



### INVITED REVIEW

#### SARS ve MERS aşılarının gizemi, Coronavirus aşısına yeni yaklaşımlar

Atilla Şimşek<sup>1\*</sup>, Oğuzhan Avcı<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı, Konya, Türkiye

Geliş:14.08.2020, Kabul: 21.10.2020

\*asimsek@selcuk.edu.tr

#### The mysterious of SARS and MERS vaccines, new approaches to a Coronavirus vaccine

Eurasian J Vet Sci, 2020, Covid-19 Special Issue, 76-90

DOI: 10.15312/EurasianJVetSci.2020.295

#### Öz

İnsanlarda ciddi akut solunum yolu sendromuna yol açan yeni tip bir coronavirus olan SARS-CoV-2'nin neden olduğu COVID-19 pandemisi, insanlığı büyük bir endişeye sevk etmiş ve tüm dünyada yaşamı önemli ölçüde etkilemiştir. SARS-CoV-2, yerleşik tedavilerin ve aşuların olmaması nedeniyle milyonlarca insana bulaşmış durumdadır. Dünyada aşı uygulamaları, insanlarda ve hayvanlarda enfeksiyöz hastalıklardan korunma ve kontrolde hem en etkili hem de en ekonomik ve umut verici yöntem olarak kabul edilmektedir. SARS-CoV-2'nin genom ve protein yapısının rekor seviyede denilebilecek bir sürede belirlenmiş olması, profilaktik amaçlı inaktive ve attenuue viral aşuların yanı sıra virus benzeri partikül, alt ünite, RNA, DNA ve vektör aşularının geliştirilmesine izin vermiştir. Ayrıca bu virüsle yakın akraba olan daha önce insanlarda salgınlara yol açmış SARS-CoV, MERS-CoV ile hayvanlara ait coronavirus enfeksiyonlarından elde edilen deneyimler de bu sürece büyük katkı sağlamıştır. Son coronavirus pandemisi, tüm dünyadaki üniversite ve araştırma enstitülerinin çalışma planlarını değiştirmelerine neden olmuştur. Bu kurumlar, hastalığın spesifik bir aşı ile nasıl durdurulabileceğini belirlemek amacıyla yoğun bir çalışma temposuna girmişlerdir. Şu an dünya genelinde ve ülkemizde birçok firma, üniversite ve enstitü SARS-CoV-2'ye karşı etkili aşı geliştirme programını çalışma kapsamlarına almış bulunmaktadır. Bu derlemede, coronavirus aşularıyla ilgili daha önceki deneyimler, dünya üzerinde yürütülmekte olan SARS-CoV-2 aşı gelişimine yönelik mevcut yaklaşımlar, kullanılan yöntem ve stratejiler ile aşı adayları gözden geçirilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Coronavirus, SARS-CoV-2, COVID-19, aşı

#### Abstract

COVID-19 pandemic caused by SARS-CoV-2, a new type of coronavirus that causes severe acute respiratory syndrome in humans, has caused great concern to humanity and significantly affected life all over the world. SARS-CoV-2 has been transmitted to millions of people due to the lack of established treatments and vaccines. Vaccination applications in the world are regarded as both the most effective and the most economical and promising method in the protection and control of infectious diseases in humans and animals. The determination of the genome and protein structure of SARS-CoV-2 in a record-breaking time allowed the development of prophylactic virus-like particle, subunit, RNA, DNA and vector vaccines as well as inactivated or attenuated viral vaccines. In addition, the experiences obtained from SARS-CoV, MERS-CoV which are closely related to this virus, and animal coronavirus infections, have previously caused epidemics in humans, and contributed greatly to this process. The latest coronavirus pandemic has caused universities and research institutes around the world to change their work plans. These institutions have entered into a busy schedule to determine how the disease can be stopped with a specific vaccine. Currently, many companies, universities and institutes around the world and in our country have included an effective vaccine development program against SARS-CoV-2. In this review, previous experiences with coronavirus vaccines and current approaches to SARS-CoV-2 vaccine development, methods and strategies carried out around the world and vaccine candidates are reviewed.

**Keywords:** Coronavirus, SARS-CoV-2, COVID-19, vaccine



## Giriş

Çin'in Wuhan kentinde 2019 yılı sonunda yeni bir coronavirusun neden olduğu solunum yolu enfeksiyonunun bildiriminden bu yana tüm dünya çok ilginç bir sürece şahitlik etti. Başlangıçta, yeni ve bölgesel olduğu sanılan ama kısa süre içinde pandemiye yol açan bir hastalıkla karşılaşmanın kaçınılmaz bir neticesi olarak çok fazla bilinmeyenle yüz yüze kalındı. Enfeksiyonun tüm dünyaya yayılması ile birçok ülkenin bilimsel araştırmalara katkı sağlayabilir hale gelmesi sonucu, çok kısa süre içerisinde hem etken hem de enfeksiyon hakkında bilinmeyenler yerini inanılmaz bir bilgi birikimine bıraktı. Ocak 2020'nin başlarında Çin makamları, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından önceleri 2019-nCoV, daha sonra Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) olarak adlandırılan, Wuhan'daki solunum yolu salgısından sorumlu etkenin yeni bir insan betacoronavirusu olduğunu duyurdular (WHO 2020a). Bu yeni virusun genomu rekor denilebilecek çok kısa bir süre içerisinde Genbank'a yüklendi ve makale olarak da yayımlandı (GenBank 2020, Zhou ve ark 2020a). Daha sonra yapılan çalışmalarda virusun yarasa kaynaklı zoonotik bir virus olduğu ve 2002-2003 yıllarında insanlarda salgına yol açan SARS-CoV ile %79,5 oranında benzerlik gösterdiği, aynı zamanda bu virus gibi angiotensin dönüştürücü enzim 2 (ACE2) adı verilen hücre reseptörünü kullandığı bilgilerine yer verildi (Li ve ark 2020, Wu ve ark 2020b, Zhou ve ark 2020b). Ancak bütün bu bilgi birikimine rağmen pandemi endişe verici düzeyde yayılımını sürdürmekte, etkene karşı ilaç ve aşı arayışları tüm dünyada bütün hızıyla devam etmektedir.

SARS-CoV-2 bütün insanlığı etkileyen çok yeni bir virus olması nedeniyle enfeksiyonu geçiren bireylerde oluşan bağışıklık konusunda henüz kesin bir bilgi birikimine sahip olmadığımız için coronavirus ailesinin diğer üyelerinde tecrübe edilen deneyimlerden yararlanılmaya çalışılmıştır. Daha önceki bilgilerimiz hem insan hem de hayvan coronavirusları ile geliştirilen aşuların reenfeksiyonlara engel olabilen ve uzun süreli etkin olmasına imkân tanıyan çok güçlü bir bağışıklık belleği oluşturamadıkları yönünde idi. Zaman ilerledikçe yapılan araştırmalar neticesinde etken ve enfeksiyon hakkında bilgilerimiz artmış ve insan vücudunun SARS-CoV-2 virusuna karşı immun yanıt oluşturabileceği konusunda veriler elde edilmiştir. Ama yine de oluşan bu yanıt ve immun belleğin ne düzeyde etkili olacağı henüz bilinmemektedir. Bu nedenledir ki sürü bağışıklığı, tedavi ve aşı gibi önemli konuların açıklığa kavuşması bu sorunun cevaplanmasına bağlıdır.

### Coronavirüslerin yapısı ve antijenik özellikleri

Aşular, bağışıklık sistemine bir etkeni enfeksiyona neden olmaksızın nasıl tanıyacağını, hatırlayacağını ve hedefleyeceğini öğretmek için adeta o enfeksiyonu taklit ederek çalışmaktadır. Bu süreçte bağışıklık sistemini aktive edecek yapılar, aşı geliştirilecek olan etkene ait yapısal proteinler veya bu

proteinlerin bir bölümünden oluşabilmektedir. Bu yapıların antijenik özellikleri de birbirinden farklı olabilmektedir. Coronavirus genomu, başak (S/Spine), matriks (M), zar (E/Envelop), nükleokapsid (N) ve hemaglutinin-esteraz (HE) proteinleri olmak üzere dört ila beş yapısal proteini kodlayan tek sarmallı pozitif anlamlı yaklaşık 30 kilobazlık bir RNA'dan oluşmaktadır (McIntosh ve Peiris 2009, Boopathi ve ark 2019). İnsanlarda enfeksiyona neden olan 7 farklı coronavirustan SARS-CoV, MERS-CoV (Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus), SARS-CoV-2, HCoV-229E ve HCoV-NL63 genomu, S, M, E ve N yapısal proteinlerini ifade eden dört gen içerir. HCoV-OC43 ve HCoV-HKU1 ise bunlara ilaveten HE proteinini eksprese eden fazladan bir gene sahiptir (McIntosh ve Peiris 2009, Rabaan ve ark 2020).

S proteini SARS-CoV-2 ile ilgili yürütülmekte olan güncel aşı çalışmaları kapsamında sağladığı çeşitli avantajlardan dolayı en umut verici antijen olarak karşımıza çıkan ve DSÖ tarafından bildirilen aşı adayları arasında en fazla tercih edilen antijenik yapıdır (WHO 2020c). Coronaviruslarla ilgili gerçekleştirilen araştırmalardan elde edilen veriler, virüsün yapısal proteinleri arasında yer alan S proteininin nötralize edici antikorların oluşmasından sorumlu en önemli protein olduğunu göstermiş ve aşı geliştirilmesinde ana hedef antijen olarak kabul edilmesini sağlamıştır (Buchholz ve ark 2004, Walls ve ark 2020). Bu yapı hedef hücre üzerindeki ACE2'ye bağlanmaktan ve hücreye girmekten sorumlu bölüm olan reseptör bağlanma bölgesini (RBD) de barındırmaktadır (Hoffmann ve ark 2020). Bu sayede patojenitesini devam ettirebilmesi için konakçı hücre ile etkileşime geçen virüsün S proteini, virüs partikülünün dış yüzeyinde yer almasına bağlı olarak konakçı immun sistemi tarafından direkt tanımlanmaktadır (Wrapp ve ark 2020). Bu protein daha önce SARS-CoV ve MERS-CoV'ye karşı aşı geliştirme çalışmalarında kullanılmıştır (He ve ark 2004, Du ve ark 2009). Şimdiye kadar tam uzunluktaki S proteini haricinde RBD (receptor binding domain/reseptör bağlanma bölgesi), S1 parçası (alt birimi), NTD (N-terminal domain/N ucu bölgesi) ve FP (füzyon proteini) bölümleri aşı geliştirilmesi çalışmalarında antijen olarak kullanılmıştır.

S glikoproteini, virüs partiküllerinin konakçı hücreye girmesi için gerekli olan trimerik transmembran bir yapı karakterindedir. Bu yapı; biri reseptöre bağlanmada rol oynayan, ACE2'nin peptidaz alanına (PD) doğrudan bağlanmasına izin veren RBD'yi de içeren S1, diğeri ise virüsün konakçıya ait hücre zarlarının füzyonundan sorumlu S2 olmak üzere iki fonksiyonel bölgeden ibarettir (Follis ve ark 2006, Xia ve ark 2020). S1 bölgesi coronaviruslar arasında farklılık gösterirken S2 bölgesi daha korunaklı bir yapı gösterir (Benvenuto ve ark 2020). SARS-CoV-2'nin yapısı hakkındaki bilgiler ile SARS-CoV ve MERS-CoV aşı adaylarından elde edilen bilgiler harmanlandığında, hedef epitopları kapsayan tam uzunluk-



taki S proteininin yanı sıra S1, RBD ve S2 alt birim türevlerinin de ayrı ayrı nötralizan antikor uyarımında rol oynayabileceği görüşüne ulaşılmıştır. SARS-CoV-2 enfeksiyonunu geçirmiş bireylerden elde edilen serumlarda S proteininin farklı bölgelerini (S1, RBD ve S2) hedefleyen nötralizan antikorların tespit edilmiş olması (Wu ve ark 2020a) bu yaklaşımı doğrulamaktadır. SARS-CoV-2'ye ait S proteini aynı zamanda glikozile bir protein olup (Watanabe ve ark 2020), yapılan analizler glikozile olmuş SARS-CoV-2 S proteininin glikozile olmayan muadiline göre daha organize bir yapıya sahip olduğunu göstermiştir (Banerjee ve ark 2020). Bu nedenle, SARS-CoV-2 S aşısı adayları hazırlanırken glikozilasyonun dikkate alınması gereken bir husus olduğu ileri sürülmüştür (Zhou ve ark 2020).

S proteininin RBD'si, konakçı hücre üzerindeki ACE2 reseptörü ile etkileşime girdiği için, RBD immunizasyonu ile oluşacak spesifik antikor yanıtı bu tanımayı engelleyebilir ve dolayısıyla virusun hücreye bağlanmasını önleyici rol oynayabilir. Halen geliştirilmekte olan SARS-CoV-2 alt birim aşılarının çoğunda antijen olarak RBD bölgesi tercih edilmektedir. RBD bölgesi daha önceki yıllarda SARS-CoV ve MERS-CoV aşısı geliştirilmesi çalışmalarında da kullanılmıştır (Du ve ark 2011). Ayrıca, S1 alt birimi ile karşılaştırıldığında nispeten korunmuş olan RBD alanının çoklu konformasyonel nötralizan edici epitoplara içerdiği bildirilmiştir (Jiang ve ark 2005, Shang ve ark 2020), bu da onu aşısı geliştirme için daha uygun hale getirir.

S2 alt biriminin FP bölgesi viral patojenitede önemli bir adım olan virusun hücre membranı füzyonunda görev almaktadır (Alsaadi ve ark 2019). Bu etkinliği nedeni ile aşısı çalışmalarında aday antijen olarak yer almaktadır. Öte yandan FP bölgesi S proteininde en çok korunan alanlar arasındadır (Madu ve ark 2009, Lai ve ark 2017). Bu nedenle her ne kadar DSÖ'ye SARS-CoV-2 aşısı adayları arasında bu proteine yönelik çok az sayıda bildirim söz konusu olsa da (WHO 2020c) membran füzyonunu hedeflemenin gelecekteki coronavirus salgınlarına karşı daha fazla çapraz fonksiyonel başarı sağlayabileceği ileri sürülmüştür (Xia ve ark 2019).

Transmembran M glikoproteini SARS-CoV yüzeyinde en fazla miktarda bulunan protein özelliği taşımaktadır (Neuman ve ark 2011). Bu virus ile ilgili çalışmalarda tam uzunlukta bir M proteini ile gerçekleştirilen immunizasyonun etkili nötralizan edici antikorlar sağlayabildiği bildirilmiştir (Pang ve ark 2004). M proteini ayrıca farklı türler arasında yüksek oranda korunduğundan bu proteinin coronaviruslara karşı aşısı geliştirmek için aday antijen olarak değerlendirilebileceği savunulmuştur (Neuman ve ark 2011). Ancak DSÖ'ye M tabanlı sadece birkaç aşısı adayını bildirilmiştir (WHO 2020c).

N proteini ise nükleokapsid oluşumu, virusun tomurcuklanması aşamasındaki sinyal transdüksiyonu, RNA replikasyonu ve mRNA transkripsiyonu aşamalarında görevleri olan bir

proteindir (McBride ve ark 2014). İnsanlarda uzun ömürlü bellek T hücrelerini uyardığı belirlenmiştir (Pang ve ark 2006). Ancak daha önceki yıllarda yapılan aşısı çalışmalarında elde edilen sonuçlar bu proteinin aşısı kapsamında kullanılıp kullanılmayacağı hususunda tartışmalara neden olmuştur (Kim ve ark 2004). SARS-CoV-2 için N proteini bazlı prelinik aşamada olan çok az sayıda aşısı adayı söz konusudur (WHO 2020c). Her ne kadar aşısı çalışmalarında kullanımı konusunda kuşklar bulunsa da yüksek immunojenitesi nedeni ile teşhis kitlerinde marker olarak kullanılmasının tercih edilebileceği ileri sürülmüştür (Zhang ve ark 2020).

E proteininin ise immunojenitesinin oldukça sınırlı olması nedeniyle antijen olarak kullanımının uygun olmadığı vurgulanmıştır (Nieto-Torres ve ark 2014).

### **Diğer coronaviruslardan edinilen tecrübeler**

İnsanoğlunun coronavirus ailesiyle ilk teması tabii ki bu pandemi ile olmamıştır. Dünya genelinde nispeten ılımlı ve mevsimsel seyreden HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43 ve HCoV-HKU1 tiplerinin insanlarda solunum yolu enfeksiyonlarına neden olduğu bilinmektedir. HCoV-229E ve HCoV-OC43 yaklaşık elli yıl kadar önce (Hamre ve Procknow 1966, Bradburne ve ark 1967) HCoV-NL63 ve HCoV-HKU1 ise SARS-CoV salgınından sonra izole edilmiştir (van der Hoek ve ark 2004, Woo ve ark 2005). Bu etkenlerin neden olduğu enfeksiyonlar, insanlarda her yıl gözlenen toplam solunum yolu enfeksiyonlarının yaklaşık %15-30'luk bir kısmından sorumludur (Vabret ve ark 2020) ve toplum içerisinde oldukça yaygındır (Galanti ve Shaman 2020). COVID-19 pandemisinde cevaplanması gereken en önemli kilit sorulardan biri, iyileşmiş bireylerde kazanılan bağışıklığın süresidir. SARS-CoV-2'nin geçmişinin dokuz ay gibi kısa bir zamana dayanıyor olması, meydana getirdiği bağışıklık süresi konusunda kesin bir bilgi edinmemizi sınırlandırmaktadır. Bir fikir vermesi açısından HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43 ve HCoV-HKU1 ile yapılmış araştırmalarda bu dört etkene karşı bir bağışıklık yanıtı oluştuğu belirtilse de maalesef uzun süreli koruyucu bir belleğin oluşmasının söz konusu olmadığı vurgulanmaktadır. Bu enfeksiyonlarda altı ay gibi kısa bir süre içerisinde antikor seviyesinde önemli düşüşlerin ve bir yıl içerisinde reeneksiyonların gözlenmiş olması (Edridge ve ark 2020, Galanti ve Shaman 2020) SARS-CoV-2 enfeksiyonu sonucu oluşabilecek immun yanıtın sürekliliği konusundaki endişeleri gidermek bir yana daha da arttırmıştır. Bütün bunların yanında insanlarda hafif seyirli enfeksiyonlara neden olan coronaviruslar, her yıl yeni suşlarla aşısı geliştirmek üzere yakından takibi yapılan ve devamlı olarak genetik analizi gerçekleştirilen influenza virusu ile aynı derecede ilgi görmemiş ve aşısı üretimine de gereksinim duyulmamıştır. Bu nedenledir ki bu virusların immun sistemden kaçışlarına müsaade edecek biçimde mutasyona uğrayıp uğramadıkları veya oluşan bağışıklığın kısa sürmesinin başka sebeplerinin olup olmadığı tam olarak ortaya konulamamıştır.





Coronavirus familyası tarafından insanlarda ilk ciddi enfeksiyona yol açan etken, 2002-2003 yıllarında yine Çin kaynaklı SARS salgınına neden olan SARS-CoV'dir. SARS-CoV salgınında ölüm oranı yaklaşık % 9 olarak gözlenmiştir. Altmış yaş üzeri ileri yaş popülasyonunda bu oran daha yüksektir (% 50) (Fehr ve Perlman 2015). Bu salgın, sadece ölüm oranı ile değil aynı zamanda dünya çapında 29 ülkeye yayılmasıyla (Du ve ark 2009) dikkat çekmiş, özellikle Güneydoğu Asya ve Kanada'da yaklaşık 40 milyar dolar gibi bir kayıpla oldukça yüksek bir ekonomik çöküşe yol açmıştır (Fehr ve Perlman 2015). Virus enfekte bireylerde akciğer epitel hücreleri başta olmak üzere dendritik hücreler ve makrofajlar gibi bağışıklık hücrelerini enfekte etmiş, aynı SARS-CoV-2 enfeksiyonlarında olduğu gibi bu hücrelerin proinflamatuvar sitokin üretimine bağlı olarak seviyelerinin aşırı derecede yükselmesine yol açmıştır. Haziran-Ağustos 2003 tarihlerinde virusun iyi yöndeki mutasyonuna bağlı olarak salgın sonlanmıştır (Peiris ve ark 2003, Lau ve Peiris 2005, Du ve ark 2009). Yapılan araştırmalarda SARS-CoV'nin doğal rezervuarının bir tür yarasası (*Rhinolophus sinicus*) (Li ve ark 2005), potansiyel ara konakçısının ise misk kedileri (Tu ve ark 2004) olduğu belirlenmiştir. Çin'in Yunnan kentinde, birçoğu insan hücrelerini enfekte edebilen yarasalara ait SARS ile ilişkili CoV'ler (SARSr-CoV) tanımlanmış ve daha ileri düzeyde karakterize edilmiştir (Ge ve ark 2013, Hu ve ark 2017). Bu tür bulgular, araştırmacılar tarafından zoonotik özelliğe sahip SARS-CoV veya SARSr-CoV'nin yeniden ortaya çıkma (reemerging) potansiyellerinin olduğu yönünde güçlü deliller olarak kabul edilmiştir.

SARS-CoV'yi izleyen bir sonraki coronavirus salgını, MERS-CoV ile meydana gelmiştir. Bu salgın 2012'de Orta Doğu'da (Suudi Arabistan) ortaya çıkmış, Suudi Arabistan ve diğer Orta Doğu ülkelerinde enfekte kişilerin solunum yollarında ciddi klinik belirtilere yol açmıştır (Zaki ve ark 2012). İnsanlardaki en ciddi coronavirus enfeksiyonu olarak gözlenen ve tek tük vakalar tarzında halen devam eden MERS-CoV'nin bireylerde oluşturduğu ölüm oranı DSÖ tarafından %34.3 olarak bildirilmiştir (WHO 2020b). MERS-CoV'nin tek hörgüçlü develerden izolasyonu ve virusa karşı nötralizan antikorların tespiti, bu develerin potansiyel olarak önemli bir ara konakçı olduğunu göstermiştir (Reusken ve ark 2013, Azhar ve ark 2014). Bu bulgular MERS-CoV'nin de SARS-CoV gibi zoonotik bir virus olduğu kanısını kuvvetlendirmiştir. Buna ilaveten yarasalarda filogenetik olarak MERS-CoV ile ilişkili CoV'lerin tespit edilmiş olması MERS-CoV'nin de asıl konakçılarının yarasalar olduğunu ortaya koymuştur (Lau ve ark 2018, Luo ve ark 2018).

SARS-CoV salgınından sonra çeşitli aşılar geliştirilmiş ve atenue, inaktif, vektör ve rekombinant S-protein bazlı aşılar hayvan modellerinde test edilmiştir (Roper ve Rehm 2009). Bu aşuların çoğunun hayvanları SARS-CoV ile challenge (aşılanmış hayvanlara enfekte virusun verilmesi)'dan koruduğu, ancak uzun süreli bir bağışıklık meydana getiremedikleri

ifade edilmiştir. Bununla beraber canlı virus ile fare modellerinde gerçekleştirilen bazı aşı uygulamalarında akciğer hasarı ve eozinofillerin infiltrasyonu (Bolles ve ark 2011, Tseng ve ark 2012) ile geciklerde karaciğer hasarı (Weingartl ve ark 2004) gibi komplikasyonlar rapor edilmiştir. Başka bir çalışmada, inaktive edilmiş SARS-CoV ile gerçekleştirilen aşılamanın bir maymundaki antikora bağımlı immunopatoloji (ADE/antibody-dependent enhancement) sonucu hastalığın klinik belirtileri arttırdığı, diğer hayvanlarda ise challenge'dan koruduğu ortaya konulmuştur (Wang ve ark, 2016). Aynı çalışmada, S proteini üzerindeki koruyucu özelliğe sahip belirli epitoplara tanımlanmış, diğer proteinlere karşı oluşan bağışıklığın ise hastalığın klinik seyrinin ağırlaşmasına neden olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, hemen hemen tüm olgularda aşılama hayvanlarının aşılama sonrası hayatta kalma oranlarında artış, organizmadaki viral titre ve morbidite oranlarında ise düşüş gözlemlendiği bilgisi paylaşılmıştır. SARS-CoV'ye karşı geliştirilen bazı nötralizan monoklonal antikorların SARS-CoV-2'nin reseptör bağlanma bölgesine karşı reaksiyon verebileceği belirtilmiştir (ter Meulen ve ark 2006, Tian ve ark 2020, Wang ve ark 2020). Bu durum haklı olarak SARS-CoV aşılarının SARS-CoV-2'ye karşı çapraz koruma sağlayabileceği fikrinin öne sürülmesine yol açmıştır. Ancak, bu konu üzerindeki çalışmalar faz I denemelerinden daha ileriye taşınmadığı için şu anda elimizde maalesef kullanıma uygun bir SARS-CoV aşısı mevcut değildir. Diğer yandan SARS-CoV için tanımlanmış monoklonal antikorlar ile yapılan nötralizasyon testleri sonucu, iki virus arasındaki çapraz immunitenin sınırlı olduğu yönünde bilgiler içeren çalışmalar da (Wrapp ve ark 2020) söz konusudur. MERS-CoV aşıları için de SARS-CoV aşısı adaylarında elde edilen verilere benzer bulgular bildirilmiştir (Agrawal ve ark 2016, Houser ve ark 2017). MERS-CoV'nin S proteinini hedefleyen modifiye vaccinia Ankara virus, adenovirus vektör aşıları ile DNA bazlı aşı adayları prelinik ve klinik geliştirme aşamasındadır (Yong ve ark 2019). Bununla birlikte, MERS-CoV aşılarının, iki virus arasındaki filogenetik mesafe (genomik benzerlik %50) nedeniyle SARS-CoV-2'ye karşı güçlü çapraz nötralize edici antikorları indüklemesi olası görünmemektedir (Pallesen ve ark 2017). Netice olarak SARS-CoV ve MERS-CoV ile ilgili yapılan aday aşı çalışmalarının, ciddi solunum yolu sendromlarına yol açan coronavirus aşıları üzerindeki gizem ve sis perdesini tam olarak aralayamasa da SARS-CoV-2 aşısı tasarımı nasıl ilerleyeceğimiz konusunda öğreneceğimiz çok değerli ipuçları barındırdığını söylemek yanlış olmaz.

Veteriner bilimleri sahasının coronaviruslar ile ilgili bilgi birikiminin başlangıcı tarihsel olarak daha öncelere dayanmaktadır. Bu birikimin temelleri insanlarda coronavirusların keşfedilmesinden yaklaşık 30 yıl kadar önce 1930'lu yıllarda kanatlılarda infectious bronchitis virusu (IBV) ile atılmıştır (Weiner 1987, Şimşek ve Dik 2020). Suşlar arasında oldukça yaygın antijenik varyasyon olmakla beraber bu varyasyonlar göz önüne alınarak hazırlanan aşılar, günümüzde IBV enfekte



siyonlarına karşı yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu aşı uygulamaları inaktive veya attenue canlı aşı tarzında olmakla beraber, inaktive aşılardan yeterli antikor oluşturamama, canlı aşılardan ise patojen varyantlara dönüşmesi ihtimali gibi olumsuzlukları söz konusudur (Jackwood ve De Wit 2020). Solunum yolu coronavirusları arasında tek lisans alabilmiş olan bu aşılardan diğeri bir sorunu ise tam bir koruma sağlamamaları, sadece virus saçılımı ve enfeksiyonun şiddetini azaltma şeklinde etki gösterebilmeleridir (Saif 2020). Hayvanlarda respiratorik CoV'lere karşı parenteral aşılamanın temel problemlerinden birisi, genellikle mukozal immunoglobulin A (IgA)'nın aracılık ettiği lokal bağışıklığı uyarmamasıdır. Mukozal bağışıklık, viral saçılım ve enfeksiyonun şiddetinin azaltılmasında önemli rol oynar. Bu durumun öncelikle respiratorik, daha az oranda enterik sistemi etkileyen SARS-CoV-2 için de geçerli olabileceği unutulmamalıdır (Wong ve ark 2020). Ayrıca, hayvanlara ait CoV'lere karşı enfeksiyondan sonra meydana gelen bağışıklığın kısa süreli gerçekleşmesi de diğeri bir problemdir. SARS-CoV-2 ile doğal enfeksiyon sonucu ortaya çıkan bağışıklık süresi de şu ana kadar tam olarak bilinmemektedir (Altmann ve ark 2020). Ruminantları enfekte ettiği bilinen en eski coronavirus bovine coronavirus (BCoV)'dur (Decaro ve Lorusso 2020). Bu virus, yenidoğanlarda buzağılarda yüksek mortaliteye sahip enterik enfeksiyon (Hasircioğlu ve Şimşek 2007, Decaro ve Lorusso 2020), süt ineklerinde kış dizanterisi ve özellikle 2-3 aylık danalar olmak üzere her yaştaki sığırlarda solunum yolu enfeksiyonu (Hasoksuz ve ark 1999, Menekşe 2019, Decaro ve Lorusso 2020) tarzında birbirinden farklı klinik belirtilere neden olabilmektedir. Veteriner hekimlikte sahada kullanılan lisanslı aşılardan birçoğu BCoV ve domuz coronavirusları (Transmissible gastroenteritis virus-TGEV ve Porcine epidemic diarrhea virus-PEDV) gibi enterik enfeksiyonlara yol açan coronaviruslar için geliştirilmiştir. Sığırlarda kullanılan enterik coronavirus aşıları, gebe hayvanlarda parenteral olarak kullanılarak kolostruma geçmesi sağlanan antikorların yavrularda bağışıklık oluşturması temeline dayalı tasarlanmış olup (Decaro ve ark 2020) ülkemizde de halen kullanılmaktadır. Köpeklerde CCoV-I, CCoV-II (Canine coronavirus-Alphacoronavirus) ve CRCoV (Canine respiratory coronavirus-Betacoronavirus) olmak üzere üç virustan bahsedilebilir. Bu virusların ılımlı enterik enfeksiyonlara yol açması nedeniyle aşı uygulaması çok yaygın olarak tercih edilmemektedir (Duijvestijn ve ark 2016, Decaro ve Lorusso 2020). Kedilerde ise Alphacoronavirus-1 genotipi olan ve avirulent, enterik FCoV-I (Feline CoV-I) ve FCoV-II olmak üzere iki tip virus bilinmektedir (Pedersen 2014). Ancak bu enterik FCoV suşlarının S protein genindeki mutasyonik değişimlere bağlı doku tropizmindeki farklılaşmalar, virulent FIPV (Feline infectious peritonitis virus)'nin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Öyle ki bu virusun neden olduğu FIP enfeksiyonunda virus, monosit/makrofajları enfekte etme yeteneğini kazanmakta, sistemik enfeksiyonlardan proinflamatuar sitokinlerin düzensizliğine (SARS-CoV-2 enfeksiyonlarında gerçekleşen sitokin fırtınası gibi) kadar değişen ciddi

klinik belirtiler ortaya çıkarmaktadır (Addie ve ark 2009). Şimdiye kadar bütün çabalara rağmen kayda değer etkili bir FIPV aşısı geliştirilememiştir. Bu enfeksiyonda temel sorunlardan birisi de deneysel aşı çalışmalarında challenge sonucu immunize edilen hayvanlarda kontrol grubuna göre daha şiddetli bir klinik tabloyla karşılaşılması olup bu durumun ADE mekanizmasını tetiklenmesinden kaynaklandığı vurgulanmıştır (German ve ark 2004). Bazı araştırmacılar (Decaro ve ark 2020) bu durumun insan CoV'lerine karşı aşı geliştirilmenin ne kadar zor olabileceği konusunda bir örnek teşkil edebileceğini ileri sürmüşlerdir.

### Antijenlerin hazırlanmasında kullanılan yöntem, strateji ve yeni yaklaşımlar

COVID-19'a karşı aday aşılardan geliştirilmesi amacıyla çeşitli tasarımlar uygulamaya alınmıştır. Genel manada 4 ana başlık altında 8 farklı tip tasarım ile SARS-CoV-2'ye karşı aday aşılardan geliştirilmeye çalışıldığı söylenebilir (Tablo 1). Her aşı tasarımı; immunojenite, güvenilirlik, kullanım kolaylığı ve etkinlik açısından hassas bir yapıya, avantaj ve dezavantajlara sahiptir (Plotkin ve ark 2013, Adalja ve ark 2019, Callaway 2020, Khuroo ve ark 2020).

### Tam virus aşıları

Klasik aşı teknolojisi diyebileceğimiz inaktif ve attenue aşı çalışmalarında, virüsü oluşturan komponentlere herhangi bir müdahalede bulunmaksızın tam virus partikülleri kullanılmaktadır. Tam virus antijeni kavramı virüsün oluşumunda yer alan protein, lipid, polisakarit, nükleik asit vs gibi yapıların tümünü ihtiva etmektedir. Tam virus antijenleri ile hazırlanan aşılarda, kompleks kompozisyonlarından dolayı kalite kontrol ve tutarlılık yönünden birtakım zorluklar yaşanmaktadır. Ayrıca hazırlanan aşılardan patojenitelerinin de belirlenmesi ve test edilmesi gerekliliği bulunmaktadır (Yadav ve ark 2014).

İnaktive aşılardan ısı veya kimyasal olarak inaktive edilmiş patojenler veya bunların fraksiyonlarından ibarettir. Bu aşı formülasyonları uygulandıktan organizmada replikasyon gerçekleştirmez, canlı aşılardan daha güvenlidir. Ancak bunların inaktivasyonu immunojenitesinin azalmasına ve uzun süreli bağışıklık oluşturmak için çok tekrarlı (rapel) uygulamaların gerekliliğine yol açar (Shin ve ark 2020). Ayrıca, bu aşı formülasyonları genellikle adjuvan gerektirir (Xie ve ark 2020). İnaktive aşılardan canlı aşılara kıyasla daha iyi stabilite profillerine sahip iken soğuk zincir gereksinimi söz konusudur (Shin ve ark 2020). Bu inaktif aşılardan (bir tanesi ülkemizde de klinik denemeleri yapılan Çin kaynaklı olmak üzere) üç aşı adayını faz III aşamasına gelmiş gözükmektedir (WHO 2020c, Xie ve ark 2020).

Attenue aşılardan canlı, uygulandıktan organizmada çoğalabilen fakat avirulent karakter gösteren aşılardır. Tek doz bağışık-



Tablo 1. Kullanılan antijene göre aşılardan sınıflandırılması

| Aşıl Türü                       | Aşılın Yapısı   | Aşılın Özellikleri, Kullanılan Diğer Aşılardan Bazı COVID-19 Aşılardan   |
|---------------------------------|---|--|
| Tam Virüs Aşılardan             |   |  |
| Inaktif Aşılardan               | Virüs formaldehid benzeri kimyasal maddelerle veya ısıyla inaktif edilmiştir.   | Bulaşıcı değildir; enfeksiyon riski yok, lilyofize edilmiştir; soğuk zincir zorunlu değil, immün yanıt için adjuvanta ihtiyacı duyar ADE'ye neden olabilir   |
| Zayıflatılmış (Attenuated)      | Virüs, genom mutasyona uğrayana ve hastalığa neden olmaya kadar hayvan veya insan hücrelerinde pasajlanarak zayıflatılır. | Uzun, hızlı üretime<br>Canlı aşı, vücutta replike olur; az da olsa enfeksiyon riski var.<br>Soğuk zincir; ihtiyacı var<br>Güçlü, uzun süreli T ve B hücreleri aracılı immün yanıt uyarır<br>Toplum bağışıklığına ulaşmak için uygundur<br>Kullanılan aşılardan: BCG, Rotavirüs, Sarı humma, Çocuk felci (OPV), Çiçek hastalığı, MMR, Sıçançığı, Aday COVID-19 aşısı (Preklinik); Codagenix/Serum Institute of India (Hindistan), Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi/Academ Labmed Sağlık Sağlık Grubu A.Ş. (Türkiye) |
| Protein Temelli Aşılardan       |   |  |
| Virüs benzeri partiküller (VLP) | Genetik materyal içermeyen partiküller kullanılır   | Güvenli,<br>Güçlü bağışıklık tepkisi,<br>Üretim zor<br>Aday COVID-19 aşısı (Preklinik); VBI Vaccines Inc.(ABD), Bezmaleem Vakıf Üniversitesi, ODTÜ (Türkiye)   |
| Altınite (Subunit)              | Antijenik yapıdaki proteinler (spike proteini gibi) in vitro olarak üretilir ve aşıl için konsantre edilir                | Güvenli,<br>Birden fazla doz uygulanması ve adjuvanta ihtiyacı var<br>Aday COVID-19 aşısı (faz I); Anhui Zhifei Longcom Biopharmaceutical/Bilim Akademisi Mikrobiyoloji Enstitüsü (Çin), Novavax (ABD)   |
| Nükleik Asit Aşılardan          |   |  |
| RNA Aşısı                       | Genellikle lipid partikülleri içinde kaplanmış spike proteini kodlayan mRNA kullanılır                                    | Güvenli,<br>Enfeksiyona yol açmaz,<br>ADE yanıtına neden olabilir.<br>Aday COVID-19 aşısı (Faz III): Moderna/NIAD (İngiltere), BionTech/Fosun Pharma/Pfizer (Almanya)<br>Aday COVID-19 aşısı (Preklinik); Selçuk Üniversitesi (Türkiye), Translate Bio/Sanofi Pasteur (ABD/Fransa)   |
| DNA Aşısı                       | Antijenik yapıları (S proteini) kodlayan gen kullanılır   | Güvenli,<br>Enfeksiyona yol açmaz,<br>Tek başına kullanıldığında ADE yanıtına neden olabilir.<br>Son derece immünojenik, inaktif aşı ile verildiğinde yüksek titreli nötralize edici antikorlar üretir.<br>Uygulama için elektroporasyon cihazı gerekebilir.<br>Aday COVID-19 aşısı (Faz I/II): Inovio Pharma/CEPI/Kore Sağlık Enstitüsü/uluslararası Aşı Enstitüsü, Osaka University/AnGes/Takara Bio (Japonya), Genexine Consortium (Güney Kore)   |
| Vektör Aşılardan                |   |  |
| Replike olmayan vektörler       | Inaktif adeno virüs veya kızamık gibi bir virüs genetik olarak hedef geni kodlamak için tasarlanır                        | Güvenli,<br>Uzun süreli bağışıklık sağlamak için aşı tekrarına ihtiyacı var,<br>Henüz lisanslı bir aşı yok<br>Aday COVID-19 aşısı (Faz III): CanSino Biological Inc./Beijing Institute of Biotechnology (Çin), Oxford Üniversitesi (İngiltere), Gamaleya Research Institute (Rusya), Janssen Pharmaceutical Companies (ABD)  |
| Replike olan vektörler          | Adenovirüs ve kızamık gibi bir virüs genetik olarak hedef geni kodlamak için tasarlanır.                                  | Güvenli,<br>Güçlü T ve B hücre tepkisi oluşturur,<br>Kullanılan aşılardan: Hepatit B, boğmaca, S. pneumoniae'nin neden olduğu pnömoni, HPV, Hib (Haemophilus influenzae) Aday COVID-19 aşısı (Faz I); Institute Pasteur/Themis/Univ. of Pittsburgh CVR/Merck Sharp & Dohme (Fransa/ABD), Beijing Wantai Biological Pharmacy/Xiamen University (Hollanda/Çin)   |



lamanın amaçlandığı canlı ateuve virus (LAV) aşıları virusun hayvan veya insan hücre kültürlerinde seri pasajları sonu geliştirilir. Bu aşılar uygulanan organizmada doğal bir enfeksiyondaki gibi çoğalır ve uzun süreli güçlü T hücresi ve B hücresi bağışıklık tepkisine neden olur. Buna karşın virusun etrafa saçılımı, patojen forma geri dönüş, bağışıklık problemi yaşayan bireylerde yeniden aktif hale dönüş, popülasyonda dolaşan ilgili viruslarla rekombinasyon gibi dezavantajların yanında özellikle de SARS-CoV-2 gibi patofizyolojisinin henüz tam olarak anlaşılmadığı yeni hastalıklar için risk taşıyabilir (Bull 2015, Kaur ve Gupta 2020). Ayrıca, aşı üretimi sırasında virusun etkinlik kaybı ve üreme potansiyelinde sorunlar oluşabilmektedir. Günümüzde yüksek düzeyde üreme kabiliyeti gösteren, genetik olarak stabil LAV oluşturmak için kodon deoptimize, genetik kod genişletme (Genetic code expansion) gibi yeni teknolojiler uygulanmaktadır (Si ve ark 2016, WHO 2020c). Son zamanlarda sentetik genomik yaklaşımlar, viral cDNA fragmanlarından rekombinant SARS-CoV-2 viruslarının sentezini sağlamıştır (Thao ve ark 2020, Xie ve ark 2020) Bu stratejilerin SARS-CoV-2 LAV'lerinin hızlı üretimi için kullanılabileceği ileri sürülmüştür (Shin ve ark 2020).

### Protein temelli aşılar

Virus benzeri partikülleri (VLP) içeren aşılar, güvenli ve immunojenik olmalarına rağmen üretimleri zordur. VLP aşıları rekombinant ekspresyon teknolojisi ile üretilebilir ve ligand, immunomodülatör ve hedef bölgelerin aşıya dahil edilmesi gibi genetik mühendisliği yöntemlerinin kullanılmasına da imkân sağlar. Hem protein nanopartikülleri hem de VLP'ler; yüksek düzeyde düzenli, kararlı ve homojen dağılımlı aşı formülasyonları sunabilmektedir. Bunun yanı sıra, düşük maliyetli ve insan patojenlerinin bulaşını engelleyen fermantasyon veya moleküler tarım yoluyla bitkilerden ölçeklenebilir nitelikte üretimleri yapılabilmektedir (Shin ve ark 2020). Protein temelli aşılardan alt ünite aşıları, uzun süreli koruyucu veya terapötik immun yanıtı aktive etmek için gerekli olan sentetik peptit ya da rekombinant antijenik protein temelinde dayanan aşılardır (Wang ve ark 2020). Konakçı bağışıklık sistemini etkili bir şekilde uyarabilen güçlü immunojeniteye sahip bir veya daha fazla viral antijen içerebilmektedirler. Bununla birlikte, alt birim aşılar düşük immunojenite sergilerler ve aşıyla indüklenen immun tepkileri güçlendirmek için bir adjuvanın yardımcı desteğine ihtiyaç duyarlar. Bir adjuvan, antijenik materyalin biyolojik yarı ömrünü artırabilir veya immünomodülatör sitokin yanıtını düzenleyebilir. Bu nedenle bir adjuvanın eklenmesi, protein alt birim aşılarının eksikliklerinin giderilmesine yardımcı olur (Cao ve ark 2018). Şimdiye kadar farklı birkaç kurum SARS-CoV-2 alt birim aşısı ile ilgili programlar başlatmış olup genellikle nötralizan antikor uyarımı için antijen olarak S proteinini tercih etmişlerdir. Virus, ACE2 reseptörüne S protein aracılı bağlanmayı kullanarak endositoz yoluyla hücreye girdiğinden dolayı tam uzunluktaki S proteininin yanısıra antijenik S1,

RBD, S2 fragmanları da alt ünite aşılar için ana hedef olarak görülmektedir (Wang ve ark 2020). S glikoproteini füzyon öncesi ve füzyon sonrası iki konformasyonel yapıya sahip dinamik bir proteindir. Bu nedenle antijenin iyi kalitede antikor yanıtı uyarımı için epitoplarını, yüzey kimyasını ve orijinal prefüzyon S protein profilini koruması gerektiği vurgulanmaktadır (Graham 2020).

### Nükleik asit aşıları

Nükleik asit aşıları modern teknoloji ile kullanıma sunulan yeni nesil aşılardır.

RNA aşısı üzerine yapılan araştırmalar; mRNA sentezi, modifikasyonu ve gelişen teknolojinin verdiği imkanlar dahilinde son yirmi yılda hız kazanmıştır. mRNA aşıları koruyucu bir bağışıklık yanıtı oluşturmadaki yüksek potensleri nedeni ile seçilen, bir veya birden fazla antijeni kodlayabilen bir nükleotid dizisi sunarak aşı geliştirme çalışmalarında yenilikçi bir yaklaşım sunmaktadır. Ayrıca hücre çekirdeğine girmeye gerek kalmadan protein üretimini başlatabilme yeteneği, kısa üretim prosesleri, düşük maliyetli üretim ve güvenli uygulamaları gibi avantajlarından dolayı geleneksel aşı yaklaşımlarına alternatif olarak umut vaat eden aşılar olarak karşımıza çıkmaktadır (Pardi ve ark 2017). RNA aşılarında SARS-CoV-2'nin genellikle S proteinini ifade eden mRNA kullanılır. Bu aşılar güvenli olup platform teknolojisi ile üretilmesi kolaydır ve belki de aşılarda geleceğinde ezberbozan aşılar olarak tanımlanabilir. Dünya Sağlık Örgütü tarafından faz III aşamasında toplam iki adet, faz II aşamasında bir adet (Tablo 2), faz I/II aşamasında bir, faz I aşamasında gelmiş iki adet, preklinik aşamada ise yaklaşık 18 adet mRNA aşısı bildirilmiştir (WHO 2020c, Zhang ve ark 2020).

DNA aşıları ise rekombinant DNA teknolojisi temelinde dayalı olan ve gen mühendisliği yardımıyla elde edilen aşılardır. DNA aşıları tipik olarak bir veya daha fazla antijeni kodlayan plazmid DNA moleküllerinden oluşabilir. Çok sayıda antijeni kodlayabilme potansiyelleri, kararlılık ve iletim verimliliği hususlarında mRNA aşılardan daha üstündürler ancak etki göstermeleri için çekirdeğe girmeleri gerektiğinden konakçı genomunda hem vektör entegrasyonu hem de mutasyon riski taşımaktadırlar (Liu 2019). Şimdiye kadar faz I/II aşamasında olan 4 adet, preklinik aşamada yaklaşık 11 adet SARS-CoV-2 DNA aşısı bulunmaktadır (WHO 2020c).

Moderna, BioNTech/Pfizer, CureVac ve Inovio gibi birçok şirket nükleik asit bazlı aşılar geliştirmek üzere çalışmalar yürütmektedir. DNA ve mRNA bazlı aşılarda viral sekans temelinde kısa süre içerisinde üretilebilmeleri klinik uygulamalara geçilebilmesinde hızlı yol alınmasına olanak sağlamaktadır (Dowd ve ark 2016, Pardi ve ark 2017). DNA'nın optimal immunojenitesi için DNA'nın hücrelere girişini kolaylaştırmak amacıyla elektroporasyon gibi bir cihaza ihtiyaç duyulması uygulamada zorluklara yol açabilir. mRNA aşıla



Tablo 2. Dünya Sağlık Örgütü tarafından faz III ve faz II aşamasına geldiği belirtilen aşı adayları\*

| COVID-19 aşısı geliştirici/üretici kurumları**                                    | Aşı platformu                 | Aday aşı tipi  | Daha önce aynı stratejinin kullanıldığı aşılar<br>(Yahut ve ark:2020) |              | Uygulama yolu | Doz sayısı                | Doz uygulanma zamanı | Klinik aşama |
|---|-------------------------------|--|---|--------------|---------------|---------------------------|----------------------|--------------|
|   |                               |  | Uygulama yolu   | Doz sayısı   |               |                           |                      |              |
| Beijing Biyolojik Ürünler Enstitüsü/Sinopharm                                     | İnaktif                       | İnaktif  | HAV, IAV, IBV, poliovirus, rabies virus                               | Kas içi (IM) | 2             | 0/14 veya 0/21 gün        | Faz III              |              |
| BoNT ech/ Fosun Pharma/Pfizer   | RNA                           | 3 adet lipid nanopartikül (LNP)-mRNA   |   | IM           | 2             | 0 ve 28 gün               | Faz III              |              |
| Cansino Biological Inc./Beijing Biyoteknoloji Enstitüsü                           | Replikle olmayan viral vektör | Adenovirus tip 5 vektör  | EBV   | IM           | 1             | -                         | Faz III              |              |
| Camaleya Araştırma Enstitüsü  | Replikle olmayan viral vektör | Adenovirus bazlı (Ad26-S+HAf5-S)   |   | IM           | 2             | 0 ve 21 gün               | Faz III              |              |
| Janssen İlaç Şirketi  | Replikle olmayan viral vektör | Ad26COV19S   |   | IM           | 2             | 0 ve 56 gün               | Faz III              |              |
| Moderna/NIAD  | RNA                           | LNP'le kaplanmış mRNA  | CMV, ZKV  | IM           | 2             | 0 ve 28 gün               | Faz III              |              |
| Oxford Üniversitesi/AstraZeneca   | Replikle olmayan viral vektör | ChAdOx1-S  | MERS-CoV, IAV   | IM           | 1             | -                         | Faz III              |              |
| Shovac  | İnaktif                       | İnaktif  | HAV, IAV, IBV, poliovirus, rabies virus                               | IM           | 2             | 0 ve 14 gün               | Faz III              |              |
| Wuhan Biyolojik Ürünler Enstitüsü/Sinopharm                                       | İnaktif                       | İnaktif  | HAV, IAV, IBV, poliovirus, rabies virus                               | IM           | 2             | 0/14 veya 0/21 gün        | Faz III              |              |
| Abuh Zafrei Longcom Biopharmaceutical/Çin Bilim Akademisi Mikrobiyoloji Enstitüsü | Protein Subünlü               | Adjuvanlanmış rekombinant protein (Dimer Receptor Bağlama Bölgesi/ RBD içeren) aşı                 |   | IM           | 2 veya 3      | 0/28 gün veya 0/28/56 gün | Faz II               |              |
| Curevac   | RNA                           | mRNA   |   | IM           | 2             | 0 ve 28 gün               | Faz II               |              |
| Novavax   | Protein Subünlü               | Matrix M ile adjuvanlanmış em uzumlu kalıcı rekombinant SARS-CoV-2 glikoprotein nanopartikül aşısı |   | IM           | 2             | 0 ve 21 gün               | Faz II               |              |

\*DSO-21.09.2020 (<https://www.who.int/publications/m/item/detailed-landscape-of-covid-19-vaccine-candidates>). Bu tablo da belirtilmeyen faz/II aşamada birliğe yürüyen 10 adet aşı daha bulunmaktadır.

\*\*Aday aşilar kendi aralarında geliştirdiği bürünlerin baş harflerine göre sıralanmıştır.

HAV, hepatitis A virus; IAV, influenza A virus; IBV, influenza B virus; EBV, Ebola virus; CMV, cytomegalovirus; IPV, human papillomavirus; ZKV, Zika virus.





rında ise hassas mRNA yapısının organizma içinde korunabilmesi, dağılımının sağlanabilmesi ve immunojeni etkili bir şekilde adjuvanlamak için lipit nanopartiküllere ihtiyaç bulunmaktadır. Bu lipit nanopartiküllerin ölçeklenebilirliği ve ısı kararlılıkları ele alınması gereken konular olarak karşımıza çıkmaktadır. Her ne kadar nükleik asit aşuları ile ilgili geniş çaplı klinik deneyim olsa da yaygın kullanım için lisanslanmış bir aşı maalesef bulunmamaktadır. Bu nedenle bu aşı adaylarının immunojenite ve güvenilirlikleri ile ilgili bazı belirsizliklerin bir an önce giderilmesi gerekmektedir (Corey ve ark 2020).

### Vektör aşuları

Viral vektör teknolojisi, asıl virusla ilişkisi olmayan bir etkenin genomuna tasarlanmış hedef antijeni kodlayan bir veya daha fazla genin entegre edilmesini kapsar. Vektör, replike olan veya olmayan karakterde olabilir (Robert-Guroff 2007, Ewer ve ark 2016, Koirala ve ark 2020). Replike olan vektör aşularında uygulama sonucu organizmada vektör çoğalır ve bu sayede kodlanmış DNA eksprese edilir ve işlenir, sonuçta T ve B hücreleri bağışıklık tepkisi verir. Bunlar canlı atenue aşuların güçlü immunojenitesinin ve subunit aşuların güvenilirliğinin birleştirilmesiyle karakterize edilmektedir (Gonzalez-Nicolini ve ark 2006). Vektörler, E. coli gibi bakteriler de olabilir (Ewer ve ark 2016). Vektör aşuları, SARS-CoV-2 ile ilgili olarak en fazla üzerinde çalışılan aşı türleridir. Faz III aşamasına gelmiş 4 adet, faz I'de 2 adet, prelinik aşamada 19 adet replike olmayan viral vektör aşı adayı bulunurken; faz I'de 2 adet, prelinik aşamada ise 1 adet bakteriyel, 18 adet viral vektör olmak üzere toplam 19 adet replike olan vektör aşı adayı bildirilmiştir (WHO 2020c).

Daha önce HIV, Ebola, Zika ve Chikungunya için, adenovirus (Ad), kızamık virusu (MV), veziküler stomatit virusu (VSV), alfavirus, poxvirus ve herpesviruslar gibi viral vektörlerin kullanıldığı aşı geliştirme çalışmalarından elde edilen tecrübelerle göre, hücrel ve humoral bağışıklığın uyarılması için eklenen transgen uzunluğunun 5 kb veya daha fazla olması gerekliliği ileri sürülmüştür (Robert-Guroff 2007). Bu platformla ilgili en önemli endişe ise aşı uygulanan bireylerde adenovirus tip 5 (Ad5) ve MV gibi viral vektörlere karşı önceden var olan olası bağışıklığın geliştirilen aşının etkinliğini azaltması ihtimalidir. Düşük insan prevalanslı adenoviral serotiplerin (Ad26 veya Ad35) veya şempanzelere ait adenovirusların seçimi gibi yaklaşımlar, sorunu aşmak için kullanılan yöntemlerdendir (Folegatti ve ark 2020, Koirala ve ark 2020).

Yeni bir aşının geliştirilebilmesi için yıllarla ifade edilebilecek uzun bir sürece gereksinim duyulan çalışmaların, son yıllarda "aşı platform teknolojileri"nin gündeme gelmesi sonucu aylarla ifade edilebilecek kadar kısalması önemli bir kazanım olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu terim, farklı

etkenlere ait immunojenik proteinlerin sentezinde görevli heterolog genlerin, standardize edilmiş viral vektör genomlarına dahil edilerek farklı viral vektör aşularının üretimi teknolojisini ifade etmektedir. Kısaca belirli vektörlere adeta tak-çalıştır konsepti ile immun yanıt oluşturulması istenen farklı viral proteinlerin genleri entegre edilebilir ve eksprese edilen proteine karşı immun yanıtın uyarımı gerçekleştirilebilir (Adalja ve ark 2019).

### Aşı geliştirme aşamaları

Her yeni aşı ancak titizlikle takip edilmesi ve tamamlanması gereken sıkı bir protokolden sonra lisans alınarak sahada kullanılabilir. DSÖ, ABD Gıda ve İlaç İdaresi (USFDA), Avrupa İlaç Ajansı (EMA) ve ülkemizde de Sağlık Bakanlığı olmak üzere birçok ülkenin ulusal düzenleyici makamları, aşuların klinik değerlendirmesi ile ilgili kılavuz ilkeleri tanımlamışlardır. Aşı geliştirme yönergeleri, ilaç geliştirme amaçlı ilkelere daha katıdır. Bu durum aşuların küresel kullanım, üretim ve pazarlama için büyük bir potansiyele sahip olmaları ve çocuklar, yaşlı bireyler ile hamile bayanlar da dahil olmak üzere tüm sağlıklı popülasyonlara uygulanacak olmasından kaynaklanır. Aşı geliştirilmesi; benzersiz, çok aşamalı, belirli bir düzen içerisinde gerçekleştirilir ve keşif, prelinik, klinik ve pazarlama sonrası olmak üzere dört temel aşamadan oluşur. Klinik çalışmalar faz I, faz II ve faz III olmak üzere üç safhaya ayrılır. Klinik faz çalışmalarına başlamadan önce "Klinik Araştırma Yetkisi" ve sonuçlar başarılı olursa aşının pazarlanması için "Biyolojik Lisans Başvurusu/Onayı" olmak üzere iki önemli iznin alınması zorunludur (WHO 2017, Khuroo ve ark 2020, Patel ve ark 2020). "Keşif" aşaması araştırma ağırlıklı aşama olup 2-5 yıl kadar sürebilir (günümüzde platform teknolojileri sayesinde bu süre çok kısalmıştır) ve patojenin doğası ile ilgili nedenlerden dolayı başarı oranı yaklaşık %40 olarak kabul edilir. "Prelinik" aşama; hücre kültürü ve deney hayvanlarında toksisite, antikor cevabı ve challenge çalışmalarını kapsar, 1 yıldan az bir zaman alır ve başarı oranı %33 civarında kabul edilir. "Klinik denemeler" için izin alınan aşı adayları yaklaşık birkaç ay süren ve %66 başarı oranına sahip "faz I" aşamasında, 20-100 sağlıklı gönüllü klinik belirti ve antikor oluşumu yönünden yoğun gözlem altında tutulur. Bu safhada asıl amaç aday aşının güvenilirliğini belirlemektir. "Faz II"; farklı grupları içeren yüzlerce gönüllüde yine klinik ve antikor cevabının izlendiği, plasebo, adjuvant ya da aşıya karşı oluşan tepkilerin araştırıldığı aşama olup bu aşamada güvenilirlik ve etkinlik verileri elde edilir. "Faz III"; binlerce (1000-3000) gönüllüde yıllarca süren etkinlik ve ciddi yan etkilerin izlendiği safhadan oluşur ve başarı oranı tahmini %70 kabul edilir. İnsanlarda güvenilir ve etkin olduğu belirlenen aşuların biyolojik lisansının alınıp pazarlanmasından sonra sahada binlerce insanda kullanılarak uzun süreli izlemeye alındığı aşama ise faz IV olarak tanımlanmaktadır (Khuroo ve ark 2020).

### Dünyada ve ülkemizde SARS-CoV-2 aşı çalışmaları

Tüm dünyada SARS-CoV-2 enfeksiyonlarına karşı etkili bir ilaç bulunabilmesi için bugüne kadar yapılan veya halen yapılmakta olan yoğun araştırmalarda henüz sevindirici bir sonuca ulaşılamamıştır. Enfeksiyöz hastalıklarda hastalık şekillendikten sonra tedavi olanaklarının kullanılmasından daha çok hastalıktan korunmanın temel unsur olduğu düşünülecek olursa, mücadelede tek seçeneğin tüm ülkeler ve popülasyonlar için uygun maliyetli, etkili ve güvenli bir aşının keşfi olduğu çok açıktır. Bu özelliğe sahip bir aşının bulunması, hastalık insidansını düşürerek toplum bağışıklığı oluşturacak, bulaşmayı engelleyecek, sonuçta enfeksiyonun sosyal ve ekonomik yükünü azaltacaktır. Bu bağlamda gerçekleştirilecek kapsamlı bir bağışıklama, pandemi ile etkili bir şekilde mücadele edilebilmesine, enfeksiyonun ikincil dalgalarının önüne geçilebilmesine ve enfeksiyonların kontrol edilebilmesine yol açacaktır (Khuroo ve ark 2020).

Dünya Sağlık Örgütü tarafından 21 Eylül 2020 tarihi itibarıyla toplamda 38 adet aşı adayının klinik aşamada, 149 adet aşının ise preklinik aşamada olduğu belirtilmiştir (WHO 2020c). Farklı ülkelerde klinik denemeleri devam eden 9 adet aşının faz III, 3 adet aşının ise faz II aşamasına kadar gelmesi (Tablo 2) insanlık açısından oldukça ümit vericidir. Ülkemizde ise 8 tanesi TÜBİTAK tarafından desteklenen top-

lam 11 aşı adayı ile ilgili preklinik çalışmalar halen devam etmektedir (Tablo 3). "COVID-19 Türkiye Platformu" altında 8 aşı projesine ilaveten tedavi odaklı 10 ilaç geliştirme projesi de 49 farklı kurumdan 436 araştırmacının katılımıyla, TÜBİTAK MAM Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsü'nün koordinasyonunda yürütülmektedir (TÜBİTAK 2020).

### Öneriler

Yaşam tarzımızı derinden etkileyen COVID-19 enfeksiyonunun pandemi ilan edilmesinin üzerinden henüz bir yıl bile geçmemişken, karşı karşıya kaldığımız bu yeni enfeksiyon ve etkeni hakkında laboratuvar çalışmaları ile hastalığa yakalanan veya hastalığı geçirmiş olan bireylerden her geçen gün yeni veriler elde edilmektedir. Aşı çalışmalarında bizlere önderlik edecek olan doğal enfeksiyonlar sonucu oluşan antikorların ne kadar süre devam edeceği veya yeniden enfeksiyona karşı koruma sağlayıp sağlamayacağı henüz çok ayrıntılı olarak bilinmemektedir. Hastalığı geçiren bireylerin büyük bir çoğunluğunda 10-15. günden itibaren antikor tepkisi tespit edilmesine rağmen gelişen bağışıklığın yetersiz ve çoğu insanda kısa ömürlü olduğu yönünde bulgular ortaya konulmuştur (Long ve ark 2020, Seow ve ark 2020). Ciddi COVID-19 vakaları geçiren bireylerde antikor seviyelerinin daha yüksek ve kalıcılıklarının daha uzun sürdüğü, bazı hafif seyirli vakalarda ise üç ayın sonunda antikor tespit edileme-

Tablo 3. Türkiye’de gerçekleştirilen preklinik aşamadaki aşı çalışmaları\*

| COVID-19 aşısı geliştirici/üretici kurumlar**                      | Aşı platformu                | Aday aşı tipi                                  |
|--|------------------------------|--|
| Ankara Üniversitesi  | Replike olmayan viral vektör | Adenovirus bazlı                               |
| Bezmialem Vakıf Üniversitesi                                       | VLP                          | VLP  |
| Boğaziçi Üniversitesi  | Protein subunit              | Peptit + yeni adjuvant                         |
| Ege Üniversitesi   | DNA                          | DNA aşısı                                      |
| Erciyes Üniversitesi   | İnaktive                     | İnaktive                                       |
| Erciyes Üniversitesi   | Replike olmayan viral vektör | Adenovirus bazlı                               |
| İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi                                     | Protein subunit              | Rekombinant S proteini                         |
| Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi/Acıbadem Labmed Sağlık Grubu A.Ş. | Canlı Attenuation            | Virus kodon deoptimize canlı attenuation aşısı |
| Ortadoğu Teknik Üniversitesi                                       | VLP                          | VLP  |
| Selçuk Üniversitesi  | İnaktive                     | İnaktive                                       |
| Selçuk Üniversitesi  | RNA                          | mRNA   |

\*DSO-21.09.2020 (<https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>)

\*\* Kurumların baş harflerine göre sıralama yapılmıştır.



diği bildirilmiştir (Seow ve ark 2020). Bu veriler SARS-CoV-2 enfeksiyonu geçiren bireylerin yeniden enfekte olabilecekleri yönünde kuşkuyla yol açmaktadır. Bu durum güçlü aşılarda geliştirme ihtiyacını ortaya çıkarmaktadır.

Bütün bunlara ilaveten bazı çevrelerce, bağışıklık mekanizmasında asıl hedeflerden birisi olan virusun S proteininin mutasyon geçirebileceği konusunda görüşlere de yer verilmektedir. Bu durum aşılardan bir kişinin virustan korunmasını tehlikeye atabilecek bir sorun olarak ortaya çıkmaktadır. Bu gerçekleşirse influenza viruslarında olduğu gibi COVID-19 aşılarını da sık sık yeniden formüle etmek gerekecektir. Ancak araştırmacılar virusta immün yanıtı değiştirecek düzeyde bir mutasyonun şu ana kadar tespit edilememesi nedeniyle durumun böyle olup olmayacağını söylemek için çok erken olduğu konusunda görüş birliğindedirler.

Şu ana kadar aşı adaylarından yaklaşık %72'sinin özel firmalar tarafından, %28'sinin ise akademik, kamu sektörü ve diğer kâr amacı gütmeyen kuruluşlar tarafından geliştirilmektedir. Çok sayıda Janssen, Sanofi, Pfizer ve GlaxoSmithKline gibi çok uluslu aşı geliştiricisi büyük firmalar COVID-19 aşısı geliştirme çalışmalarını yürütüyor olsa da, faz çalışmalarında önde giden geliştiricilerin çoğu küçük çaplı kurum ve kuruluşlar olup dünyanın ihtiyacı olan büyük ölçekli aşı üretiminde deneyimsizdirler (Le ve ark 2020). Bu nedenle, aşı üretiminin koordinasyonunun ve talebi karşılayacak kapasitenin sağlanması oldukça önemli olacaktır. Dünya nüfusuna yetecek miktarda doz aşı üretimi, tüm dünyanın bu sürece katkı sağlamasını gerektirecek gibi gözükmektedir. Ayrıca üretimi sürdürmek için yeni teknolojiler geliştirilip fabrikalar inşa edilse de dağıtım için şişlenecek olan aşı ürünlerinin dolumundan son adımları da dahil olmak üzere gerekli biyolojik üretim altyapısını iyileştirmeye ve finanse etmeye acil ihtiyaç vardır. Maliyet, soğuk zincir gereksinimi ve tüm dünyaya dağıtım safhaları; aşılardan bireylere ve topluluklara nihai tesliminde potansiyel kısıtlayıcı unsurlar olarak görülmektedir. Tüm bu sorunlar, sağlık hizmeti sağlayıcıları ve ekonomiyle ilgili tüm kuruluşlar arasında küresel iş birliğini gerektirmektedir. Bu nedenle kamu ve özel sektörlerdeki tüm kurum, kuruluş ve kaynakların stratejik bir şekilde kullanılmasını çok önemlidir.

Bununla birlikte COVID-19 enfeksiyonuna karşı aşı geliştirme çalışmalarında bir an önce aşının sahada kullanımını için acele edilmesinin endişeleri de beraberinde getireceği ve geri dönüşü olmayan sonuçlara yol açabileceği unutulmamalıdır. Bu çalışmalarda herhangi bir bulguya temel oluşturan tüm verilerin incelenmesi, bu verilerin bağımsız araştırmacılar tarafından doğrulanması ve deneylerin bir parçası olan gönüllülerin çıkarlarının korunması gerekliliği gözden kaçırılmamalıdır.

Tüm dünyada hızlı aşı geliştirme çabalarına rağmen klinik faz çalışmalarının tamamlanma sürecinin 2020'nin sonları

ya da 2021'in ortalarına kadar devam edeceği düşünülürse, sahada kullanım için aşılardan lisanslanması ve dünya nüfusunun en az yarısının aşılardan sürecinin uzun zaman alacağı tahmin edilmektedir. Süreci geciktirecek diğer bir unsur ise faz III aşamasına gelmiş olan aşılardan şimdilik sadece 18-60 yaş arasındaki sağlıklı gönüllülere uygulanması, ölüm oranlarının yüksek olduğu 60 yaş üzeri bireylerde denemelere henüz başlanmamış olmasıdır. Her ne kadar bu pandemi, aşı geliştirme ve lisanslamaya ilişkin konularda önemli gelişmelere, düzenlemelere ve olumlu yaklaşımların tetiklenmesine yol açsa da, aşı çalışmaları sonuçlanana kadar COVID-19 enfeksiyonlarının sınırlandırılabilmesi için alınabilecek önlemler şimdilik erken teşhis, sosyal/fiziksel mesafe, kişisel izolasyon gibi salgın kontrolünde kanıtlanmış halk sağlığı stratejilerinin sürdürülmesi yönünde olacaktır.

### Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

### Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

### Kaynaklar

- Adalja AA, Watson M, Cicero A, Inglesby T, 2019. Vaccine Platforms: State of the Field and Looming Challenges, Open Philanthropy Project, Johns Hopkins University.
- Addie DD, Belak S, Boucraut-Baralon C, Egberink H et al., 2009. Feline infectious peritonitis. ABCD guidelines on prevention and management. *J Feline Med Surg*, 11, 594-604.
- Agrawal AS, Tao X, Algaissi A, Garron T, et al., 2016. Immunization with inactivated Middle East Respiratory Syndrome coronavirus vaccine leads to lung immunopathology on challenge with live virus. *Hum Vaccin Immunother*, 12(9), 2351-2356.
- Alsaadi EAJ, Neuman BW, Jones IM, 2019. A Fusion Peptide in the Spike Protein of MERS Coronavirus. *Viruses*, 11(9), 825.
- Altmann DM, Douek DC, Boyton RJ, 2020. What policy makers need to know about COVID-19 protective immunity. *Lancet*, 27, 1-3.
- Azhar EI, El-Kafrawy SA, Farraj SA, Hassan AM, et al., 2014. Evidence for camel-to-human transmission of MERS coronavirus. *N Engl J Med*, 370, 2499-2505.
- Banerjee A, Santra D, Maiti S, 2020. Energetics based epitope screening in SARS CoV-2 (COVID 19) spike glycoprotein by





- immuno-informatic analysis aiming to a suitable vaccine development. BiorXiv preprint.
- Benvenuto D, Giovanetti M, Ciccozzi A, Spoto S, et al., 2020. The 2019-new coronavirus epidemic: Evidence for virus evolution. *J Med Virol*, 92, 455-459.
- Bolles M, Deming D, Long K, Agnihothram S, et al., 2011. A double-inactivated severe acute respiratory syndrome coronavirus vaccine provides incomplete protection in mice and induces increased eosinophilic proinflammatory pulmonary response upon challenge. *J Virol*, 85, 12201-12215.
- Boopathi S, Poma AB, Kolandaivel P, 2019. Novel coronavirus structure, mechanism of action, antiviral drug promises and rule out against its treatment. *J Biomol Struct Dyn*, 1-10.
- Bradburne AF, Bynoe ML, Tyrell DAJ, 1967. Effects of a "new" human respiratory virus in volunteers. *Br Med J*, 3, 767-769.
- Buchholz UJ, Bukreyev A, Yang L, Lamirandeet EW, et al., 2004. Contributions of the structural proteins of severe acute respiratory syndrome coronavirus to protective immunity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101(26), 9804-9809.
- Bull JJ, 2015. Evolutionary reversion of live viral vaccines: Can genetic engineering subdue it? *Virus Evol*, 1, 1, vev005.
- Callaway E, 2020. The race for coronavirus vaccines: a graphical guide. *Nature*, 580(7805), 576-577.
- Cao Y, Zhu X, Hossen MN, Kakar P et al., 2018. Augmentation of vaccine-induced humoral and cellular immunity by a physical radiofrequency adjuvant. *Nat Commun*, 9(1), 3695.
- Corey L, Mascola JR, Fauci AS, Collins FS, 2020. A strategic approach to COVID-19 vaccine R&D. *Science*, 368(6494), 948-950.
- Decaro N, Lorusso A, 2020. Novel human coronavirus (SARS-CoV-2): a lesson from animal coronaviruses. *Vet Microbiol*, 244, 1-18.
- Decaro N, Martellaa V, Saif LJ, Buonavogliaa C, 2020. COVID-19 from veterinary medicine and one health perspectives: What animal coronaviruses have taught. *Res Vet Sci*, 13, 121-123.
- Dowd KA, Ko S, Morabito KM, Yang ES et al., 2016. Rapid development of a DNA vaccine for Zika virus. *Science*, 354(6309), 237-240.
- Du L, He Y, Zhou Y, Liu S et al., 2009. The spike protein of SARS-CoV-a target for vaccine and therapeutic development. *Nat Rev Microbiol*, 7, 226-236.
- Du L, Zhang X, Liu J, Jiang S, 2011. Protocol for Recombinant RBD-based SARS Vaccines: Protein Preparation, Animal Vaccination and Neutralization Detection. *J Vis Exp*, 51, e2444,
- Duijvestijn M, Mughini-Gras L, Schuurman N, Schijf W, et al., 2016. Enteropathogen infections in canine puppies: Co-occurrence, clinical relevance and risk factors. *Vet Microbiol*, 195, 115-122.
- Edridge AWD, Kaczorowska JM, Hoste ACR, Bakker M et al., 2020. Coronavirus protective immunity is short-lasting. medRxiv.
- Ewer KJ, Lambe T, Rollier CS, Spencer AJ, et al., 2016. Viral vectors as vaccine platforms: from immunogenicity to impact. *Curr Opin Immunol*, 41, 47-54.
- Fehr AR, Perlman S, 2015. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol Biol*, 1282, 1-23.
- Folegatti PM, Ewer KJ, Aley PK, Angus B, et al., 2020. Safety and immunogenicity of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine against SARS-CoV-2: a preliminary report of a phase 1/2, single-blind, randomised controlled trial. *Lancet*, 396, 467-478.
- Follis KE, York J, Nunberg JH, 2006. Furin cleavage of the SARS coronavirus spike glycoprotein enhances cell-cell fusion but does not affect virion entry. *Virology*, 5, 350 (2), 358-369.
- Galanti M, Shaman J, 2020. Direct observation of repeated infections with endemic coronaviruses medRxiv.
- Ge X-Y, Li J-L, Yang X-L, Chmura AA, et al., 2013. Isolation and characterization of a bat SARS-like coronavirus that uses the ACE2 receptor. *Nature*, 503, 535-538.
- GenBank, Wuhan seafood market pneumonia virus isolate Wuhan-Hu-1, complete genome, 2020 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/MN908947>.
- German AC, Helps CR, Harbour DA, 2004. FIP: a novel approach to vaccination. *J Feline Med Surg*, 6(2), 119-124.
- Graham BS, 2020. Rapid COVID-19 vaccine development. *Science*, 368(6494), 945-946.
- Gonzalez-Nicolini V, Sanchez-Bustamante CD, Hartenbach S, Fussenegger M, et al., 2006. Adenoviral vector platform for transduction of constitutive and regulated tricistronic or triple-transcript transgene expression in mammalian cells and microtissues. *J Gene Med* 8, 1208-1222.
- Hamre D, Procknow JJ, 1966. A new virus isolated from the human respiratory tract. *Proc Soc Exp Biol Med*, 121(1), 190-193.
- Hasircioğlu S, Şimşek A, 2007. Investigation of enteric bovine coronavirus infections in calves and the role of clinically healthy cattle in epidemiology of coronavirus infections, *Veterinarian*, 18(1), 43-49.
- Hasoksuz M, Lathrop SL, Gadfield KL, Saif LJ, 1999. Isolation of bovine respiratory coronaviruses from feedlot cattle and comparison of their biological and antigenic properties with bovine enteric coronaviruses. *Am J Vet Res*, 60, 1227-1233.
- He Y, Zhou Y, Liu S, Kou Z, et al., 2004. Receptor-binding domain of SARS-CoV spike protein induces highly potent neutralizing antibodies: Implication for developing subunit vaccine. *Biochem. Biophys Res Commun*, 324, 773-781.
- Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Kruger N, et al., 2020. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*, 181(2), 271-280.
- Houser KV, Broadbent AJ, Gretebeck L, Logel V, et al., 2017. Enhanced inflammation in New Zealand white rabbits when MERS-CoV reinfection occurs in the absence of neut-





- ralizing antibody. *PLoS Pathog*, 13(8), e1006565.
- Hu B, Zeng LP, Yang XL, Ge XY, et al., 2017. Discovery of a rich gene pool of bat SARS-related coronaviruses provides new insights into the origin of SARS coronavirus. *PLOS Pathogens*, 13(11), e1006698
- Jackwood MW, De Wit JJ, 2020. Infectious Bronchitis, In: *Diseases of Poultry*, Ed; David E Swayne, 14th ed, John Wiley and Sons Inc, pp; 167-188.
- Jiang S, He Y, Liu S, 2005. SARS vaccine development. *Emerg Infect Dis*, 11, 1016-1020.
- Kaur SP, Gupta V, 2020. COVID-19 Vaccine: A comprehensive status report, *Vir Res*, 288, 1-12.
- Khuroo MS, Khuroo M, Khuroo MS, Sofi AA, et al., 2020. COVID-19 vaccines: A race against time in the middle of death and devastation. *J Clin Exp Hepatol*.
- Kim TW, Lee JH, Hung CF, Peng S et al., 2004. Generation and characterization of DNA vaccines targeting the nucleocapsid protein of severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J Virol*, 78, 4638-4645.
- Koirala A, Joo YJ, Khatami A, Chiu C, et al., 2020. Vaccines for COVID-19: The current state of play. *Paediatric Resp Rev*, 35, 43-49.
- Lai AL, Millet JK, Daniel S, Freed JH, et al., 2017. The SARS-CoV fusion peptide forms an extended bipartite fusion platform that perturbs membrane order in a calcium-dependent manner. *J Mol Biol*, 429, 3875-3892.
- Lau SKP, Zhang L, Luk HKH, Xiong L, et al., 2018. Receptor usage of a novel bat lineage C betacoronavirus reveals evolution of Middle East respiratory syndrome-related coronavirus spike proteins for human dipeptidyl peptidase 4 binding. *J Infect Dis*, 218, 197-207.
- Lau YL, Peiris JSM, 2005. Pathogenesis of severe acute respiratory syndrome. *Curr Op Immunol*, 17, 404-410.
- Le TT, Andreadakis Z, Kumar A, Roman RG, et al., 2020. The COVID-19 vaccine development landscape. *Nature Rev Drug Dis*, 19, 305-306.
- Li R, Qiao S, Zhang G, 2020. Analysis of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) from different species sheds some light on cross-species receptor usage of a novel coronavirus 2019-nCoV. *Journal of Infection*, 80(4), 469-496.
- Li W, Shi Z, Yu M, Ren W, et al., 2005. Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. *Science*, 310, 676-679.
- Liu MAA, 2019. Comparison of plasmid DNA and mRNA as vaccine technologies. *Vaccines*, 7(2), 37, 1-20.
- Long Q, Tan X, Shi Q, Li Q, et al., 2020. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nat Med*, 26, 1200-1204.
- Luo CM, Wang N, Yang XL, Liu HZ, et al., 2018. Discovery of novel bat coronaviruses in south China that use the same receptor as MERS coronavirus. *J Virol*, 92, 116-118.
- Madu IG, Roth SL, Belouzard S, Whittaker GR, 2009. Characterization of a highly conserved domain within the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein S2 domain with characteristics of a viral fusion peptide. *J Virol*, 83, 7411-7421.
- McBride R, van Zyl M, Fielding BC, 2014. The coronavirus nucleocapsid is a multifunctional protein. *Viruses*, 6, 2991-3018.
- McIntosh K, Peiris JSM, 2009. Coronaviruses. In: *Clinical Virology*, Eds; Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG, 3rd ed, ASM Press, Washington DC, p; 1155.
- Menekşe M, 2019. Solunum yolu enfeksiyonu klinik belirtileri gösteren sığırlarda bovine coronavirus (BCoV) enfeksiyonlarının PCR tekniği ile araştırılması. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Neuman BW, Kiss G, Kunding AH, Bhella D, et al., 2011. A structural analysis of M protein in coronavirus assembly and morphology. *J Struct Biol*, 174, 11-22.
- Nieto-Torres JL, DeDiego ML, Verdia-Baguena C, Jimenez-Guardeno JM, et al., 2014. Severe acute respiratory syndrome coronavirus envelope protein ion channel activity promotes virus fitness and pathogenesis. *PLoS Pathog*, 10, e1004077.
- Pallesen J, Wang N, Corbett KS, Wrapp D, et al., 2017. Immunogenicity and structures of a rationally designed prefusion MERS-CoV spike antigen. *Proc Natl Acad Sci USA*, 114, E7348-E7357.
- Pang H, Liu Y, Han X, Xu Y, et al., 2004. Protective humoral responses to severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus: Implications for the design of an effective protein-based vaccine. *J Gen Virol*, 85, 3109-3113.
- Pang H, Yang L, Wang L, Li J, et al., 2006. Long-lived memory T lymphocyte responses against SARS coronavirus nucleocapsid protein in SARS-recovered patients. *Virology*, 351(2), 466-475.
- Pardi N, Hogan MJ, Pelc RS, Muramatsu H, et al., 2017. Zika virus protection by a single low-dose nucleoside-modified mRNA vaccination. *Nature*, 543(7644), 248-251.
- Patel J, Patel P, Akinmuyiwa V, 2020. COVID-19 vaccine development: Insights, prospects and challenges. *JVAT*, 1(3), 14-20.
- Pedersen NC, 2014. An update on feline infectious peritonitis: virology and immunopathogenesis. *Vet J*, 201, 123-132.
- Peiris JS, Chu CM, Cheng VC, Chan KS, et al., 2003. Clinical progression and viral load in a community outbreak of coronavirus-associated SARS pneumonia: a prospective study. *Lancet*, 361(9371), 1767-1772.
- Plotkin S, Orenstein WA, Offit PA (Eds), 2013. *Vaccines*, 6th edition. Philadelphia, Elsevier.
- Rabaan AA, Al-Ahmed SH, Haque S, Sah R, et al., 2020. SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV: a comparative overview. *Infez Med*, 2, 174-184.
- Reusken CB, Haagsmans BL, Muller MA, Gutierrez C, et al., 2013. Middle East respiratory syndrome coronavirus neutralising serum antibodies in dromedary camels: a comparative serological study. *Lancet Infect Dis*, 13, 859-866.
- Robert-Guroff M, 2007. Replicating and non-replicating viral vectors for vaccine development. *Curr Opin Biotechnol*, 18(6), 546-556.
- Roper RL, Rehm KE, 2009. SARS vaccines: where are we? *Expert Rev Vaccines*, 8, 887-898.





- Saif LJ, 2020. Vaccines for COVID-19: perspectives, prospects, and challenges based on candidate SARS, MERS, and animal coronavirus vaccines. *Allergy*, 1-7.
- Seow J, Graham C, Merrick B, Acors S, et al., 2020. Longitudinal evaluation and decline of antibody responses in SARS-CoV-2 infection. medRxiv.
- Shang J, Ye G, Shi K, Wan Y et al., 2020. Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2. *Nature*, 581, 221-224.
- Shin MD, Shukla S, Chung YH, Beiss V, et al., 2020. COVID-19 vaccine development and a potential nanomaterial path forward, *Nature Nanotech*, 15, 646-655.
- Si L, Xu H, Zhou X, Zhang Z, et al., 2016. Generation of influenza A viruses as live but replication-incompetent virus vaccines. *Science*, 354(6316), 1170-1173.
- Şimşek A, Dik I, 2020. Tek sağlık kavramı açısından SARS-CoV-2 ve diğer koronavirüsler, *APJHLS*, 2(1), 44-55.
- ter Meulen J, van den Brink EN, Poon LL, Marissen WE, et al., 2006. Human monoclonal antibody combination against SARS coronavirus: synergy and coverage of escape mutants. *PLoS Med*, 3, e237.
- Thao TTN, Labroussaa F, Ebert N, V'kovski P, et al., 2020. Rapid reconstruction of SARS-CoV-2 using a synthetic genomics platform. *Nature*, 582(7813), 561-565.
- Tian X, Li C, Huang A, Xia S, et al., 2020. Potent binding of 2019 novel coronavirus spike protein by a SARS coronavirus-specific human monoclonal antibody. *Emerg Microbes Infect*, 9, 382-385.
- Tseng CT, Sbrana E, Iwata-Yoshikawa N, Newman PC, et al., 2012. Immunization with SARS coronavirus vaccines leads to pulmonary immunopathology on challenge with the SARS virus. *PLoS ONE*, 7, e35421.
- Tu C, Cramer G, Kong X, Chen J, et al., 2004. Antibodies to SARS coronavirus in civets. *Emerg Infect Dis*, 10, 2244-2248.
- TÜBİTAK, 2020. <https://www.tubitak.gov.tr/tr/haber/cumhurbaskani-erdogan-covid-19-turkiye-platformu-uyeleriyle-bir-araya-geldi>
- Vabret N, Britton GJ, Gruber C, Hegde S, et al., 2020. Immunology of COVID-19: Current State of the Science. *Immunity*, 52, 910-941.
- van der Hoek L, Pyrc K, Jebbink MF, Vermeulen-Oost W, et al., 2004. Identification of a new human coronavirus. *Nat Med*, 10(4), 368-373.
- Walls AC, Park Y-J, Tortorici MA, Wall A, et al., 2020. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Cell*, 181(2), 281-292.
- Wang CY, Li WT, Drabek D, Nisreen MA, et al., 2020. A human monoclonal antibody blocking SARS CoV-2 infection. bioRxiv.
- Wang N, Shang J, Jiang S, Du L, 2020. Subunit Vaccines Against Emerging Pathogenic Human Coronaviruses. *Front Microbiol*, 11, 1-19.
- Wang Q, Zhang L, Kuwahara K, Li L, et al., 2016. Immunodominant SARS coronavirus epitopes in humans elicited both enhancing and neutralizing effects on infection in non-human primates. *ACS Infect Dis*, 2, 361-376.
- Watanabe Y, Allen JD, Wrapp D, McLellan JS, et al., 2020. Site-specific glycan analysis of the SARS-CoV-2 spike. *Science*.
- Weiner LP, 1987. Coronaviruses: a Historical Perspective, *Adv Exp Med Biol*, 218,1-5.
- Weingartl H, Czub M, Czub S, Neufeld J, et al., 2004. Immunization with modified vaccinia virus Ankara-based recombinant vaccine against severe acute respiratory syndrome is associated with enhanced hepatitis in ferrets. *J Virol*, 78, 12672-12676.
- WHO, 2017. Guidelines on clinical evaluation of vaccines: regulatory expectations. WHO Technical Report Series, No. 1004, 2017. Replacement of Annex 1 of WHO Technical Report Series, No. 924 Geneva, Switzerland. [Available from [https://www.who.int/biologicals/expert\\_committee/WHO\\_TRS\\_1004\\_web\\_Annex\\_9.pdf?ua=1](https://www.who.int/biologicals/expert_committee/WHO_TRS_1004_web_Annex_9.pdf?ua=1). Erişim Tarihi: 20.08.2020.
- WHO, 2020a. Coronavirus disease (COVID-19) pandemic <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>. Erişim Tarihi: 20.08.2020.
- WHO, 2020b. MERS situation update, January 2020, <http://www.emro.who.int/pandemic-epidemic-diseases/mers-cov/mers-situation-update-january-2020.html>. Erişim Tarihi: 20.08.2020.
- WHO, 2020c, Draft landscape of COVID-19 candidate vaccines, <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>. Erişim Tarihi: 21.09.2020.
- Wong SH, Lui RN, Sung JJ, 2020. Covid-19 and the digestive system. *J Gastroenterol Hepatol*, 35(5), 744-748.
- Woo PC, Lau SK, Chu CM, Chan KH, et al., 2005. Characterization and complete genome sequence of a novel coronavirus, coronavirus HKU1, from patients with pneumonia. *J Virol*, 79 (2), 884-895.
- Wrapp D, Wang N, Corbett KS, Goldsmith JA, et al., 2020. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science*, 367(6483), 1260-1263.
- Wu F, Wang A, Liu M, Wang Q, et al., 2020a. Neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2 in a COVID-19 recovered patient cohort and their implications. medRxiv.
- Wu F, Zhao S, Yu B, Chen YM, et al., 2020b. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature* 579, 265-269.
- Xia S, Zhu Y, Liu M, Lan Q, et al, 2020. Fusion mechanism of 2019-nCoV and fusion inhibitors targeting HR1 domain in spike protein. *Cell Mol Immunol*, 17, 765-767.
- Xia S, Yan L, Xu W, Agrawal AS, et al., 2019. A pan-coronavirus fusion inhibitor targeting the HR1 domain of human coronavirus spike. *Sci Adv*, 5(4), eaav4580.
- Xie X, Muruato A, Lokugamage KG, Narayanan K, et al., 2020. An infectious cDNA clone of SARS-CoV-2. *Cell Host Microbe*, 27, 841-848.e3.
- Yadav DK, Satyendra NY, Khurana MP, 2014. Vaccines: Present Status and Applications, In: *Animal Biotechnology, Models in Discovery and Translation*, Eds; Verma AS, Singh A, 1st edition, Academic Press, Elsevier India, pp; 491-508.
- Yong CY, Ong HK, Yeap SK, Ho KL, et al., 2019. Recent Advan-



- ces in the Vaccine Development Against Middle East Respiratory Syndrome-Coronavirus. *Front Microbiol*, 10, 1781.
- Zaki AM, van Boheemen S, Bestebroer TM, Osterhaus AD, et al., 2012. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *New Engl J Med*, 367(19), 1814-1820.
- Zhang J, Zeng H, Gu J, Li H, et al., 2020. Progress and Prospects on Vaccine Development against SARS-CoV-2. *Vaccines*, 8, 153, 1-12.
- Zhou D, Qi R, Zhang W, Tian X, et al., 2020. Identification of 22 N-glycosites on spike glycoprotein of SARS-CoV-2 and accessible surface glycopeptide motifs: implications on vaccination and antibody therapeutics.
- Zhou P, Yang X-L, Wang X-G, Hu Be, et al., 2020a. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin, *Nature*, 579, 270-273.
- Zhou P, Yang X-L, Wang X-G, Hu B, et al., 2020b. Discovery of a novel coronavirus associated with the recent pneumonia outbreak in humans and its potential bat origin.

#### Yazar Katkıları

- Fikir/Kavram: Atilla ŞİMŞEK, Oğuzhan AVCI  
Tasarım: Atilla ŞİMŞEK, Oğuzhan AVCI  
Denetleme/Danışmanlık: Atilla ŞİMŞEK, Oğuzhan AVCI  
Veri Toplama ve/veya İşleme: Atilla ŞİMŞEK, Oğuzhan AVCI  
Analiz ve/veya Yorum: Atilla ŞİMŞEK, Oğuzhan AVCI  
Kaynak Taraması: Atilla ŞİMŞEK, Oğuzhan AVCI  
Makalenin Yazımı: Atilla ŞİMŞEK, Oğuzhan AVCI  
Eleştirel İnceleme: Atilla ŞİMŞEK, Oğuzhan AVCI

**CITE THIS ARTICLE:** Şimşek A, Avcı O, 2020. SARS ve MERS aşılarının gizemi, *Coronavirus aşısına yeni yaklaşımlar. Eurasian J Vet Sci, Covid-19 Special Issue*, 76-90

