiminin fiilen durdurulması ile sonlanmıştır.

Ülkemizde çocukluk dönemi aşı takvimi ve erişkin dönemi aşı uygulamaları Sağlık Bakanlığı tarafından yürütülmektedir. Çocukluk dönemi aşı programında %95 leri aşan oranlarda aşılama oranlarına ulaşılmışken, erişkin dönemi aşı uygulamalarında aşılama oranları çok düşüktür.

Halen Ege, Erciyes, Dokuz Eylül, Ankara ve Hacettepe Üniversiteleri ile ODTÜ'de aşı üretilmesine yönelik bazı çalışmalar sürdürülmektedir.

Aşı üretiminde ki ana basamaklar

- 1-Propagasyon
- 2-İzolasyon
- 3-Purifikasyon
- 4-Formülasyon

olup, formülasyonun akabinde dolma ve ambalajlama ile ürün pazara sunuma hazır hale gelmektedir.

1998 yılına kadar beşeri aşı üretimlerinin tüm aşamaları ülkemizde yapılmakta idi. 1998 ile 2010 yılları arasında ülkemizde yeniden aşı üretimine başlanması için yapılan pek çok toplantı ve çalışma olmakla beraber bir sonuca ulaşılamamıştır. 2010 yılında Sanofi Pasteur, 2013 yılında BB-NCIPD ve 2014 yılında Sinovac – Keymen firmaları Mefar İlaç da formüle edilmiş dolma hazır bulk aşılardan ülkemizde dolma ve ambalajlanması

süreçlerine başlamıştır. 2012 yılında Pfizer firması üretimde bir önceki basamağa geçerek aşının formülasyonunu Mefar ilaç da yapmaya başlamıştır.

Ülkemizde tekrar beşeri aşı üretiminin başlaması için uzun yıllardır çaba harcayan firmamız Keymen İlaç ise 2013 yılında Hacettepe Üniversitesi ile imzaladığı protokol kapsamında Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi ile ortaklaşa bir Aşı Geliştirme Laboratuvarını açmak için hazırlıklarına devam etmektedir. Ayrıca komple yeni bir tesis kurmak içinde gerekli planlamalarını ve hazırlıklarını yapmakta olan Keymen ilaç, çok yakın bir gelecekte beşeri aşı üretimine başlamayı hedeflemiştir.

## **Aşı Üretiminde Geleceğin Üretim Tesisleri-Prosesleri**

Ömer Cem ERDEM

Sartonet Seperasyon Teknolojileri Ltd. Şti.  
Email: cem.erdem@sartonet.com

Günümüz Aşı ve Biyoteknoloji piyasasında lider olmanın en başlıca sırrı, piyasada diğer bütün rakiplerden daha hızlı olmaktan ve piyasada ilk olabilmekten geçiyor. Özellikle “Geleceğin Tesisi” ile ilgili beklentiler incelendiğinde, geleceğin tesislerinden en önemli beklentinin değişen piyasa şartlarına ve beklentilerine en kolay adapte olabilecek prosese sahip olması, kolayca yeniliklere ve yeni gelişmelere adapte olabilen bir proses olması görülüyor.

Acaba, “Geleceğin Üretim Tesisi” beklentileri ile baktığımızda, Aşı Üretim tesisleri için “Konvansiyonel Paslanmaz Çelik- Çok kullanımlı” sistemler mi daha avantajlı olacaktır? Yoksa en iyi çözüm “Tek- kullanımlık” çözümler midir? Ya da bu iki teknoloji prosesin hangi basamaklarında birlikte kullanıldığında sizlere faydalı olabilecektir.

Bu iki soruyu ele alırken değelerireceğiniz en önemli parametreler nelerdir? “Tek Kullanımlık” ürünler, korkulduğu kadar pahalı ve maliyet arttıran ürünlermidir? Aca hangi alanlarda kullanıldığında hayatımızı kolaylaştırabilecek, maliyetleri azaltabilecektir. Ya da Aşı üretiminin hangi basamaklarında “Singe-Use” kullanımı düşünülmemelidir?

Günümüz Bioproseslerinin en önemli ve üzerinde en çok vakit harcanılan bu sorusu ile ilgili hem yatırımcı hem de kullanıcı açısından en geniş ve kritik bilgileri paylaşacağımız bu sunumda farklı üretim teknolojilerinin fayda ve avantajlarını sergilemeye çalışacağız.

## Ülkemizde Aşı Kalite Kontrol Analizleri ve Seri Serbest Bırakılması

Mehmet Kürşat Derici

Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Analiz ve Kontrol Laboratuvarları Dairesi Başkanlığı, Tıbbi Biyolojik Ürünler Birimi Sıhhiye/ Ankara, 06100, Türkiye  
Email: kursat.derici@titck.gov.tr

Laboratuvarlarımız, 1262 sayılı Umumi Hıfzıssıhha Kanunu gereği ilaç kontrollerini yapmak amacıyla, 1935 yılında Hıfzıssıhha Enstitüsünde 'Farmakodinami şubesi' adıyla kurulmuştur. 1984'de İlaç ve Kozmetikler Araştırma Müdürlüğü adıyla ilaç, kozmetik ve tıbbi cihazların kalite kontrol analizlerini yapmakla görevlendirilmiştir. Bu yapı, 02.11.2011 tarih ve 663 sayılı Kanun Hükmünde Kararname ile "Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu" adını almış olup görevini, halen Destek ve Laboratuvar Hizmetleri Başkan Yardımcılığı'na bağlı olarak Analiz ve Kontrol Laboratuvarları Dairesi Başkanlığı altında, Tıbbi Biyolojik Ürünler Laboratuvarları olarak sürdürmektedir. Laboratuvarımızın görev ve sorumlulukları;

- Üretilen/ithal edilen biyolojik ürünlerin (aşı, bağışık serum, kan ürünü) ulusal ve uluslararası (Dünya Sağlık Örgütü, Avrupa Farmakopesi vb.) düzenlemeler doğrultusunda kalite, güvenlik ve etkinlik kontrollerinin gerçekleştirmek ve Seri Serbest Bırakma Sertifikası vermek.
- Biyoteknolojik ve allerjen ürünlerin, Beşeri Tıbbi Ürünler Ruhsatlandırma Yönetmeliği doğrultusunda CTD formatında yapılan ruhsatlandırma talebi ile gönderilen başvurularının ve varyasyon değişikliklerinin dosya bazında incelemelerini ve analizlerini yapmak
- Biyolojik ürünlerin seri kontrolü, şikayet ve PGD çerçevesinde ürünlerin analizlerinin yapmaktır.

Bu kapsamda, laboratuvarımız Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu ve Türkiye Halk sağlığı kurumundan ruhsat, ithal izni, şikayet, piyasa denetimi veya satınalma başvurusu ile gelen bakteriyel (BCG, ppD, Boğmaca, Difteri, Tetanoz, Pnömoni, Menenjit, HIB vb.) ya da viral aşuların (Polio, Kızamık, Kızamıkçık, Suçiçeği, Kabakulak, Kuduz, Influanza, Hepatid A, Hepatid B, HPV vb.), immün serumların (Difteri, Tetanoz, Akrep, Yılan, Kuduz), allerjen ürünlerin, biyoteknolojik ürünlerin (Eritropoietin, insülin, monoklonal antikorlar vb.) ve Kan ürünlerinin (faktör, albümin, heparin vb.) raf ömrü spesifikasyonunda bulunan tüm kalite kontrol testlerini uygulamaktadır. Bu testler genel olarak; sterilite, fiziko-kimyasal, biyokimyasal, immünokimyasal testler gibi in-vitro testleri ve pirojenite, biyolojik aktivite, akut toksisite gibi in-vivo testleri içermektedir.

Laboratuvarımıza ortalama yılda 500 kadar ürün başvurusu olmakta, bu ürün analizlerinde yaklaşık olarak yılda 16.000 CD1 türü fare, 200 New Zealand türü tavşan, 600 Dunkin Hartley türü kobay kullanılmaktadır. 2014 yılında tamamlanan IPA projesi ile laboratuvarımızın uluslararası akreditasyonu ve EDQM/OMCL ağına katılması konusunda çalışmalar halen devam etmektedir.

## Genişletilmiş Bağışıklama Programı

Osman Topaç

T. C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlık Kurumu, Aşı ile nlenebilir Hastalıklar Dairesi  
Email: topacosman@gmail.com

GBP Boğmaca, Difteri, Tetanoz, Kızamık, Kızamıkçık, Kabakulak, Tüberküloz, Poliomyelit, Hepatit B, Hepatit A, Su ieği ve Hemofilus influenza tip b'ye bağlı hastalıkların morbidite ve mortalitesini azaltarak, bu hastalıkları kontrol altına almak ve hatta tamamen ortadan kaldırmak amacı ile hassas yaş gruplarına enfeksiyona yakalanmalarından önce ulaşıp bağışıklanmalarını sağlamak için yapılan aşılama hizmetlerini içerir. GBP akademisyenlerden oluşan Bağışıklama Danışma Kurulu'nun (BDK) bilimsel desteği ve nerileri doğrultusunda yürütülmektedir.

### GBP Hedefleri:

- Her bir antijen için etkinliği korunmuş aşı ile ülke genelinde %97 aşılama oranına ulaşmak ve devamlılığını sağlamak,
- 12–23 aylık bebeklerin %90'ını tam aşılı hale getirmek,
- 5 yaş altı (0–59 aylık) aşısız ya da eksik aşılı çocukları tespit edip aşılamak,
- Okul ağı çocuklarının rapel aşılarını tamamlamak,
- Tespit edilen tüm gebelere uygun tetanoz difteri aşısı dozunu uygulamak,
- Ülkenin poliomyelitten arındırılmış durumunu sürdürmek,
- Maternal ve Neonatal Tetanozun eliminasyonunu sürdürmek,
- 2015 yılına kadar yerli kızamık virüsünü elimine etmek,
- Kızamıkçık ve Konjenital Rubella Sendromunu kontrol altına almak,
- Difteri, Boğmaca, Hepatit-B, Hepatit A, Suçiçeği, Tüberküloz, Kabakulak ve Hemofilus influenza tip b'ye bağlı hastalıkları kontrol altına almak,
- Aşı güvenliğini sürdürmek,
- Kayıt bildirim sistemini güçlendirmek,
- Toplumun katılımını sağlamak olarak belirlenmiştir.



## GBP Hastalık programları

GBP kapsamında takip edilen hastalıklara özel hastalık kontrol programları:

- Polio Eradikasyon Programı
- Kızamık Eliminasyon Programı
- Maternal ve Neonatal Tetanoz Eliminasyon Programı
- Hepatit B Kontrol Programı
- 1. Diğer Hastalık Kontrol Programları:
  - a. Difteri
  - b. Boğmaca
  - c. Kızamıkçık ve Konjenital Rubella Sendromu
  - d. Kabakulak
  - e. Hemofilus influenza tip b
  - f. Tüberküloz
  - g. Hepatit A
  - h. Su Çiçeği

## Soğuk zincir

Soğuk zincir, bir aşının etkinliğini üretiminden kişiye uygulanana kadar koruyan ve ihtiyacı olanlara yeterli miktarda etkin aşının ulaşmasını sağlayan insan ve malzemeden oluşan sistemdir. Kullanılan aşilar etkin değilse, %100 aşılama oranlarına ulaşılsa bile bağışık bir toplum oluşturma hedefine ulaşamayacaktır. Tüm aşilar ısıya hassastır. İdeal sıcaklık +2 - +8 C'dir. Yüksek ısı, kümülatif ısı artışına maruziyet ve donma aşiların etkinliğini bozar. Ayrıca BCG, Kızamık, KKK, Kızamıkçık aşiları güneş ışığı gibi ultraviyoleye de hassastır.

## Aşı sonrası istenmeyen etki (ASİE):

Aşı uygulanan bir kişide, aşı sonrası ortaya çıkan, bilinen aşı yan etkisi ya da aşıya bağlı olduğu düşünülen herhangi bir istenmeyen tıbbi olay ASİE olarak tanımlanmaktadır. Ülkemizde kullanılan aşilar DSÖ tarafından önerilen ve onaylanan İyi Üretim Prosedürleri (GMP) kurallarına uygun üretilmiş ve uluslararası referans laboratuvarlarında test edilmiş olan aşilardır. Ayrıca kullanılacak Ulusal Referans Laboratuvarlarımızda da test edilmekte ve uygun olduğu kanıtlanan aşiların kabulü yapılmaktadır.

ASİE izleme sisteminin temel amacı aşılama hizmetinin kalitesini iyileştirmek ve aşılamanın kabul edilebilirliğini arttırmaktır. Bu amaca ulaşmada uygulanacak stratejiler; 1. Meydana gelen istenmeyen olguları düzenli olarak izlemek, analiz etmek ve yorumlamak, 2. Ciddi istenmeyen etkiler görüldüğünde bunların aşıya bağlı olup olmadığını ortaya koymak, 3. Program uygulama hatalarına neden olan sorunlara müdahale etmek, 4. Aşı yan etkilerinde beklenenin üzerinde bir yükseliş görülürse müdahale etmek, 5. Müdahaleler ve uygun iletişim kanalları ile halkın aşılama programına güvenini sağlamak olarak belirlenmiştir.



### **Isı ve stok takip sistemi**

- Aşı ve antiserumların üretiminden uygulandığı âna kadar hangi ısı aralıklarında kaldığının Bakanlık, Halk Sağlığı M¼d¼rl¼đ¼, TSM, ASM ve diğer sağlık kuruluşlarınca takibi, SMS ve e-posta ile alarm verilmesi.
- Aşı ve antiserumların stok takibi, karekodun okutularak kişilere uygulanması, T.C. No. ile Seri ve Lot Numaraları eşleştirilmesi ve Sağlık Net ile entegrasyonu.

## **Ulusal Aşı Kapasitesini Geliştirmeye Yönelik Politikalar**

Emin Turan

Sanofi Pasteur A.Ş.

Email: emin.turan@sanofipasteur.com

Ulusal Aşı Kapasitesi (UAK), bir ülkede aşilar ile ilgili Ar-Ge, Üretim, Stoklama ve Dağıtım konusunda yerel yeterlilik düzeyi olarak tanımlanabilir. Bu konuşmada özellikle yerli aşı üretimini destekleyici politikalar üzerinde durulacaktır.

Halk sağlığının iyileştirilmesinde temiz su kaynağından sonra en büyük etkiye sahip olan sağlık uygulamasının aşılama olduğu bilinmektedir. Dünyanın birçok ülkesi, aşılı stratejik öncelik olarak görmekte ve ülkenin UAK'nin geliştirilmesi için politikalar uygulamaktadır. Ayrıca ülkeler üstü kuruluşların politikaları da dünya geneli aşı kapasitesi açısından daha fazla önem kazanmaya devam etmektedir.

Dünyada aşı ve bağışıklama “ekosistemi”, 19.yüzyılda E. Jenner, L. Pasteur gibi “Aşı Öncüleri” ve ardından yüzlerce ulusal aşı üreticisinin ortaya çıktığı ilk iki dönemle başlar. Takiben Global Aşı Programları ve Genişletilmiş Bağışıklama Programı kavramları yerleşmiş, Çiçek hastalığının eradikasyonu ile bağışıklamanın önemi iyice belirginleşmiştir. Artan kapasite ihtiyacı ile birlikte “Daralma” dönemi başlamış; birçok üretici yükselen standartlarla üretimi sürdürememiş, ciddi ürün yoklukları yaşanmıştır. Günümüzde ise bir yandan büyük filantropistler ve Batılı ülkeler, GAVI benzeri kuruluşlar kanalıyla aşılı erişimi yaygınlaştırmaya çalışmakta, bir yandan birçok ülke UAK'ni geliştirmeyi amaçlamaktadır.

Ülkelerin UAK'ni güçlendirmek isteğı, temelde “Ekonomi” ve “Sağlık Stratejisi” önceliklerine dayanır. Ekonomik nedenler, aşının yüksek (biyo)teknoloji ürünü olması, yüksek katma değer ve nitelikli işgücü yaratması, ithalat bağımlılığını azaltmak, ihracatı desteklemek olarak özetlenebilir. Sağlık Stratejisi içinde aşılı erişim (yokluklardan etkilenmemek), güvenlik (epidemi/pandemi durumlarında aşılı ulaşım) ve ülkeye/bölgeye özel hastalıklara karşı önceliklendirme sayılabilir.

UAK'nin geliştirilmesi için ülkenin inovasyon ve yatırım iklimi en önemli faktörlerdir. Uygun inovasyon iklimi için Üniversitelerin araştırma kapasitesi, teknoparklar, destekleyici programlar, ulusal enstitüler, patent ofisleri gibi faktörlerin varlığı önemlidir. Yatırım iklimi ise, çeşitli kanallarla verilebilecek teşvikler, ödüllü yarışmalar, patent haklarını koruyan yasalarla gelişir.

UAK'ni geliştirmeye yönelik programların verimli olması için stabil, uzun soluklu olmaları önemlidir. Aşı yüksek yatırım gerektiren, know-how'a bağımlı, uzun süreçleri içeren, değişen standartlarla sürekli yatırım gerektiren bir üründür ve destek programları bu durumu göz önüne almalıdır. Bazı gelişen ülkelerde zamanla değişen politikalar, aşı yatırımlarının verimsizleşmesi, hatta sonlanması sonucunu doğurmuştur.

Bir diğer faktör, politika ve teşvik planlarının gerçekçi, uygulanabilir ve kademeli projelendirme temeline dayalı hazırlanması ve takip sisteminin iyi kurulmasıdır. Teşvik edilecek projenin karmaşıklığı, uygulama süresi ve kademeleri dikkatle ele alınmalıdır. Aşı projelerinde gerekli altyapı ve ilgili deneyim oluşmadan daha karmaşık aşamalara geçmek, ilk adımlarda yakalanabilecek başarıların da düşmanı olabilir.

Bugün birçok ülke UAK'ni geliştirmek için politikalar ve teşvik modelleri geliştirmekte, bu ülkelerin birçoğu aşı ihracatını da hedeflemektedir. Bu anlamda ülkelerin programlarını oluştururken ne tür aşuları destekleyeceklerinin kararını, yerel ihtiyaçlara ek olarak dünya genelindeki mevcut durumu ve uzun vadeli senaryoları da dikkate alarak kararlaştırmaları, projelerin hem kısa, hem de uzun dönemli başarı ve devamlılığını teminat altına alacaktır.

Son olarak, aşı ile ilgili projelerin "alıcı-satıcı" ilişkisinden çok, bir "Halk Sağlığı Ortaklığı" yaklaşımı içerisinde değerlendirilmesi ve uygulanması büyük önem taşır. Destekçi tarafında sadece ekonomik parametrelerin, uygulayıcı tarafında ise sadece kısa vadeli kazancın ön planda olduğu bir aşı projesi, risk altındadır. Aşı projeleri çoğunlukla karmaşık ve sürekli güncelleme gerektiren süreçleri içerirler. Ortaklık felsefesi ile yürütülen projelerin, başlangıç anından itibaren başarıya ulaşma şansı daha yüksektir.

Ülkede yeni, başarılı her aşı projesi uygulaması, ülkedeki know-how'ı ve en önemlisi kalifiye çalışan sayısını artıracak, bu kişilerin zamanla farklı üretim uygulamalarında ve projelerde yer alması Ulusal Aşı Kapasitesini gittikçe daha büyük bir hızla artıran faktörler olacaktır.

## ***POSTER BİLDİRİ ÖZETLERİ***

---



## Poster Konusu: Aşı adayı antijen keşfi ve tasarlanması

P-1

### Kutanöz Leishmaniasis'e Karşı Tanı Kiti Oluşturmak Üzere Hibridoma Teknolojisine Dayalı Poliklonal Antikorların Üretilmesi

Adil Allahverdiyev, Aslı Pınar Zorba, Melahat Bağirova, Gülnaz Yıldırım Köken, Emrah Şefik Abamor<sup>1</sup>

Yıldız Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, Hücre Kültürü ve Doku Mühendisliği Laboratuvarı, Esenler/İstanbul, 341220 Türkiye  
Email: dr.melahatb@gmail.com

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Leishmaniasis Dünya Sağlık Örgütü'nün belirlediği Tropikal Hastalıklar Listesi'ndeki 6 hastalıktan biri olup, dünyanın ve ülkemizin ciddi halk sağlığı problemlerinden biridir. Hastalığın yaygın olmasının nedenlerinden biri hastalığın tedavisinde yaşanan zorluklar ve şimdiye kadar etkin bir aşının geliştirilememesidir. Ayrıca hastalığın tanısında çeşitli yöntemler mevcut olmasına rağmen, hala altın standart olan bir tanı yöntemi geliştirilmemiştir. Bu açıdan günümüzde hibridoma teknolojisine dayalı tanı kitlerinin geliştirilmesine daha çok önem verilmektedir. Dünyada kutanöz leishmaniasisin etkeni olan *L.tropica*'nın farklı epitoplarına özgü hibridoma teknolojisine dayalı yapılan çalışma sayısı oldukça azdır. Ülkemizde ise bu konuyla ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamaktadır. Bu çalışmada ilk kez olarak *L.tropica*'nın antijenlerine karşı hibridoma teknolojisine dayalı poliklonal antikorların üretilmesi incelenmiştir.

**MATERYAL ve METOD:** Dondurup-çözme yöntemi kullanılarak *L.tropica*'dan tüm antijen eldesi gerçekleştirilerek, antijenler 6-8 haftalık Balb-C farelere farklı adjuvantlar aracılığıyla verildi. İmmünizasyon sonucunda en yüksek yanıt alınan fareler servikal dislokasyon yöntemi ile öldürülerek dalaklarından B-lenfosit izolasyonu yapıldı ve eş zamanlı olarak Azoguanin-8'e maruz bırakılmış myeloma hücreleri(P3-X63-Ag8.65) ile polietilen glikolün aracılığıyla füzyonu gerçekleştirildi. Füzyon sonrası hücrelerin seçici besiyeri içerisinde eliminasyonu sağlanmış olup, hibridoma hücrelerinde oluşan *L.tropica* antijenlerine karşı antikor yanıtları belirli günlerde ELISA kaplama yapılarak incelendi.

**SONUÇ:** Füzyon sonrası 10. ve 20. Günlerde yapılan ELISA sonuçlarına göre hibridoma hücrelerinin belirli titrelerde tüm *L.tropica* parazit antijenlerine karşı antikor yanıtı oluşturduğu saptandı. 20.gün sonundaki ELISA sonucunda antikor miktarının 10.gün sonunda yapılan ELISA sonucuna göre daha yüksek seviyede olduğu tespit edildi.

**TARTIŞMA:** Dondurma çözme yöntemi ile elde edilen *L.tropica* parazitlerinin antijen kokteyllerine karşı oluşan B-lenfositleri ile myeloma hücrelerinin füzyonu sonucunda oluşan hibridomaların poliklonal antikor ürettiği ve tanı amaçlı kullanılabileceği ortaya çıkmıştır. Çalışmalarımızın sonraki aşamasında alt klonlamaya geçilerek *L.tropica*'ya

karşı monoklonal antikorların elde edilmesi, tanı kitinin geliştirilmesi ve kitin kütanöz leishmaniasis ile enfekte olmuş deney hayvanlarında ve hastalık açısından endemik olan bölgelerdeki hastalar üzerinde incelenmesi planlanmaktadır.

**TEŞEKKÜRLER:** Bu çalışma T.C. Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı tarafından desteklenmiştir. (Proje no: 0254.STZ.2013-2). Ayrıca myeloma hücre hattını tarafımıza sağlayan Ege Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. S. İsmet Deliloğlu GÜRHAN'a ve Arş. Gör. Mehmet Özgün ÖZEN'e teşekkür ederiz.

## HER2 pozitif meme kanserine karşı aşı adayı antijenik epitopların biyoinformatik yöntemlerle belirlenmesi

Müge Anıl<sup>1,2</sup>, Esra Atalay Şahar<sup>3</sup>, Mert Döşkaya<sup>4</sup>, Hüseyin Can<sup>3</sup>, Yüksel Gürüz<sup>4</sup>, Sultan Gülçe İz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Ana Bilim Dalı, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>3</sup>Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji Bölümü, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>4</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

Email: anl.muge@gmail.com

**GİRİŞ ve AMAÇ:** ErbB2 geninin ürünü olan epidermal büyüme faktörü 2 (HER2)'nin fazla ekspresyonu meme kanserinde tümör agresifliği ve zayıf prognoz ile ilişkilidir ve HER2 pozitif meme kanserleri tüm meme kanserlerinin yaklaşık olarak %20'sini oluşturmaktadır. Bu sebeple HER2 meme kanseri hastalarının tedavisinde kritik bir hedef haline gelmiştir.

Bu çalışmada sıçan HER2 pozitif tümörü oluşturulan fare modeline karşı sıçan HER2 ekstraselüler domainin biyoinformatik yöntemlerle incelenip klinik öncesi çalışmalarda kullanılmak üzere antijenik epitoplarının saptanması hedeflenmiştir. Çalışmanın diğer bir hedefi ise hayvan modelinde çalışmalar sonrasında klinik çalışmalarda kullanılmak üzere insan HER2 ekstraselüler domainin biyoinformatik yöntemlerle incelenip antijenik epitoplarının saptanmasıdır.

**MATERYAL ve METOD:** Antijenik epitop belirleme programı, Immunoepitope Database and Analysis Resource ([www.iedb.org](http://www.iedb.org)) kullanılarak MHC-1 hücre epitopları saptanmıştır. Sıçan HER2 ekstraselüler domaini için MHC-1 analizi; sınıflama yüzdesi 2.5'ten küçük olacak şekilde seçilerek yapılmıştır. Ayrıca immün epitop seçiminde HER2 ekstraselüler domaini üzerinde daha önce immünojenitesi gösterilen 1-106, 267-376 ve 487-596 aa (amino asit) dizileri de dikkate alınmıştır (1). İnsan HER2 ekstraselüler domaini için MHC-1 analizi ise; HLA-A\*02:06, HLA-A\*31:01, HLA-B\*35:01, HLA-B \*54:01 allelleri için ve sınıflama yüzdesi 2'den küçük olacak şekilde seçilerek yapılmıştır (2). Ayrıca Trastuzumab, Pertuzumab bağlanma bölgeleri ve heterodimerizasyon bölgesi de dikkate alınmıştır (3).

**SONUÇ:** Sıçan HER2 ekstraselüler domaini üzerinde 11 adet 2.5'ten küçük 15 aa'lık immün epitop belirlenmiştir. Bu epitopların 9 adedinin daha önce çalışmalarda immünojenitesi gösterilen 1-106, 267-376 ve 487-596 aa parçaları üzerinde bulunduğu 2 adedinin ise bu parçaların dışında kaldığı görülmüştür. İnsan HER2 ekstraselüler domaini üzerinde ise 144 adet sınıflama yüzdesi 1 ve 1'den küçük aa dizisi saptanmıştır. Bu aa dizilerinden 12 adedi daha önce meme kanseri hastalarında fazlalığı gösterilen HLA-A\*02:06, HLA-A\*31:01, HLA-B\*35:01, HLA-B \*54:01 allelleri üzerindedir.



**TARTIŞMA:** Bu çalışmada sıçan HER2 ekstraselüler domaini üzerinde belirlenen 9 adet 15aa'lık immün epitopun klinik öncesi fare modelinde DNA ve rekombinant protein aşısı şeklinde kullanılabileceği düşünülmektedir. İnsan HER2 ekstraselüler domaini üzerinde belirlenen 12 adet immün epitobun ise fare çalışmalarının ardından klinik çalışmalarda DNA ve rekombinant protein aşısı şeklinde kullanılabileceği düşünülmektedir.

**KAYNAKLAR:**

1. Marchini, C., Kalogris, C., Garulli, C. et al., 2013, Tailoring DNA vaccines: designing strategies against HER2-positive cancers, *Frontiers in Oncology*, 3(122): doi: 10.3389/fonc.2013.00122.
2. Tsuda, B., Kametani, Y., Goto, Y., et al., 2012, A Human B cell receptor epitope-based erbB-2 peptide (N: 163-182) with pan-reactivity to the T cells of japanese breast cancer patients, *Vaccines & Vaccination*, 3(7): doi: 10.4172/2157-7560.1000159.
3. Deng, X., Zheng, X., Yang, H., et al., 2014, Comparative analysis of evolutionarily conserved motifs of epidermal growth factor receptor 2 (HER2) predicts novel potential therapeutic epitopes, *PLOS ONE*, 9(9): e106448. doi:10.1371/journal.pone.0106448.

## ***Plasmodium falciparum* sıtmasına karşı multi-stage aşı geliştirmede kullanılabilir multi-epitop proteinin biyoinformatik yöntemlerle tasarlanması**

Hüseyin Can<sup>1</sup>, Esra Atalay Şahar<sup>1</sup>, Muhammet Karakavuk<sup>2</sup>, Sultan Gülçe İz<sup>3</sup>, Aysu Değirmenci Döşkaya<sup>2</sup>, Yüksel Gürüz<sup>2</sup>, Mert Döşkaya<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji Bölümü, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>2</sup> Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>3</sup> Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye  
Email: mkarakavuk@gmail.com

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Sıtma insanların en önemli paraziter hastalığı olup, dünyada her yıl yaklaşık 250 milyon kişi sıtma ile enfekte olmakta ve 800 bin kişi ölmektedir. Yıllarca ihmal edildikten sonra, sıtma ile şavaş için son yıllarda uluslararası fonlar oluşturulmuştur. Bu kapsamda; Artemisin dayanaklı kombine tedavi (ACT), insektisit emdirilmiş cibinlikler (ITNs) ve vektörlerle mücadele yöntemleri kullanılmıştır. Ancak sıtma görülen yerlerdeki altyapı sorunları, oluşan artemisin ve insektisit direnciden dolayı bu uygulamalar yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle sıtma kontrolü ve eliminasyonunda en önemli anahtar etkili aşı geliştirmektir. Sıtmada konakta gelişim dönemleri ve konak immunitesi; pre-eritrositer dönem, aseksüel eritrositer dönem ve gametositik dönem olmak üzere 3 dönemde incelenir. Aşı çalışmaları da bu 3 döneme paralel olarak ilerlemektedir. Pre-eritrositer dönem aşıları: serbest sporozoitlere ve infekte hepatositlere karşı oluşturulan aşılar; Aseksüel eritrositer dönem aşıları: merozoitler, şizontlar ve infekte eritrositlere karşı oluşturulan aşılar; Transmission-blocking aşılar ise gametositlere ve ookinete karşı oluşturulan aşılardır. Bu çalışmada *P. falciparum* sıtmasına karşı DNA ve rekombinant aşılarda kullanılabilir proteinlerin biyoinformatik analizi yapılarak antijenik epitoplarının saptanması amaçlanmıştır.

**MATERYAL ve METOD:** *P. falciparum*, CSP ve LSA-1 proteinleri pre-eritrositer dönem, MSP-2 ve CSA-L proteinleri eritrositer dönem ve yüzey protein 25 ise gametositik dönem proteini olarak seçilmiştir. Bu proteinlerin aminoasit ve nükleik asit dizileri [www.plasmodb.org](http://www.plasmodb.org) ve [www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/) veri tabanlarından elde edilmiştir. MHC-1 ve MHC-2 ve B hücre epitop analizleri [www.iedb.org](http://www.iedb.org) ve [sysbio.unl.edu/SVMTRIP/](http://sysbio.unl.edu/SVMTRIP/) epitop programları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. MHC-1 analizi ve MHC-2 analizleri 2 farklı yöntemle yapılmıştır. MHC-1 epitopları saptanırken hedef genler literatürde kullanılan üç allel (HLA-A24, HLA-B14, HLA-B35) ve 53 adet allel içeren tüm referans set ile analiz edilmiştir. MHC-2 epitopları, iki allel (HLA DRB1 1302, HLA DQB1 0501) ve 27 adet allel içeren tüm referans seti kullanılarak ortaya konmuştur. Son olarak N ve O glikolizasyon analizleri; [www.cbs.dtu.dk/services/NetNGlyc/](http://www.cbs.dtu.dk/services/NetNGlyc/) ve [www.cbs.dtu.dk/services/NetOGlyc/](http://www.cbs.dtu.dk/services/NetOGlyc/) glikolizasyon biyoinformatik yöntemleri ile gerçekleştirilmiştir.

**SONUÇ:** İki farklı allel seti kullanılarak iki farklı büyüklükte protein dizisi oluşturulmuştur. MHC-1 analizi sonucu CSP'de 6, LSA-1'de 4, MSP-2'de 4, CSA-L'de 4 ve yüzey protein 25'de 3 epitop bölgesi bulunurken tüm alleller kullanıldığında iç içe girmiş, CSP'de 56, LSA 1'de 68, MSP-2'de 70, CSA-L'de 110 ve yüzey protein 25 de 86 tane epitop bölgesi bulunmuştur. MHC-2 analizinde iki allel kullanılması sonucu CSP'de 2, LSA-1'de 6, MSP-2'de 9, CSA-L'de 2 ve yüzey protein 25'de 3 epitop bölgesine rastlanırken tüm referans set kullanıldığında CSP'de 120, LSA-1'de 131, MSP-2'de 102, CSA-L'de 183 ve yüzey protein 25'de 105 epitop bölgesi saptanmıştır. B hücre epitop analizinde 6 epitop CSP ve MSP-2'de, 4 epitop LSA-1'de, 2 epitop CSA-L'de ve 5 epitop yüzey protein 25'de bulunmuştur. Tüm analizler sonucu 75 ve 125 kilodalton büyüklüğünde iki protein dizisi elde edilmiştir.

**TARTIŞMA:** MHC-1 ve MHC-2 analizleri tüm alleller ile gerçekleştirildiğinde ortaya çıkan epitop sayısı artmıştır. Allel sayısının yükselmesi proteinin antijenik özelliğini artırması beklenmektedir. Bu çalışmada geliştirilen iki farklı büyüklükteki multi-epitop protein ile *P. falciparum* sıtmasına karşı multi-stage DNA ve Rekombinant protein aşısı geliştirilmesi mümkündür.

## ***Plasmodium falciparum* sıtmasının fare modeli olan *P. berghei*'nin bütün dönemlerine etkili multi-epitop aşısı adayları antijenin biyoinformatik yöntemlerle geliştirilmesi**

Muhammet Karakavuk<sup>1</sup>, Esra Atalay Şahar<sup>2</sup>, Hüseyin Can<sup>2</sup>, Sultan Gülçe İz<sup>3</sup>, Aysu Değirmenci Döşkaya<sup>1</sup>, Yüksel Gürüz<sup>1</sup>, Mert Döşkaya<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>2</sup> Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji Bölümü, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>3</sup> Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

Email: mkarakavuk@gmail.com

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Sıtma Dünya'daki en önemli paraziter hastalıktır. Her yıl çoğunluğu çocuklar olmak üzere yaklaşık 800 bin kişi sıtmadan dolayı hayatını kaybetmektedir. Bu sebeple hastalığın kontrolü için yoğun çaba harcanmaktadır. Bu kapsamda etkili aşısı geliştirme en büyük hedeflerdendir. Aşısı çalışmalarında hayvan modelleri önemli yer tutmaktadır. Bu kapsamda fare, gece maymunu (*Simia trivirgata*), rhesus maymunu (*Macaca mulatta*) gibi hayvanlar kullanılmaktadır. *Plasmodium berghei* ve *P. yoelii* fare hayvan modellerinde en çok kullanılan sıtma türleridir. Farelerde benzer patolojik bozukluklar oluşturmamasından dolayı *P. berghei*, *P. falciparum* sıtması için en çok tercih edilen hayvan modelidir. Bu çalışmada *P. falciparum* sıtmasının fare modeli olan *P. berghei*'ye karşı DNA ve rekombinant aşılarda kullanılacak aşısı adayları proteinlerin biyoinformatik yöntemlerle incelenip antijenik epitoplara saptanması hedeflenmiştir.

**MATERYAL ve METOD:** *P. berghei*'ye ait pre-eritrositer dönem; CSP ve LSA-1, eritrositer dönem; MSP-4/5 ve CSA-L ve gametositik dönem; Pbs25 proteinleri incelenmiştir. [www.plasmodb.org](http://www.plasmodb.org) ve [www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/) veri tabanları kullanılarak seçilen proteinlerin aminoasit ve nükleik asit dizileri belirlenmiştir. Antijenik epitop programı, [www.iedb.org](http://www.iedb.org) ve [sysbio.unl.edu/SVMTriP](http://sysbio.unl.edu/SVMTriP) kullanılarak MHC-1 ve B hücre epitoplara saptanmıştır. MHC-1 analizi; H-2-Db ve H-2 Dd allelleri ve tüm allelleri kullanılarak 2 farklı şekilde yapılmıştır. N ve O glikolizasyon analizleri, [www.cbs.dtu.dk/services/NetNGlyc/](http://www.cbs.dtu.dk/services/NetNGlyc/) ve [www.cbs.dtu.dk/services/NetOGlyc/](http://www.cbs.dtu.dk/services/NetOGlyc/) glikolizasyon biyoinformatik programları ile yapılmıştır.

**SONUÇ:** MHC-1 epitop analizinde iki (H-2-Db ve H-2 Dd) ve altı allel (H-2-Db, H-2 Dd, H-2-Kb, H-2-Kd, H-2-Kk, H-2-Ld) serisi kullanılması ile iki farklı büyüklükte protein dizisi tasarlanmıştır. H-2-Db ve H-2 Dd allelleri kullanımı sonucu CSP'de 1, LSA-1'de 4, MSP-4/5' de 2, CSA-L'de 2 ve Pbs 25'de 2 tane MHC-1 epitop bölgesi bulunmuştur. Altı allel kullanıldığında kullanıldığında CSP'de 3, LSA 1'de 13, MSP-4/5'de 5, CSA-L'de 15 ve Pbs25'de 18 tane MHC-1 epitop bölgesi bulunmuştur. B hücre epitop analizinde; 4 epitop CSP, 3 epitop MSP-4/5, 10 epitop LSA-1, 2 epitop CSA-L ve 5 epitop yüzey protein 25'de saptanmıştır. Saptanan epitop bölgeleri birleştirildiğinde 74 ve 97 kilodalton büyüklüğünde iki protein dizisi oluşmuştur.

**TARTIŞMA:** İki farklı allel seti ile yapılan MHC-1 analizleri sonucu iki farklı büyüklükte protein tasarlanmıştır. Altı allel içeren set kullanımında epitop sayısı, iki allel kullanımında ortaya çıkan epitop sayısından fazladır. Bu çalışmada biyoinformatik analizlerle geliştirilen multi-stage ve multi-epitop proteinlerin DNA ve rekombinant protein sıtma aşısı modellerinde kullanılabileceği düşünülmüştür.

## ***Toxoplasma gondii*'ye Ait Antijenik Proteinler Arasından Aşı Adayı Olabilecek Proteinlerin Biyoinformatik Yöntemlerle Belirlenmesi**

Esra Atalay Şahar<sup>1</sup>, Mert Döşkaya<sup>2</sup>, Hüseyin Can<sup>1</sup>, Sultan Gülçe İz<sup>3</sup>,  
Aysu Değirmenci Döşkaya<sup>2</sup>, Mina Kalantari-Dehaghi<sup>4</sup>, Remziye Deveci<sup>1</sup>,  
Yüksel Gürüz<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji Bölümü, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>2</sup> Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>3</sup> Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>4</sup> California Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, CA 92617, A.B.D.

Email: esra.atalay.sahar@gmail.com

**GİRİŞ ve AMAÇ:** *Toxoplasma gondii*, toksoplazmozis enfeksiyonuna neden olan, hemen hemen her sıcakkanlı hayvanı, kuş türlerini ve insanları enfekte edebilen bir zorunlu hücre içi parazittir. İnsan yaşamını tehdit eden ağır klinik tablolar oluşturmasının yanında, hayvanlarda oluşturduğu enfeksiyon ile ekonomik zararlara da neden olmaktadır. *T. gondii*'ye karşı geliştirilecek aşı, toksoplazmozis enfeksiyonundan ve yarattığı zararlardan korunmak için büyük önem taşımaktadır. Aşı geliştirmede ise en kritik nokta antijen keşfi ve doğru antijenin kullanılmasıdır.

*T. gondii*'ye karşı konak korunmasında başlıca doku uygunluk kompleksi (MHC) immun cevabın regülasyonunda önemli rol oynamaktadır. Peptitlerine ayrılmış olan antijenik protein MHC tarafından T hücrelerine sunulmaktadır. T hücreleri MHC moleküllerinin sunduğu epitop bölgeleri ile bağlanarak immun yanıtı uyarmaktadır. Bu sebeple bu çalışmada aşı adayı 49 protein içinden Tc hücrelerinin bağlanacağı MHC-I ve B hücre epitop bölgelerinin araştırılması hedeflenmiştir. Ayrıca *T. gondii*'nin ökaryotik bir organizma olmasından dolayı epitop bölgelerinin glikozilleneceği ve bu durumun immun cevabı etkileyeceği göz önüne alınarak N-bağlı glikozilasyon ve O-bağlı glikozilasyon bölgelerinin de belirlenmesi hedeflenmiştir.

**MATERYAL ve METOD:** Çalışma grubumuz tarafından protein mikroarray taraması ile belirlenen 49 aşı adayı antijenik protein Immune Epitope Database and Analysis Resource (<http://tools.immuneepitope.org/mhci/>) programı ile Tc MHC-I epitop bölgeleri analiz edilmiştir. B hücre epitop analizinde ise SVMTriP programı (<http://sysbio.unl.edu/SVMTriP/prediction.php>) kullanılmıştır. N- ve O- bağı glikozilasyonlar NetNGlyc 1.0 Server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetNGlyc/>) ve NetOGlyc 4.0 Server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetOGlyc/>) adlı programlar kullanılarak analiz edilmiştir.

**SONUÇ:** Aşı adayı olarak belirlenen 6 proteinde sırasıyla 10 (%1,38), 10 (%1,38), 10 (%0,95), 8 (%2,2), 5 (%1,6) ve 4 (%1,69) adet B lenfosit epitopu bulunmaktadır. MHC I epitopları ise rD6, rH6, rA4, rE4, rH2 ve rE6 proteinlerinde sırasıyla 13 (%1,79), 12 (%1,14), 10 (%3,19), 10 (%2,75), 9 (%3,81) ve 8 (%1,11) adet bulunmaktadır.

Aşı adayı rD6, rA4, rE6 ve rH6 proteinlerinde sırasıyla 3 (%0,41), 2 (%0,64), 2 (%0,28), 2 (%0,19) adet N-bağlı glikozilasyon bölgesi bulunmaktadır. rH2 ve rE4 proteinlerinde N-bağlı glikozilasyon bölgesi bulunmamaktadır. O-bağlı glikozilasyon bölgeleri ise rH6, rE6, rD6, rE4, rA4 ve rH2 proteinlerinde sırasıyla 81 (%7,7), 69 (%9,54), 53 (%7,29), 21 (%5,77), 6 (%1,92) ve 4 (%1,69) adet bulunmaktadır

Aşı adayı 6 proteinin epitop bölgelerindeki glikozilasyon miktarı incelendiğinde B epitop bölgesinde N-bağlı glikozilasyon bölgesi bulunmadığı, O-bağlı glikozilasyonun ise rD6, rE6, rH6, rE4, rA4 proteinlerinde sırasıyla 18, 18, 10, 9 ve 2 adet olduğu saptanmıştır. MHC I epitop bölgesinde N-bağlı glikozilasyon bölgesi rD6 ve rH6 proteinlerinde sadece birer adet bulunduğu, O-bağlı glikozilasyonun ise rE4, rD6, rH6 ve rE6 proteinlerinde sırasıyla 7, 7, 5 ve 4 adet olduğu saptanmıştır.

**TARTIŞMA:** Bu çalışma ile 49 aşı adayı olabilecek antijenik protein içinden 6 tanesi biyoinformatik analiz sonucunda seçilmiştir. Bu proteinlerle geliştirilecek aşı formülasyonunun kuvvetli hücresel ve humoral yanıt uyarması beklenmektedir.

**TEŞEKKÜRLER:** Bu proje TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (Proje no: SBAG 110S200)

## Kütle Spektrometresi ile Aşı Adayı Antijenlerin Fosfoproteomiks Karakterizasyonu

Umut Şahar<sup>1</sup>, Hüseyin Can<sup>1</sup>, Mert Döşkaya<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

Email: umutsahar@yahoo.com

Proteinler üzerinde oluşan fosforilasyon, sık rastlanan ve çok önemli kovalent bağlı bir post-translasyonel modifikasyondur (PTM). Protein üzerindeki fosforilasyon; serin (Ser), treonin (Thr) ve tirozin (Tyr) aminoasitlerinin hidroksil gruplarında meydana gelmektedir. Fosforilasyonda kinaz enzimleri Ser, Thr veya Tyr aminoasitlerini fosforlama işlevini yaparken fosfataz enzimleri fosfor içeren grupları kesmektedir. Fosforilasyonun da içinde olduğu sinyal yollarındaki düzensizlikler veya değişiklikler tümöre dönüşümün belirteçidir.

Fosfo-protein/peptit üzerindeki fosfo-modifikasyonların incelenmesi için bazı metotlar geliştirilmiştir. Genellikle analiz öncesinde ilk olarak, konsantre biçimde fosfopeptidlerin elde edilebilmesi için metal afinite kromatografisi, katyon-değişim kromatografisi, peptit immün çöktürme gibi yöntemler uygulanmaktadır. Daha sonra fosforilasyon noktalarının belirlenmesinde özellikle kütle spektrometresi (MS ve MS/MS) ve kütle spektrometresi dışında da 2D jel elektroforezi, 32P-işaretleme tekniği ve PAGE sonrası radyo görüntüleme sistemleri gibi diğer yöntemlerde kullanılabilmektedir. Ayrıca kromatografik veya Edman degradasyonu ile de fosforilasyon bölgeleri belirlenebilmektedir. LC-MS/MS sistemi ile analizde fosfopeptit iyonlarının parçalanması sonrası fosforik asit yapıdan uzaklaştırılmakta (neutral loss) ve fosforilasyon bu şekilde (98 Da kayıp kütle sayesinde) tespit edilebilmektedir. Ek olarak MALDI-MS sistemi ile de fosfat analizi yapılabilmekte ve bu analizde fosfataz enzimi kullanılarak orijinal peptit ve enzimle muamele edilmiş peptit arasındaki 80 Da kütle farkının saptanması sonucu yapının fosfatlı olduğu anlaşılmaktadır.

Fosfoproteinlerin parçalanmasıyla oluşan fosfopeptitler ile kansere özgü MHC-I ve II oluştuğu ve bu yapıların T hücrelerince tanındığı ve ayrıca lösemi örneklerinden izole edilen fosfopeptidlerin sağlıklı hücrelerde immün yanıt oluşturduğu bildirilmiştir. MHC-I ile ilişkili bu antijenik fosfopeptitlerin kanser immunoterapisinde işlevsel olabileceği belirtilmektedir. Fosforilasyon noktasının belirlenmesi ile kinaz-substrat ilişkisi, sinyal yolları, protein-protein ilişkisi aydınlatılabilmekte ve böylece hastalıkların nedenleri açıklanabilmektedir. Ayrıca aşı adayları antijenlerin üretim öncesinde fonksiyonel niteliklerinin simülasyonu ve karakterizasyonu için fosfoproteomiks kritik bir öneme sahip olmaktadır.



## Yenilebilir Aşı Üretimi Amaçlı Virüs Antijenlerinin Mikroalgal Sistemlerde Üretimi

Çiğdem Demirkaya, Sultan Gülce İz, Meltem Conk Dalay

Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye  
Email: demirkayacigdem@gmail.com

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Yenilebilir aşular, ucuz olmaları, uygulamasının ve saklanması kolay olması, güvenli ve sosyo kültürel açıdan özellikle az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler için umut vaat eden aşılama sistemleridir. Yenilebilir aşı teknolojisinde, antijen olarak seçilmiş gen uygun organizmaya aktarılır ve daha sonra bu organizmadan istenilen antijenin üretimi sağlanır. Mikroalgler, prokaryotik sistemlerin yüksek büyüme hızı ile ökaryotik sistemlerin sahip olduğu post-transkripsiyonel ve post-translasyonel gibi ekspresyon sistemlerinin bütün avantajlarını birleştirerek, rekombinant kompleks proteinlerin üretimini başarıyla gerçekleştirirler. Bu çalışmada mikroalglerin tranformasyonu ile elde edilecek protein bazlı yenilebilir aşı üretiminin ilk basamağı olarak antijen üretimi hedeflenmektedir.

**MATERYAL ve METOD:** Mikroalglerden yenilebilir aşı üretimi için antijen üretiminde en çok tercih edilen model organizma *Chlamydomonas reinhardtii* isimli bir yeşil algdir. Mikroalglerin genellikle plastit genomuna gen transferi yardımıyla dışarıdan bir gen aktarımı ve antijen üretimi gerçekleştirilmektedir. Plastit genomuna gen aktarımı altın veya tungsten kaplanmış DNA parçacıklarının bombardıman yöntemiyle aktarılıp homolog rekombinasyon gerçekleştirilmesiyle yapılmaktadır. Nükleer transformasyon da ise elektroporasyon ve cam boncuklarla hücre duvarına hasar verilerek gen aktarımı yapılmaktadır. Transformasyon sonrasında ise toplam protein analizi, Western Blot ve ELISA gibi in vitro testlerle üretilen antijen miktarı ve karakterizasyonu gerçekleştirilmektedir.

**SONUÇ:** İlk mikroalglerden aşı üretimi denemesi Sun ve ark. (2003) tarafından şap aşısı hastalığı için şap virüsünün yapısal proteini olan VP1 proteinin üretilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Üretilen antijen özelliği taşıyan protein, toplam portin miktarının %3-4'ünü oluştururken, in vivo denemelerde immun reaksiyon oluşmasını sağlamıştır. Daha sonra Hepatit B, HPV gibi ciddi problemlere yol açan virüslere karşı aşı üretimi amaçlı antijen üretimi çalışmaları yapılmıştır (Hempel ve ark., 2011, Dermutas ve ark., 2013). Üretilen antijenlerin immun yanıtı sağladığı gözlemlenmiştir.

**TARTIŞMA:** İnsan aşularının, algal bazlı üretim platformları ile üretilmesi, HPV gibi pahalı ve önemli hastalıkların önlenmesinde yeni, ucuz bir alternatif olarak kabul edilmektedir. Henüz küçük ölçekte yapılan araştırmaların, büyük ölçeğe aktarılması ve optimizasyonu ile daha iyi bir alternatif haline gelecektir.

# Poster Konusu: İnsanlarda görülen enfeksiyöz ajanlara karşı geliştirilen aşılar

P-8

## Leishmaniasis'e Karşı Yüzev Moleküllerine Dayalı Aşı Geliştirmek Üzere *L. tropica* Parazitlerinin Büyük Ölçekli Çoğaltılmasının Optimizasyonu

Gölnaz Yıldırım Köken, Özlem Ayşe Özyılmaz, Aslı Pınar Zorba, Gülesme Yılmaz, Simge Karlığa, Emrah Şefik Abamor, Melahat Bağirova

Yıldız Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, Hücre Kültürü ve Doku Mühendisliği Laboratuvarı, Esenler/İstanbul, 34220, Türkiye  
Email: gulnazildirim88@gmail.com

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Leishmania parazitlerinin yüzev antijenlerini elde edebilmek için parazitlerin büyük ölçekli kültürüne ihtiyaç duyulmaktadır. Leishmania parazitlerinin kültür ortamında çoğaltılması prokaryotlara kıyasla oldukça zor ve zaman alıcıdır. Diğer yandan, literatürde büyük ölçekte *L. tropica* parazitlerinin üretilmesine yönelik çalışmalar sınırlıdır. Bu çalışmada ilk kez, aşı geliştirmek üzere *L. tropica*'nın en immunojen aşı adayı molekülü lipofosfoglikanın (LPG) elde edilebilmesi için parazitlerin büyük ölçekli çoğaltılmasında yeni bir yaklaşımın geliştirilmesi amaçlanmıştır.

**MATERYAL ve METOD:** Kriyobanktan çıkarılan *L. tropica* promastigotları, 5 ml %10FBS'li RPMI içeren 25 cm<sup>2</sup> lik flaska 10<sup>6</sup> parazit/ml olacak şekilde ekilmiştir. Parazit sayısı 10<sup>7</sup> parazit/ml değerine ulaştığında besiyeri miktarı iki katına çıkarılmıştır. Aynı döngü tekrarlanarak 10<sup>7</sup> parazit/ml sayısına ulaşıncaya, 25 ml %5FBS'li RPMI bulunan 75 cm<sup>2</sup> lik flask içerisine 10<sup>6</sup> parazit/ml olacak şekilde ekim yapılmıştır. 10<sup>7</sup> parazit/ml sayısına ulaşıldığında 300 ml Brain Heart Infusion (BHI) içeren erlene 10<sup>6</sup> parazit/ml olacak şekilde ekim yapılmış ve dördüncü gün besiyeri miktarı iki katına çıkarılmıştır. Promastigotlar, metasiklik evrede 4°C'de 4000 rpm'de 25 dk santrifüj edilmiş ve pelletler, antijenin eldesi için gerekli işlemlerin yapılacağı güne kadar -20°C'de saklanmıştır.

**SONUÇ:** *L. tropica* parazitlerinden LPG eldesi için uygulanan işlemler sonucunda 5 x 10<sup>6</sup> ile başlanan parazit kültürü 96 saat sonra 10<sup>9</sup> parazit sayısına ulaşmıştır. Erlenlerde yapılan kültürasyonun sonunda BHI içeren ortamda parazit sayısının 15x10<sup>6</sup>/ml'ye ulaştığı saptanmıştır. Böylece, büyük ölçekli kültürasyon sonunda parazit sayısının başlangıca göre 2000 kat arttığı tespit edilmiştir.

**TARTIŞMA:** Leishmania parazitlerinin doğrudan büyük ölçekli kültürünün yapılması ortamda parazit miktarının yetersiz olması yol açmaktadır. Bunun nedeni, az sayıda parazitin büyük ölçekli kültür ortamına tam olarak adaptasyon sağlayamaması ve büyüme için uygun ortamın oluşmamasıdır. Bu çalışmada ilk kez, parazit sayısı ve besiyeri miktarının kademeli olarak artırılmasıyla büyük ölçekte Leishmania kültürü

elde edilmiş ve mevcut yöntemlerden farklı olarak daha büyük miktarda parazit biyokütlesinin eldesi mümkün olmuştur. Geliştirilen bu yeni yaklaşımın gelecekte Leishmaniasis'e karşı aşı ve tanı kitlerinin geliştirilmesinde büyük katkıda bulunacağı düşünülmektedir.

**TEŞEKKÜRLER:** Bu çalışma T.C. Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı tarafından desteklenmiştir. (Proje no: 0254.STZ.2013-2).

## Farklı Aşı Formülasyonlarının Makrofaj Hücre Kültür Sisteminde Etkinliğinin İncelenmesi

Özlem Ayşe Özyılmaz, Melahat Bağirova, Emrah Şefik Abamor,  
Adil M. Allahverdiyev

Yıldız Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, Hücre Kültürü ve Doku Mühendisliği  
Laboratuvarı, Esenler/İstanbul, 34220, Türkiye  
Email: ozlemayseozyilmaz@gmail.com

**GİRİŞ VE AMAÇ:** Leishmaniasis, *Leishmania* türündeki zorunlu hücre içi parazitlerin neden olduğu tropikal bir hastalıktır. Hastalık Türkiye'nin de içinde olduğu 98 ülkede endemik olup, enfekte kişilerin sayısı ise 12 milyondur. Hastalığın bu kadar yaygın olmasının en önemli sebeplerinden biri etkili ve güvenilir bir aşının eksikliğidir. Son yıllarda, Leishmaniasise karşı aşı geliştirilmesine yönelik çalışmalarda, çözünür *leishmania* antijenleri (ÇLAG), çeşitli antijenik epitoplara içerdiğinden sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak bu antijenler sadece uygun bir adjuvan ile birlikte kullanıldığında etkili olabilmektedir. Son zamanlarda bazı polimerlerin adjuvan özelliğe sahip olduğunun ortaya çıkarılmasıyla, bu moleküllerin çeşitli enfeksiyon hastalıklarına karşı aşı çalışmalarında kullanımı artmıştır. FDA onaylı ve suda çözünebilir bir polimer olan polioksidonyum (PO) da enfeksiyonlara karşı aşı geliştirilmesinde etkili bir immünostimulan olarak kabul edilmektedir. Ancak günümüze kadar, PO'un herhangi bir antijenle birlikte Leishmaniasise karşı aşı geliştirilmesinde adjuvan olarak kullanıldığını gösteren herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Bu nedenle, bu çalışmada, ilk kez olarak, ÇLAG ve PO içeren formülasyonların makrofajların nitrik oksit (NO) üretimi üzerindeki etkinliklerinin incelenmesi ve bu formülasyonlara maruz kalan makrofaj hücrelerinin parazitler üzerindeki inhibitör etkisinin belirlenmesiyle uygulanan formülasyonun aşı adayı potansiyelinin *in vitro* olarak tespit edilmesi amaçlanmıştır.

**MATERYAL ve METOD:** Deneylerin ilk aşamasında J774 makrofaj hücreleri 96 kuyucuklu plakaya ekildi. Ertesi gün farklı PO-ÇLAG kombinasyonları makrofaj hücrelerine uygulandı ve hücreler 48 saat inkübe edildi. İnkübasyonun ardından, NO ölçümü için kültür ortamından 50 µl alınarak 96'lık plate eklendi. Örneklerin üzerine 50 µl Griess reaktifi eklenerek 540 nm'de absorbansları ölçüldü. Geriye kalan makrofaj hücreleri ise parazitlerle enfekte edildi. 48 saatlik inkübasyon sonrası makrofajlar, sodyum dodesil sülfat ile lize uğratıldı. Hücre içi amastigotlar serbest kaldıktan sonra üzerlerine RPMI besiyerinden eklendi ve 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant uzaklaştırıldı. Bu işlemde sonra amastigot pelleti 110 µl besiyeri ile süspanse edildi. Süspansiyondan 10 µl thoma lamında sayım için kullanıldı. Geriye kalan 100 µl 96'lık plakaya MTT deneyi için ekildi. MTT çözeltisinden (10 mg/ml) her kuyucuğa eklendi ve 37°C'de 4 saat inkübe edildi. İnkübasyonun ardından 100 µl DMSO eklenerek 30 dakika beklendikten sonra 570 nm'de absorbansı ölçüldü.

**SONUÇ:** ÇLAG'nin, PO'nun 250 µg/ml ve 500 µg/ml'lik konsantrasyonlarıyla oluşturulan formülasyonlara maruz bırakılan makrofajların, kontrol grubuna göre daha yüksek miktarda NO ürettiği tespit edilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla uygulanan formülasyonlar makrofajların ürettiği NO miktarını 3-4 kat arttırmıştır. Diğer yandan, aynı konsantrasyonlara maruz kalan makrofajların, parazitlerle enfeksiyonu sonucunda, kontrol grubuna kıyasla *leishmania* proliferasyonunu yaklaşık 2,5 kat azalttığı tespit edilmiştir. ( $p<0,05$ ).

**TARTIŞMA:** Son yıllarda Leishmaniasise karşı aşı geliştirilmesinde *leishmania* antijenleri yanında farklı adjuvanlar kullanılmaktadır. Bu çalışmada da ilk kez olarak FDA onaylı bir immünoestimülan polimer olan PO'nun çözünür *leishmania* antijenleri ile oluşturulan kombinasyonlarının enfekte olmuş ve olmamış makrofaj hücre kültür sistemindeki etkinlikleri incelenmiştir. Sonuçlara göre, PO'nun 250 µg/ml ve 500 µg/ml konsantrasyonlarda ÇLAG ile oluşturduğu kombinasyonların, kontrole göre enfekte olmamış makrofajlarda NO üretimini stimüle ettiği, enfekte olmuş makrofajlarda ise parazit proliferasyonunu inhibe ettiği saptanmıştır. Elde edilen bu sonuçlar geliştirilen bu yeni formülasyonların Leishmaniasise karşı aşı geliştirilmesinde ümit verici olduğunu göstermektedir. Çalışmanın daha sonraki aşamasında *in vitro* etkinliği saptanmış olan bu formülasyonların deney hayvanlarında leishmaniasise karşı etkinliğinin incelenmesi planlanmaktadır.

**TEŞEKKÜRLER:** Bu çalışma T.C. Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı ve TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (Proje no: 0254.STZ.2013-2 ve SBAG 213S148).

## Uzun Süreli Makrofaj Hücre Kültür Sisteminin Leishmaniasise Karşı Aşı Geliştirilmesindeki Önemi

Emrah Şefik Abamor, Özlem Ayşe Özyılmaz, Melahat Bağirova,  
Adil M. Allahverdiyev

Yıldız Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, Hücre Kültürü ve Doku Mühendisliği  
Laboratuvarı, Esenler/İstanbul, 34220, Türkiye  
Email: esabamor@gmail.com

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Ancak, uygun aşı formülasyonlarının saptanmasında deney hayvanlarının kullanımı oldukça zaman alıcı, zahmetli, maliyetli ve pek çok farenin sakrifikasyonuna neden olduğundan etik açıdan da sorunlu bir işlemdir. Bu nedenle, aşı adaylarının etkinliğinin *in vitro* sistemler üzerinde incelenmesi oldukça önemlidir. Doğal immün sistemin önemli hücrelerinden olan makrofajlar aynı zamanda *leishmania* parazitlerinin konak hücrelerini oluşturmaktadır. Makrofajlar tarafından algılanan herhangi bir formülasyona karşı oluşan nitrik oksit (NO) ve serbest radikaller immün yanıtın önemli bileşenleridir. Aşı geliştirilmesinin temel ilkeleri, genel olarak çeşitli deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalara dayanmaktadır. Bu bilgiler ışığında makrofaj hücre kültür sisteminin leishmaniasise karşı geliştirilen aşı formülasyonlarının etkinliğinin belirlenmesinde kullanılabilmesinin uygun olduğu düşünülmektedir. Literatürde *L.infantum*'a karşı aşı geliştirilmesinde uzun süreli makrofaj hücre kültür sisteminin kullanılmasına ve etkinliğine yönelik yeterli bilgiye rastlamadık. Buna göre de, bu çalışmada ilk kez olarak uzun süreli makrofaj hücre kültür sisteminde, farklı yöntemlerle hazırlanmış *leishmania* antijenlerinin polioksidonyum (PO) adjuvanı ile birlikte oluşturulan formülasyonlarının makrofajların NO üretme potansiyelleri üzerindeki etkinliklerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

**MATERYAL ve METOD:** J774 makrofaj hücrelerinin kültürü %10 FBS içeren RPMI besiyeri içerisinde %5 CO<sub>2</sub>'li inkübatörde gerçekleştirildi. Deneylerin ilk aşamasında J774 hücreleri 96 kuyucuklu plaklara ekildi. 24 saatlik inkübasyonun ardından farklı PO-Antijen (Ag) kombinasyonları makrofaj hücrelerine uygulandı ve hücreler 37°C'de 48 saat inkübe edildi. İnkübasyonun ardından standartlardan ve NO ölçümü yapılacak kültür ortamından 50 µl alınarak 96'lık plaklara eklendi. Bu örneklerin üzerine 50 µl Griess reaktifi eklenerek oda sıcaklığında, karanlıkta 10 dk. inkübasyona bırakıldı. Ardından 540 nm'de absorbans ölçüldü.

**SONUÇ:** Dondurulup çözme ve otoklavlama gibi iki farklı yöntemle hazırlanan *leishmania* antijenlerinin PO ile fiziksel karışım halindeki formülasyonlarının makrofajlara verilmesinin ardından geçen 48 saatlik sürede, her iki formülasyonun da hücrelerin NO üretme potansiyellerini anlamlı şekilde arttırdıkları tespit edildi. Özellikle PO'nun 250 µg/ml ve 500 µg/ml konsantrasyonlarının antijenle birlikte, kontrole kıyasla NO üretimini 3-4 kat arttırdıkları belirlendi ( $p < 0,05$ ).

**TARTIŞMA:** Leishmaniasise karşı aşı geliştirilmesinde deneysel hayvan modelleri kullanılması yanında immünize edilmiş hayvan modellerinden elde edilen peritoneal makrofajlarda NO ve sitokin ölçümü gibi parametreler incelenmektedir. Yapılan bu çalışmada ilk kez olarak aşı formülasyonunun *in vitro* etkinliğini belirlemede makrofaj hücre kültür modelinin kullanımının uygun olduğu gösterilmiştir. Önerilen bu sistemin gelecekte Leishmaniasise karşı aşı geliştirilmesi çalışmalarında immün yanıt oluşumunun göstergesi olan sitokin ölçümü gibi diğer parametrelerin incelenmesi için de uygun olduğu düşünülmektedir. Bu yeni sistem *in vivo* sistemin yukarıda bahsedilen dezavantajının barındırmamakla birlikte aşı adaylarının etkinliğinin belirlenmesine hız kazandıracaktır.

**TEŞEKKÜRLER:** Bu çalışma T.C. Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı ve TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (Proje no: 0254.STZ.2013-2 ve SBAG 213S148)

## Toxoplazmozise Karşı Geliştirilen Adjuvante 6-Valantlı Rekombinant Protein Aşısının Oluşturduğu İmmun Yanıt ve Korunmanın Belirlenmesi

Esra Atalay Şahar<sup>1</sup>, Mert Döşkaya<sup>2</sup>, Hüseyin Can<sup>1</sup>, Sultan Gülçe İz<sup>3</sup>, Aysu Değirmenci Döşkaya<sup>2</sup>, Mina Kalantari-Dehaghi<sup>4</sup>, Remziye Deveci<sup>1</sup>, Yüksel Gürüz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji Bölümü, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>3</sup>Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>4</sup>California Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, CA 92617, A.B.D.

Email: esra.atalay.sahar@gmail.com

**GİRİŞ ve AMAÇ:** *Toxoplasma gondii*, toksoplazmozis enfeksiyonuna neden olan zorunlu hücre içi parazittir. Toksoplazmozis enfeksiyonu dünya nüfusunun üçte birini enfekte etmektedir. İmmun sistemi sağlam kişilerde, genellikle asemptomatik hastalık oluştururken, immün sistemi baskılanmış kişilerde ise (organ transplantasyon, AIDS, kanser tedavisi gören hastalar) ciddi klinik tablolara hatta ölüme neden olabilmektedir. Hamilelik sırasında bulaşta ise yeni doğanlarda konjenital anomalilere veya düşüklere neden olabilmektedir. Bu sebeplerden dolayı *T. gondii*'ye karşı geliştirilecek aşı enfeksiyondan korunmak için büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada *T. gondii*'ye karşı multivalan rekombinant protein aşısı geliştirilmesi amaçlanmıştır.

**MATERYAL ve METOD:** Çalışma grubumuz tarafından protein mikroarray taraması ile belirlenen *T. gondii*'ye ait antijenik proteinler arasından 49 tanesi aşı geliştirmek amaçlı seçilmiştir. 49 aşı adayı protein küçük çaplı ekspresyon ve saflaştırma özelliklerine göre analiz edilmiştir. Analiz sonucunda altı protein aşı adayı olarak seçilmiş ve ilk kez 6-Valantlı adjuvante rekombinant protein aşı formülasyonu geliştirilmiştir [6-Valant (+) Montanide]. Fareler üç hafta aryla iki kez aşılanmış ve daha sonra uyarılan humoral immün yanıt Western blot ve Rec-ELISA yöntemleriyle hücresel immün yanıt ise flow sitometri ve sitokin ELISA ile belirlenmiştir. Aşılanan fareler *T. gondii* Ankara suşu takizoiti ile intraperitoneal yoldan ölümcül dozda enfekte edilerek oluşturulan korunma belirlenmiştir.

**SONUÇ:** Aşılama sonrası 6-Valant (+) Montanide aşısı kontrollere göre kuvvetli total IgG yanıtı uyarmıştır ( $P<0,0001$ ). IgG1 ve IgG2a yanıtı incelendiğinde polarizasyonun belirgin şekilde  $T_H1$  yönüne doğru olduğu belirlenmiştir ( $P<0,001$ ). IFN- $\gamma$  salgılayan CD4 T-Yardımcı lenfositleri ile IFN- $\gamma$  salgılayan CD8 T-Sitotoksik lenfosit oranlarının kontrollere göre sırasıyla 1,45-2 ve 1,6-2 kat arasında arttığı saptanmıştır. Ayrıca lenfositlerin hücre dışına salgıladığı IFN- $\gamma$  miktarları incelendiğinde 6-Valant (+) Montanide aşısının kontrollere göre belirgin şekilde daha fazla olduğu ( $P<0,001$ ) saptanmıştır. Bu sonuçlar 6-Valant (+) Montanide aşısının güçlü koruyucu  $T_H1$  immün yanıt oluşturduğunu göstermektedir. Aşılanan farelerin yaşam süresininin  $8,38\pm 2,13$  güne çıkartıldığı ve kontrollere göre belirgin şekilde yüksek olduğu saptanmıştır ( $P<0,01$ ).



**TARTIŞMA:** Bu çalışmada protein mikroarray tarama ile seçilmiş 49 aşı adayı olabilecek antijenik protein içinden 6 tanesi seçilmiş ve ilk defa 6-Valantlı rekombinant protein aşıı geliştirilmiştir. Adjuvante 6-Valantlı rekombinant protein aşıısının kuvvetli humoral ve hücresel immun yanıt uyardığı ve ölümcül toksoplazmozise karşı korunma zamanını uzattığı belirlenmiştir.

**TEŞEKKÜRLER:** Bu proje TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (Proje no: SBAG 110S200)

## Poster Konusu: Veteriner aşılar

P-12

### Türkiye’de Kullanılan BVDV Aşılarının Yerel Suşlara Karşı Oluşturduğu Bağışıklık Düzeyleri

Gizem Alpay, Kadir Yeşilbağ

Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı, Bursa  
Email: kyesilbag@uludag.edu.tr

**GİRİŞ VE AMAÇ:** Bovine viral diarrhoea virus (BVDV) tüm dünyada ve ülkemizde yaygın olarak görülen bir etkenidir. BVDV enfeksiyonlarıyla mücadelede; persiste enfekte hayvanların eliminasyonu ve aşılama uygulamalarından yararlanılmaktadır. BVDV genetik alt gruplarının bölgesel dağılımları ve alt gruplar arasındaki çapraz bağışıklık farklılıkları aşılamayla sağlanan korumayı etkilemektedir. Bu çalışmada Türkiye’de kullanılan BVDV aşılarının yerel suşlara karşı oluşturduğu humoral yanıt düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

**MATERYAL ve METOD:** Ülkemizde satışa sunulan 3 adet inaktif aşı (1.aşı: BVDV-1a/monovalan; 2.aşı: BVDV -1a ve BVDV-2/polivalan; 3.aşı: BVDV-1a/ polivalan) BVDV antikor ve antijenleri yönünden negatif olan sığırlara 4x5 deney düzeninde uygulandı. Tamamı ithal olan aşılarla yapılan immunizasyonlar üretici firmaların önerdikleri şekilde 2 doz kullanılarak gerçekleştirildi. Tüm hayvanlardan 15 gün ara ile 6 defa serum örneği alındı. Toplam 20 hayvana ait tüm serum örnekleri Türkiye’de varlığı belirlenen 7 adet BVDV-1 (BVDV-1a,b,d,f,h,i,r) ve 1 adet BVDV-2 (BVDV-2a) alt grubunda yer alan toplam 11 virus suşuna karşı nötralizasyon immunoperoksidaz testi (N-PLA) ile serolojik olarak incelendi.

**SONUÇ:** Nötralizan antikor titre değerlerinin geometrik ortalamaları kıyaslandığında; BVDV-1a ile hazırlanmış monovalan aşının (1.aşı) bu çalışmada test edilen tüm BVDV alt gruplarına karşı diğer aşılarla kıyasla daha yüksek antikor titresini sağladığı görüldü. Diğer iki aşının kullanımıyla BVDV-1b alt grubuna karşı gelişen antikor yanıtının koruyucu titrenin altında olduğu belirlendi. Her üç aşı ile BVDV-1d ve BVDV-1r suşlarına karşı gelişen yanıtlarda önerilen koruyucu antikor titre değerlerinden düşük değerlerle karşılaşabileceği görüldü. Türkiye’de en yaygın alt grup olduğu gösterilen BVDV-1/ alt grubuna karşı her üç aşı ile yüksek antikor yanıtı elde edildi. Türkiye’den izole edilen BVDV-2 izolatına karşı ise tüm aşıların düşük bağışıklık yanıtı geliştirdiği görüldü.

**TARTIŞMA:** Kullanılan ticari aşıların Türkiye’de görülen BVDV alt gruplarının bir bölümüne karşı düşük nötralizan antikor yanıtı oluşturması ve test edilen her üç aşı ile BVDV-2 Türkiye izolatına karşı düşük antikor yanıtının görülmesi ithal aşıların koruyuculuğu konusunda tereddütler oluşturmaktadır.

**TEŞEKKÜRLER:** Bu proje UÜ-BAP (Proje no: V-2010-42) ve TÜBİTAK tarafından (Proje no: 109 O 762) desteklenmiştir.

## Poster Konusu: Diğer aşilar (immünolojik, nörolojik v.b. hastalıklara karşı)

P-13

### Karbohidrat Tabanlı Aşilar: Aşilamaya Yeni Bir Yaklaşım

Seçkin Soya

Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, Bornova/İzmir, 35040, Türkiye

Email: seckin\_soya@yahoo.com

Glikokonjugatlarının biyolojik süreçlerde oynadığı çok sayıdaki rol, hem normal hem de hastalıklı durumlarda moleküler etkileşimlerin doğasını belirlemede büyük ilgi uyandırmaktadır. Aşilamaya karşı immun yanıtın daha spesifik ve kuvvetli olmasının sağlanması bu tür etkileşimlerin belirlenmesinin temelinde yatmaktadır. Atenüe, inaktive, toksoid ve proteinik yapıdaki aşiların yanı sıra, son yıllarda polisakkarit ve glikokonjugat aşiları geliştirilmeye başlanmıştır. Polisakkarit aşiları, T hücre bağımsız immun yanıtı teşvit etmekte ve bu sebeple güçlü ve devamlı bir immun yanıt oluşturmada eksik kalmaktadır. Glikokonjugat aşiları ise, T hücre bağımlı immun yanıt oluşturarak polisakkarit spesifik B hücrelerini aktive etmekte ve antijen spesifik IgG tip antikor oluşturan B hücrelerini ve bellek hücrelerini aktive ederek etkili bir immun yanıt oluşturmaktadır.

Karbohidratların yapılarındaki heterojenlik, örneklerin biyolojik kaynaklardan saf ve yeterli miktarlarda izolasyonunun yapılmasında son derece zorluk çıkarmaktadır. Kimyasal sentez, biyolojik araştırmalar için saf ve yapısal olarak tanımlanabilen oligosakkaritler üretmek için avantajlar sunmaktadır. Glikokonjugat aşilarının temelini; bir protein taşıyıcısı, antijenik karbohidrat yapıları ve bu yapıları protein taşıyıcısına bağlayan bir sentetik bağlayıcı oluşturmaktadır. Bu aşı bileşenlerini analiz etmek için çeşitli metotlar geliştirilmiştir. Antijenik oligosakkarit yapılarını NMR, LC-MS ve kromatografik vb., taşıyıcı proteinleri kütle spektrometresi, jel elektroforezi ve izoelektrik fokuslama vb. metotlarla analiz etmek mümkündür. Günümüze kadar büyük ilaç şirketlerinin de aralarında bulunduğu 11 firma tarafından 18 glikokonjugat aşısı lisanslanmış ve bu aşilar *H. influenzae* tip b, Meningokok, Pneumokok spesifiktir. Kanseri, sıtma, candidiasis, AIDS vb. hastalıklara karşı denemeler halen devam etmektedir.

Sonuç olarak glikokonjugat aşiları, yeni geliştirilecek aşilar için çok yönlü temeller sağlamakta ve geliştirilen sentetik yaklaşımlarla aşı geliştirilmesinde yeni bir çağ başlatmıştır. Spesifik bakteri enfeksiyonlarına karşı eski yöntemlerle geliştirilmiş aşilar, yeni doğanlarda ve çocuklarda düşük etkili ve kısa zamanlı koruma sağlarken, glikokonjugat aşiları çok çeşitli hastalıklara ve patojenlere karşı insanlarda başarılı bir şekilde koruma sağlamaktadır. Glikokonjugat aşilarının yeni geliştirilecek olan sentez ve

analiz metotlarıyla çok daha çeşitli ve efektif aşı geliştirilmesine ışık tutacağı düşünülmektedir.

#### **Kaynaklar**

- N. Ravenscroft, P. Costantino, P. Talaga, R. Rodriguez and W. Egan, 2015, Chapter 8: Glycoconjugate Vaccines, p: 301-381, *Vaccine Analysis: Strategies, Principles, and Control*, Eds. B. K. Nunnally, V. E. Turula, R. D. Sitrin, *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*.
- G. M. Doshi, P. P. Shanbhag, G. V. Aggarwal, M. D. Shahare and E. A. Martis, 2011, Carbohydrate Vaccines - A burgeoning field of Glycomics, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 01(02): 17-22.
- R. D. Astronomo and D. R. Burton, 2010, Carbohydrate vaccines: developing sweet solutions to sticky situations?, *Nature Reviews - Drug Discovery*, 9: 308-324
- S. F. Slovin, S. J. Keding and G. Ragupathi, 2005, Carbohydrate vaccines as immunotherapy for cancer, *Immunology and Cell Biology*, 83: 418-428.

## Poster Konusu: Aşı immunolojisi

P-14

### Kızamık Aşuları Potens Değerlendirmesinde Gerçek Zamanlı Hücre Analiz Sistemleri (xCELLigence Teknolojisi) ile Standart Metodun (CCID50) Karşılaştırılması

Filiz Şengün, Hanife Ebru Sarpay, Mehmet Kürşat Derici, Muhammet Ali Oruç

Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Analiz Kontrol Laboratuvarları Dairesi Başkanlığı,  
Tıbbi Biyolojik Ürünler Laboratuvarları, Sıhhiye/Ankara, 06100, Türkiye  
Email: filiz.sengun@titck.gov.tr

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Kızamık(Measles) aşısı, ülkemizde uygulanan “Ulusal Aşı Programı” içinde önemli yer tutan bir antijendir. Laboratuvarımızdaki aşı kalite kontrol çalışmalarında aşının fizikokimyasal parametreleri, sterilitesi yanısıra immunité gücünü gösteren identite, termostabilite ve potens testleri bulunmaktadır. Kızamık aşısı potens analizi, Dünya Sağlık Örgütü ve Avrupa Farmokopesinde standart metod olan “% 50 Hücre Kültürü Enfekte Doz Metodu” (CCID50) ile çalışılmakta olup sonuçlar görsel olarak yorumlandığından ileri eğitim ve tecrübe gerektirmektedir. Bu nedenle yöntemin, doğruluk, tekrarlanabilirlik ve kesinlik kriterleri ortaya konmuş alternatif bir sistem ile değiştirilebilmesi amaçlandı. Bu kapsamda Kızamık aşı virüsü kullanılarak vero hücrelerinde Gerçek Zamanlı Hücre Analiz Sistemi(xCELLigence cihazı) ile CCID50 yöntemi karşılaştırılmıştır.

**MATERYAL ve METOD;** XCELLigence sistemleri, monolayer tip hücrelerin sayısını, morfolojisini ya da yüzeye yapışma durumunu empedans’a bağlı olarak ölçen cihazlardır. Cihaz üzerinde kullanılan özel platelerin (E-plate) tabanı altın mikroelektrotlarla kaplıdır. Hücrelerin bu elektrotlar üzerine yapışması elektrot ve medyum arasındaki iyonik ortamda değişim yaratmakta ve empedansta artışa neden olmaktadır. Hücre adhezyonunda ya da yayılımında meydana gelen bir değişim de empedans değerlerini değiştirmektedir. Böylece, CI (Cell Index) değeri olarak gösterilen empedans ölçümü; hücre canlılığını, sayısını, morfolojisini ve adhezyon durumunu gösteren bir değer olmaktadır.

CCID50 metodu, virüs ile enfekte olan hücrelerdeki sitopatik etkinin gözlenmesine ve sayılmasına dayanan bir metoddur. İnoküle edilen hücre kültürlerinin %50’sinde sitopatik etki oluşturacak virüs miktarını belirlemek için kullanılır. Virüsün seri dilüsyonları 96 kuyucuklu pleytlere dağıtılır ve hücre kültürleri ile inkübasyona bırakılır. İnkübasyondan sonra her virüs dilüsyonu için enfekte olmuş hücreler (sitopatojenik etki-CPE) mikroskopta gözlemlenir ve kaydedilir. CPE’ler % matematiksel formüllerle CCID50 olarak hesaplanır. Çalışmamızda bu iki yöntem, aynı ürün için eşzamanlı olarak çalışılarak sonuçları istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

**SONUÇ;** Elde edilen erken veriler CI ve CCID50 sonuçlarının bazı faktörler nedeniyle farklılaştığı gözlenmektedir.

**TARTIŞMA;** Standart metodun(CCID50), CI ile karşılaştırılması için, bu iki metodun paralel olarak daha çok sayıda ve farklı deney ortamında test edilmesi gerektiğini düşündürmektedir.

**TEŞEKKÜRLER:** Bu çalışma Elips Sağlık Ürünleri İthalat ve İhracat Ltd. Şti. tarafından desteklenmiştir.

## **İnfluenza (Mevsimsel Grip) Aşılarında SRID Potens Testi için Metod Validasyonu Çalışması**

Mehmet Alkan, Sevilay Mekik, Mehmet Kürşat Derici, Muhammet Ali Oruç

Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Analiz Kontrol Laboratuvarları Dairesi Başkanlığı,  
Tıbbi Biyolojik Ürünler Laboratuvarları, Sıhhiye/Ankara, 06100, Türkiye  
Email: mehmet.alkan@titck.gov.tr

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Grip (İnfluenza) hastalığı solunum yoluyla bulaşan, bölgesel ve küresel çapta salgınlara ve kitlesel ölümlere yol açan önemli bir toplum sağlığı sorunudur. Zarflı bir RNA virüsü olan influenzanın A, B ve C olmak üzere üç ana tipi ve birçok alt tipi mevcuttur. Virusun yüzeyinde hemagglütinin (H) ve nöraminidaz (N) aktivitesine sahip antijenik glikoprotein yapılar bulunur. İnfluenza aşısı içeriği her yıl Dünya Sağlık Örgütü (WHO) önerileri dikkate alınarak sonraki yıl görülme olasılığı en yüksek olan suşlara yönelik olarak hazırlanmaktadır. Trivalan aşılar iki A suşu ve bir B suşuna karşı koruyucu iken, kuadrivalan aşılar ek bir B suşuna karşı da koruyucudur.

**MATERYAL ve METOD:** İnfluenza aşısının potens miktarı tek radyal diffüzyon (SRID) yöntemiyle nicel olarak tespit edilmektedir. Çalışmamızda, SRID test yönteminin TS EN ISO/IEC 17025 akreditasyon süreci ve metod validasyonu esas alınmıştır. Temel kantitatif immundiffüzyon tekniği olarak bilinen SRID yönteminde agaroz jel içindeki antiserum ve antijen arasındaki etkileşimden yararlanılır. Test ürünü ile referans aşı antijeni, antiserum ile etkileşince ortaya çıkan presipitasyon zonları, boyama sonrası net bir şekilde görülür. Test, referans ve numune eğrilerinin regresyon katsayısının >0.95 olması kaydıyla geçerlidir. Numune için bulunan sonuç düşük ve yüksek limit sınırları % 80 -125 aralığında olmalıdır.

**SONUÇ:** Üç haftalık test süresi sonucuna testin validasyonu ve presipitasyon zonlarının çaplarına bağlı olarak geçerlilik kriterleri başarı ile sağlanmıştır. Regresyon katsayısının >0.95'in üzerinde olduğu belirlenmiş, numune potens değerinin % 80 -125 aralığında olduğu görülmüştür. Bu testin metod validasyonu amacıyla, iki analist tarafından altı farklı günde ve her bir gün içinde ikişer çalışma yapılmıştır. %RSD (Bağıl Standart Sapma), kesinlik, tekrarlanabilirlik, ortalama kesinlik (farklı günlerde farklı analistlerin çalışmaları) ve tekrar üretilebilirlik (farklı laboratuvarlar arası karşılaştırılmalı test yapılması) hesaplanmıştır.

**TARTIŞMA:** Analizlerin, kalite sistemi ile (17025) standardize hale getirilmesi, laboratuvarın sonuç güvenirliliği ve doğruluğunun sağlanması açısından önemlidir.

## Difteri Aşısı Potens Testinin CCM (Cell Culture Method) Metodu İle Tespit Edilmesi

Hakan Büzkaya, Nüvide Doğan, Fahri Mercan, Dönsel Çelik, Mehmet Kürşat Derici, Muhammet Ali Oruç

Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Analiz ve Kontrol Laboratuvarları Dairesi Başkanlığı, Tıbbi Biyolojik Ürünler Birimi Sıhhiye/ Ankara, 06100, Türkiye  
Email: hakan.buzkaya@titck.gov.tr

**GİRİŞ VE AMAÇ:** *Corynebacterium Diphtheria*, difteri hastalığının etkenidir. Bu hastalık halk arasında kuşpalazı diye bilinir. *C.diphtheria* sporsuz, kapsülsüz, hareketsiz pleomorfik gram pozitif basildir. Bakterinin oluşturduğu ekzotoksin hastalığın klinik belirtilerinden sorumludur. Boğaz ağrısı, tonsil, farinks ve larinks kaplayan membranların varlığı ile karakterize olan difteride, hastalığın sonuçlarından mikroorganizmanın salgıladığı ekzotoksin sorumludur. Aşı ile önlenilebilir bir hastalık olmasına rağmen, gelişmekte olan ülkelerde aşılama programının yetersizliği ve ülkeler arası seyahatler nedeniyle halen yaygınlığını ve önemini sürdürmektedir. Bu çalışmada WHO ve Avrupa Farmakopesinin önerdiği test yöntemleri arasında bulunan potens testlerinden serolojik/vero hücresi test yöntemi uygulanmıştır.

**MATERYAL VE METOD:** Bu metotta difteri aşılarının relatif potensi, referans difteri toksoid aşısı ile numune difteri toksoid aşısının karşılaştırmalı olarak saptanmıştır. Bu yöntemde beş haftalık dişi fare (18-22 gr) kullanılmıştır. Referans difteri toksoid aşısının ve numune difteri toksoid aşısının iki katlı dilüsyonları hazırlanmış ve 0.5 ml/s.c. olarak immünize edilmiştir. Beş haftalık immünizasyon periyodundan sonra deney hayvanlarından kan alınmıştır. Farelerde oluşan difteri antikorları belirli oranda difteri toksiniyle minimum bir saat nötrale edilmiş ve difteri toksinine karşı duyarlı vero hücre ilavesiyle ortamda kalan difteri toksinin metabolik inhibisyonu sonucunda oluşan hücre poliferasyonu ve dejenerasyonu değerlendirilmiştir. Değerlendirme sonucunda test edilecek aşının aktivitesinin standart aşı ile istatistiki olarak karşılaştırılmış ve numunenin relatif potensi hesaplanmıştır.

**SONUÇ:** Bu metod;15 Ekim 1978 tarihinde, Birleşmiş Milletler Eğitim, Bilim ve Kültür Örgütü (UNESCO) Merkezi Paris'te Hayvan Hakları Evrensel Beyannameğine göre 3R (refah-azaltma-yerine koyma) kuralına göre toksin uygulaması deney hayvanı üzerinde uygulanmadığından deney hayvanı refanı artırmaktadır. Metod hassasiyeti 0.01IU/ml (kısmen koruma sağlayan en düşük Antitoksin düzeyi) düzeyindedir. Metod serolojik test avantajlarını da taşımaktadır (kalitatif ve kantitatif data, serum örneklerinin saklanabiliyor olması, tutarlılığın izlenmesi, materyal değişimi, serolojik kombinasyon).

**TARTIŞMA:** Bu metod insan serumu difteri antitoksin düzeyini belirlemede de kullanılmaktadır. ELISA metodu ile karşılaştırıldığında antitoksin düzeylerinin saptanmasında ELISA metodunun saptayamadığı alt limit değerleri saptamaktadır.



## Poster Konusu: Aşı çalışmalarında kullanılan hayvan modelleri

P-17

### Albino Kobaylarda İnfeksiyöz Pankreatik Nekrozis Virusuna Karşı Antiserum Üretimi

Kemal Pekmez<sup>1</sup>, Gülnur Kalaycı<sup>1</sup>, Esin Hameş<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü Viroloji Bölümü, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyomühendislik Bölümü, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye  
Email: kemalpekmez07@hotmail.com

**GİRİŞ ve AMAÇ:** İnfeksiyöz pankreatik nekrozis (IPN), alabalıklarda yüksek mortalite ile seyreden, önemli ekonomik kayıplara neden olan viral bir hastalık olup, ülkemizde yaygın olarak görülmektedir. Hastalığın teşhisinde çeşitli metotlar (IFAT, ELISA, RT-PCR, Real Time RT-PCR) kullanılmaktadır. Etken virüs persiste enfeksiyona yol açması nedeniyle hücre kültüründe virus izolasyonunu takiben identifikasyon testleri, uluslararası standart yöntem olarak kullanılmaktadır. Söz konusu yöntemler ile hastalığın teşhisi en az 24-48 saat ve donanımlı laboratuvarlara ihtiyaç duyulmaktadır. Klinik enfekte veya virüs yoğunluğu yüksek balıklarda laboratuvar tanısının çok daha hızlı yapılabilmesi hastalıkla mücadelede başarıyı arttıracaktır. Mücadelede bir başka önemli konu da aşılardır. Halen klasik aşuların iyileştirilmesinin yanında subunit aşular ya da DNA aşular gibi biyoteknolojik ürünler de denenmektedir. Bu çalışmada, IPN enfeksiyonunun tanısında kullanılmak üzere koagülünasyon testinin geliştirilmesi kapsamında IPNV Spjarup (Sp) ve VR299 serotiplerine karşı hayvan modeli olarak albino kobaylarda poliklonal antiserum üretimi gerçekleştirilmiştir.

**MATERYAL ve METOD:** Referans Sp ve VR299 serotipleri Bluegill Fry (BF-2) hücre kültüründe üretilmiş, doku kültürü infektif doz 50 (DKID50) belirlenmiş, saflaştırılmış ve albino kobayların bağışıklanmasında kullanılmıştır. Kobaylarından alınan kanların serumları alınarak inaktivasyonu yapılmış, serum nötralizasyon testi (SNT) ile SN50 değerleri ve serotipler arası çapraz reaksiyonlar belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar literatürde bildirilen değerlerle karşılaştırılmıştır.

**SONUÇ:** Elde edilen Sp ve VR299 antiserumlarının SNT ile Sp serotipinin Sp ve VR299 antiserumları ile nötralizasyonu sonucunda SN50 değerleri sırasıyla 1/38459 ve 1/707, VR299 serotipinin VR299 ve Sp antiserumları ile nötralizasyonu sonucunda SN50 değerleri ise sırasıyla 1/32359, ve 1/595 bulunmuştur.

**TARTIŞMA:** Bu çalışmada IPNV'nin Sp ve VR299 serotiplerine karşı albino kobaylarda poliklonal antiserum elde edilmiştir. Elde edilen antiserumların SN50 değerleri diğer çalışmalar ile karşılaştırıldığı zaman değerlerin daha düşük olduğu görülmektedir. Bununla birlikte üretilen antiserumların serotipler arası vermiş olduğu çapraz

reaksiyonların da çok daha düşük olduğu saptanmıştır. Bulguların, koaglitünasyon tanı kiti oluşturma çalışmalarının yanında mevcut ve geliştirilmesi planlanan IPNV aşılarının etkinliklerinin deney hayvanlarında belirlenmesi çalışmalarında da yardımcı olabileceğini dűřündürmektedir.

**TEŐEKKŐRLER:** Bu proje Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlıđı, Tarımsal Arařtırmalar ve Politikalar Genel Műdűrlűđű tarafından desteklenmektedir. (Proje no: TAGEM/HSGYAD /14/A11/P03/50).

## BCG ve Acellular Boğmaca Aşılarının Kalite Kontrol Testleri

F. Fulya Pirlepe Katılı, Aysun Koca, Mehmet Kürşat Derici, Muhammet Ali Oruç

Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Analiz ve Kontrol Laboratuvarları Dairesi Başkanlığı, Tıbbi Biyolojik Ürünler Laboratuvarları, Sıhhiye/Ankara, 06100, Türkiye  
Email: fulya.katili@titck.gov.tr

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Bulaşıcı hastalıklara karşı savaşta aşılar önemli bir rol oynamaktadır. Aşı üretiminde kullanılan materyaller genellikle patojen bakteri ve virüslerdir. Aşılar başlıca canlı-atenüe, inaktive, toxoid ve rekombinant aşılar olarak farklı üretim prosedürlerine sahiptir. Her ürün mümkün olan en üst düzeyde güvenilir immünolojik potense sahip olmalıdır. Bu nedenle bir biyolojik materyal olan aşılardan hem üretimi sürecinde hem de son ürün düzeyinde kalite kontrolleri gereklidir. Canlı-atenüe bir aşının son ürün kalite kontrolü, inaktive bir aşının kalite kontrolü ile temelde benzerlik göstermekle birlikte biyolojik testler bakımından farklı prosedürleri içermektedir. Bu kapsamda laboratuvarımıza gelen iki farklı bakteri aşısında uygulanan, iki farklı potens testinin metodolojik farklılıklarını ortaya koymayı amaçladık.

**MATERYAL ve METOD:** Bakteriye kökenli canlı-atenüe bir aşı olan BCG (*Mycobacterium bovis*) aşısı ile inaktive bir aşı olan Acellular Boğmaca (*Bordetella pertussis*) aşısı kalite kontrol test prosedürleri farklılık gösterir. Bu ürünlerin laboratuvarımızdaki kalite kontrol testleri, in-vivo ve in-vitro yöntemler ile uluslararası yasal düzenlemeler doğrultusunda final ürün düzeyinde gerçekleştirilir. Kontrol testlerinin bir bölümü ise in-vivo olarak başlatılıp in-vitro olarak sonuçlandırılır. İn-vivo çalışmalarda deney hayvanı olarak CD-1 tipi fareler kullanılmaktadır. İn-vitro çalışmalarda ise katı vasat kullanılarak CFU hesaplaması yapılmakta, aşının immünojenite testi ise ELISA metoduyla fare serumunda antikor düzeylerinin ölçümü ile yapılmaktadır.

**SONUÇ:** Çalışmamızda, laboratuvarımıza kalite kontrol amacı ile gelen BCG ve Boğmaca aşılarının final ürünlerinde yapılan kalite kontrol testleri ve son beş (5) yılı kapsayan seri analizleri sunulmaktadır.

**TARTIŞMA:** Aşılarında seri bazında yapılan kalite kontrol çalışmalarına bağlı olarak yapılan trend analizleri, aşının kalitesi için olası risklerin saptanmasında ve önlemlerin alınmasında yardımcı olmaktadır.

## Poster Konusu: Vektör, adjuvant ve immunomodülatörler

P-19

### Hibridoma Teknolojisine Dayalı *L.tropica*'ya Karşı Poliklonal Antikor Üretilmesinde Farklı Adjuvantların Etkinliğinin İncelenmesi

Aslı Pınar Zorba, Gülnaz Yıldırım Köken, Melahat Bağirova, Adil Allahverdiyev

Yıldız Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, Hücre Kültürü ve Doku Mühendisliği Laboratuvarı, Esenler/İstanbul, 341220 Türkiye

Email: aslipinarzorba@gmail.com

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Hibridoma teknolojisine dayalı olarak antikorların üretilmesi, tanı kitlerinin geliştirilmesinde, hastalıkların tedavisinde, aşılamada ve izole edilmiş antijenlerin saflaştırılmasında oldukça önemlidir. Çeşitli enfeksiyonlara karşı poliklonal antikor geliştirilmesine dayalı çalışmalar yürütülse de, dünyanın ve ülkemizin ciddi halk sağlığı problemlerinden biri olan Leishmaniasis'e karşı bu tür çalışmalar oldukça yetersizdir. Bu alandaki çalışmaların az olmasının esas nedenleri, zahmetli, zaman alıcı olması ve yüksek sorumluluk gerektirmesidir. Diğer yandan, hibridoma oluşturulmasında deney hayvanları üzerinde uygulanan adjuvantların az sayıda ve toksik olması, beklenen immün yanıtın yeterli düzeyde olmaması bu tür çalışmaların sayısını sınırlandırmaktadır. Bu çalışma doğrultusunda, FDA onaylı Polioksidonyum'un (PO) hibridoma hücrelerinin antikor üretmesindeki etkinliği, günümüzde yaygın olarak kullanılan FREUND adjuvantı ile kıyaslı olarak incelenmiştir.

**MATERYAL ve METOD:** Kutanöz Leishmaniasis'in etkeni *L.tropica* kültüründen elde edilen parazitlerden dondurma çözme yöntemi ile antijen hazırlandı. PO ve FREUND adjuvantı ile karıştırılarak 6-8 haftalık Balb-c farelere intraperitoneal olarak inokule edildi. 3., 5. ve 7. immünizasyon sonrası farelerden elde edilen serumlarda antikor oluşumu ELISA yöntemi ile incelendi. Serumdaki antikor düzeyi istenen düzeye ulaştığında fareler servikal dislokasyon yöntemiyle öldürüldü ve dalaktan B-lenfosit izole edildi. Buna paralel olarak, Azoguanine-8'e maruz kalan myeloma (P3-X63-Ag8.65) hücreleri kültüre edildi. Hücrelerin füzyonu Polietilen glikol (PEG) ile gerçekleştirildi. Sonraki aşamalarda protokole uygun olarak seçici besiyerleri içerisinde kültüre edilen hibridomaların poliklonal antikor üretilip üretilmediği, belli aralıklarda ELISA yöntemi ile incelendi.

**SONUÇ:** FREUND adjuvantı ile immünize edilmiş farelerde, 8. immünizasyon sonrasında, PO ile immünize edilmiş farelerde ise 9. immünizasyon sonucunda antikor düzeyinin kontrole göre yaklaşık 5.5 kat arttığı saptandı. Her iki gruptan elde edilen hibridoma kültürünün 10. ve 20. günlerinde *L.tropica*'ya karşı poliklonal antikor oluşumu gözlemlendi. Ayrıca PO ile immünize edilmiş farelerden oluşturulan hibridomaların, sadece parazitlere karşı değil; aynı zamanda PO'nun kendine karşı da yanıt oluşturduğu tespit edildi.

**TARTIŞMA:** Freund adjuvantının toksik olması nedeniyle alternatif olarak yeni adjuvanların geliştirilmesi oldukça önemlidir. Bu çalışmada ilk kez olarak PO'nun hibridoma teknolojisine dayalı poliklonal antikor üretiminde potansiyel bir aday olduğu gösterildi. Freund adjuvantından farklı olarak, PO kullanılarak oluşturulan hibridomaların ürettikleri antikorların, hem *L.tropica* parazitlerine hem de PO'ya karşı immün yanıt oluşturması, bu antikorların spesifitesinin tayin edilmesinin gerektiğini ortaya koymaktadır. Buna göre de çalışmanın daha sonraki aşamasında alt klonlamaya geçilerek yalnızca *L.tropica*'ya özgü uygun antikorların seçilimi yapılacaktır. Ayrıca, PO'nun FDA onaylı olması nedeniyle, geliştirilen hibridomaların ürettikleri antikorların sadece *L.tropicaya* karşı immün yanıt oluşturduğunun belirlenmesi durumunda, monoklonal antikor üretiminde FREUND'a göre daha uygun bir adjuvant olduğu düşünülebilecektir.

**TEŞEKKÜRLER:** Bu çalışma T.C. Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı tarafından desteklenmiştir. (Proje no: 0254.STZ.2013-2). Ayrıca myeloma hücre hattını tarafımıza sağlayan Ege Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. S. İsmet Deliloğlu GÜRHAN'a ve Arş. Gör. Mehmet Özgün ÖZEN'e teşekkür ederiz.

## Nanopartikül Temelli DNA Aşısı Taşınım Sistemleri

Pelin Sağlam Metiner<sup>1,2</sup>, Müge Anıl<sup>1,2</sup>, Mert Döşkaya<sup>3</sup>, Yüksel Gürüz<sup>3</sup>, Sultan Gülçe İz<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Ana Bilim Dalı, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye

<sup>3</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Bornova/İzmir, 35100, Türkiye  
Email: pelin.metiner@gmail.com

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Aşı geliştirme çalışmalarında nanoteknoloji giderek önem kazanmaktadır. Kompozisyonu, boyutu, şekli ve yüzey özellikleri değişen çok sayıda nanopartikül, hem aşı etkinliğinin artırılması hem de aşının hedeflenmesinde kullanılmaktadır. Nanopartiküllerin hücresel bileşenlere yakın boyutlarda olması, canlı hücreye endositoz ile girişini mümkün kılmaktadır [1]. DNA aşılarının nanopartiküller ile taşınmasının; transfeksiyon etkinliğini ve immünojeniteyi arttırmak, hücresel ve antikor yanıtlarının ikisini de uyarmak, uygulama esnasında özel bir ekipmanlara gereksinim yaratmamak gibi avantajları bulunurken nanopartiküllerin; vücut içerisinde uzun sürede yaratacağı etkilerin henüz bilinmemesi gibi bazı dezavantajları da bulunmaktadır [2].

DNA aşısı taşıyıcısı olarak; kitosan, aljinat, pullulan ve inulin gibi polimerik nanopartiküller, altın, silika temelli ve karbon temelli nanopartiküller gibi inorganik nanopartiküller, nano boyutta organize olabilen posfolipitler olan nano-liposomlar ve enfeksiyöz olmayan- nükleik asidin biyoyumlu kapsid proteini içerisine paketlenmesi ile oluşturulan virüs-benzeri partüküller (VLP) kullanılabilir [3]. Son yıllarda tek kaynaklı nanopartiküllerin işlevlerini arttırmak veya dezavantajlarını gidermek amacıyla kompleks nanopartiküllerin kullanımı söz konusudur. Poli g-glutamik asit/kitosan, poli g-glutamik asit/ polietilenimin, kitosan/tripolifosfat ve polietilenglikol/lipozom nanopartikülleri dikkat çeken DNA taşınım sistemlerindedir [1, 2, 3].

**TARTIŞMA:** Nanopartiküllerin DNA aşılarının taşınmasında sunduğu avantajlar yeni stratejiler açısından gelecek vaat etmektedir. Fakat vücutta uzun dönemde oluşacak sitotoksik etkiler potansiyel bir sorun olarak görülmektedir. Nanopartikül kullanımının nispeten daha kısa bir tarihinin olması insan kullanımında güvenilirlik profilinin henüz anlaşılammış olmasına neden olmaktadır. Bu sebeple, günümüzde bu konuda pek çok çalışma sürdürülmektedir. Bu çalışmalar sonucunda güvenli bir profil gösterilebilir ise bu yeni aşı taşınım sistemlerinin yaygın olarak kullanılacak etkili bir yöntem olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, nanopartikül bazlı DNA aşıları; bu stratejinin hücre transfeksiyon etkinliğini ve immünojeniteyi arttırması ve hedefleme stratejilerine olanak sağlaması sayesinde gelecekte tek doz uygulamalarına ve iğne gerektirmeyen aşı uygulamalarına fırsat tanıyacak bir strateji olarak görülmektedir.

KAYNAKLAR:

1. Treuel, L., Jiang, X., Nienhaus, G.U., 2013, New views on cellular uptake and trafficking of manufactured nanoparticles. *Journal of the Royal Society Interface*, <http://dx.doi.org/10.1098/rsif.2012.0939>
2. Gregory, A. E., Titball R. and Williamson, D., 2013, Vaccine delivery using nanoparticles, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 3(13): 10.3389/fcimb.2013.00013.
3. Zhaoa, L., Seta, A., Wibowoa, N., Zhaoa, C. X., Mitterb, N., Yua, C., Middelberga, A. P. J., 2013, Nanoparticle vaccines, *Vaccine*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.11.069>.

## Poster Konusu: Üretim ve İmalat

P-21

### ***Theileria annulata* ile Enfekte T Lenfositlerin Biyoreaktörde Üretimi**

Duygu Ayyıldız Tamış<sup>1</sup>, Nilay Ünal<sup>2</sup>, S. İsmet Deliloğlu Gürhan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Bornova/İzmir, Türkiye

<sup>2</sup>Dollvet Veteriner Aşı İlaç Biyolojik Madde Üretimi San. ve Tic. A.Ş. Şanlıurfa, Türkiye

Email: duyguayyildiz@gmail.com

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Tropikal theileriosis Türkiye’de en önemli sığır hastalıklarından biridir. Özellikle ithal ve melez sığırlarda neden olduğu mortalite ve ekonomik kayıplar nedeniyle sığır endüstrisi için büyük bir tehlike teşkil etmektedir. Attenüe *Theileria annulata* aşısı, attenüe *Theileria annulata* şizontları ile enfekte lenfoid hücrelerden hazırlanan bir doku kültürü aşısıdır; canlı bir aşıdır. Canlı parazitlerin kullanıldığı aşılar 20 yılı aşkın süredir mevcuttur, ancak kesin olarak etkinliği bulunmasına rağmen büyük ölçeklerde kullanılmamaktadır. Aşı üretimi ve dağıtımındaki altyapı eksiklikleri ve bölgesel parazit farklılıkları bu aşuların kullanımını azaltmaktadır. *T.annulata*’nın şizont evresi lenfosit hücrelerinde form aldığından aşı üretimi çalışmalarında enfekte T-lenfosit hücre hatları kullanılmaktadır. Bu zamana kadar yapılan büyük ölçekli aşı üretimi çalışmaları monolayer kültür şartlarında döner şişe üretim sistemlerinde gerçekleştirilmiştir. Ancak, bu şekilde üretilen aşılarda sadece belirli hacimlerde çalışılabilirdiğinden ürün verimi azdır ve çok fazla iş gücü gerekmektedir. Bu çalışmada, *T. annulata*’nın büyük ölçekli üretimlerinin yapılabileceği farklı tiplerdeki biyoreaktörlerde süspansö kültürüne adapte edilmiş T-lenfosit hücrelerinin üretim optimizasyonlarının gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.

**MATERYAL ve METOD:** *Theileria annulata* ile enfekte T lenfositlerin üretimi için döner şişe, vibrofermentör, karıştırılmalı tank biyoreaktör, karıştırılmalı ve havalandırılmalı tank biyoreaktörler ve dalgalı-çalkalamalı tek kullanımlık biyoreaktör gibi farklı kültür sistemleri ile çalışılmıştır. Kullanılan üretim sistemleri zaman zaman temel alınarak hücre yoğunlukları açısından karşılaştırılmıştır. Karıştırılmalı ve havalandırılmalı tank biyoreaktörde 2 L, vibrofermentör ve dalgalı-çalkalamalı tek kullanımlık biyoreaktör 1-L ve karıştırılmalı tank biyoreaktör ise 500-ml hacimde üretimler gerçekleştirilmiştir. Üretimlerde pH, çözülmüş oksijen, havalandırma hızı, sıcaklık ve karıştırma hızı gibi parametreler kontrol edilmiştir. Günlük hücre sayımı ile hücre yoğunluğu değerleri elde edilmiştir.

**SONUÇ:** Hem vibrofermentörde hem de karıştırılmalı ve havalandırılmalı tip biyoreaktörde, spinner flaskta ve dalgalı-çalkalamalı tek kullanımlık biyoreaktör yapılan üretime göre daha yüksek canlı hücre konsantrasyonlarına ulaşılmıştır. Ayrıca, karıştırılmalı ve havalandırılmalı tip biyoreaktörde, diğer kültür sistemlerine göre hücre canlılığının daha uzun süre korunduğu gözlemlenmiştir.



**TARTIŞMA:** Karıştırmalı tank biyoreaktörde *T. annulata*'nın üretimin veriminin arttırılması için karıştırma hızı, havalandırma hızı, çözünmüş oksijen ve pH gibi parametrelerin optimizasyon çalışmaları yapılabilir.

**TEŞEKKÜRLER:** Bu çalışma Dollvet Veteriner Aşı İlaç Biyolojik Madde Üretimi San. ve Tic. A.Ş. tarafından desteklenmiştir.

## Poster Konusu: Klinik araştırma (Epidemiyolojik çalışmalar, aşı uygulama yolları, aşuların koruyuculuğu ve güvenliği, v.b.)

P-22

### Buzağılarda Solunum Sistemi Viral Hastalıklarına Karşı Optimum Aşılama Zamanının Belirlenmesi

Pelin Tuncer, Kadir Yeşilbağ

Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakóltesi, Viroloji Anabilim Dalı, Görükle/Bursa, 16059, Türkiye  
Email: tuncerp@uludag.edu.tr

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Sığırlarda önemli sürü sağlığı problemlerinden biri olan solunum sistemi hastalık kompleksi içinde yer alan bovine respiratory syncytial virus (BRSV), bovine parainfluenza virus tip 3 (PI-3), bovine herpesvirus 1 (BHV-1), bovine viral diarrhoea virus (BVDV), bovine adenovirus tip 3 (BAV-3) ve bovine coronavirus (BCoV) enfeksiyonları ile mücadele sürü sağlığının devamlılığını sağlayabilmek yanında özellikle ekonomik yönden yetiştirici için önem arz etmektedir. Bu çalışmada, Türkiye koşullarında sözü edilen etkenlere karşı yeni doğan buzağılarda mevcut maternal antikorların gerileme dönemleri ve işletmelerde uygulanması gereken optimum aşılama zamanlarının ortaya konulması hedeflenmiştir.

**MATERYAL ve METOD:** Örnekleme yapılan işletmeler yönetim politikaları gereği aşı uygulamayan (n=94) ve aşı uygulayan (n=18) şeklinde iki grupta incelendi. İşletmelerde aynı ay içinde doğan buzağılardan yaşamlarının 1., 2., 3., 4., 6., 8., 10. ve 12. aylarında; annelerinden ise 1. ay örnekleme sırasında kan örneği alındı. Aşılanan gruptaki buzağılara 4 aylık yaşta iken BRSV, PI-3, BHV-1, BVDV-1 ve BVDV-2 etkenlerini içeren polivalan aşı uygulandı. Antikor titrelerini belirleyebilmek için 8 defa örneklenen 112 buzağının serum örneklerine serum nötralizasyon testi (SN50) uygulandı.

**SONUÇ:** Aşısız buzağı popölasyonunda BRSV, PI-3, BVDV, BAV-3 ve BCoV'un buzağıları erken yaşta enfekte ettiği ve sürüdeki seronegatif buzağıların yıl boyunca enfeksiyonun sirkölasyonunda rol oynadığı belirlendi. BRSV, PI-3, BVDV, BAV-3'e karşı 3. ayda, BCoV'a karşı ise 4. ayda maternal antikorların kaybolmaya başladığı görölürken, BHV-1'e karşı maternal antikor varlığı tespit edilemedi. Aşılı buzağılarda ise 4. ayda uygulanan polivalan aşı sonrasında antikor titrelerinin hızla azalmaya başladığı belirlendi.

**TARTIŞMA:** Bu çalışmada, maternal antikorların 2. aydan itibaren gerilemeye başladığı, buzağıların yeni enfeksiyonla 4.-8. aylarda karşılaştığı ve enfeksiyonların doğal olarak popölasyonda sirküle olduğu tespit edildi. Elde edilen bu verilere dayanılarak buzağılarda ilk aşılamanın 2.-4. aylar arasında yapılması ve pasif immunitenin aşı üzerinde yapabileceği olumsuz etkiyi en aza indirmek ve daha güçlü bir bağışıklık sağlayabilmek için 1 ay sonra tekrar dozunun uygulanmasının yararlı olacağı değerlendirildi.



# DİZİN

## A

Abamor, E.Ş .....	49,61,63,65
Aksu, H.....	30
Alkan, M.....	74
Allahverdiyev, A.M.....	19, 49,63,65,79
Alpay, G.....	69
Altun, S.....	23
Anıl, M.....	51, 81
Arslan, A.....	22
Arslanhan, A.....	29
Atalay Şahar,E.....	51,53,55,57,67

## B

Bağirova, M .....	49, 61,63,65,79
Büzakaya, H .....	75

## C

Can H .....	51, 53, 55,57,59,67
Canatan, H.....	29, 30
Christensen, D.....	15

## Ç

Çakır, M.....	30
Çavuşoğlu, D.....	36
Çelik, D.....	75

## D

Dalay, M.C .....	60
Değirmenci Döşkaya, A.....	53,55,57,67
Demirkaya, Ç.....	60
Dennis, V.A.....	15
Derici, M.K.....	41, 72,74,75,78
Deveci, R .....	57, 67
Doğan, N.....	75
Döşkaya, M.....	51,53,55,57,59,67,81
Dursun, S.....	24

## E

Eroğlu, E.....	17
----------------	----

## F

Felgner, P.L .....	13
--------------------	----

## G

Gedik, A.....	25
Gedik, Y.....	25
Gülce İz, S.....	32, 51,53,55,57,60,67,81
Gürhan, İ.D.....	83
Gürüz, Y.....	51, 53, 55,57,67,81

## H

Haçarız, O .....	16
Hameş, E.....	76
Hill, A.V.S .....	14

## İ

İskender, B .....	29
İzgi, K .....	29

## K

Kalantari-Dehaghi, M.....	57, 67
Kalaycı, G.....	76
Kaplan, H .....	24
Karaca, B.....	26
Karakavuk, M.....	53, 55
Karlığa, S.....	61
Katılı, F.F.P.....	78
Kaya, S .....	30
Koca, A.....	78
Köken, G.Y.....	49, 61, 79
Kurt, B.....	30

## M

Mekik, S .....	74
Mercan, F.....	75

## O

Oruç, M.A.....	72,74,75,78
----------------	-------------

---

<b>Ö</b>	
Özdarendeli, A.....	18
Özkul, A.....	21
Özyer, M.....	25
Özyılmaz, Ö.A.....	61, 63, 65

---

<b>P</b>	
Pekmez, K.....	76
Pirinççi, D.....	24

---

<b>S</b>	
Sağlam Metiner, P.....	81
Sarpay, H.E.....	72
Sezen, S.....	29, 30
Singh, S.R.....	17
Soya, S.....	70

---

<b>Ş</b>	
Şahar, U.....	59
Şakalar, Ç.....	29, 30
Şenel, S.....	34
Şengün, F.....	72

---

<b>T</b>	
Tamiş, D.A.....	83
Tel, O.Y.....	24
Tiwari, P.M.....	17
Topaç, O.....	42
Topal, O.M.....	38
Tuncer, P.....	85
Turan, A.....	30
Turan, E.....	45

---

<b>Ü</b>	
Ünal, N.....	24, 83

---

<b>Y</b>	
Yeniay, L.....	31
Yeşilbağ, K.....	69, 85
Yılmaz, G.....	61

---

<b>Z</b>	
Zorba, A.P.....	49, 61, 79

---

<b>W</b>	
Waffo, A.B.....	17



## SPONSORLAR



### ALTIN SPONSORLAR



### GÜMÜŞ SPONSORLAR



### BRONZ SPONSORLAR



### DESTEKLEYEN KURULUŞ







