



Mevcut ve Gelişmekte Olan Aşı Teknolojileri; Kısa Derleme

Current and Emerging Vaccine Technologies; A Short Review

  Elmas Pınar Kahraman Kılbaş¹,  Mustafa Altındış²

¹ İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Doktora Programı, İstanbul, Türkiye.

² Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Tıbbi Viroloji BD, Sakarya, Türkiye.

ORCID ID: Elmas Pınar Kahraman Kılbaş <https://orcid.org/0000-0003-1348-625X>,

Mustafa Altındış <https://orcid.org/0000-0003-0411-9669>

*Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Elmas Pınar Kahraman Kılbaş, e-posta / e-mail: elmspnrkk@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 12-10-2023

Kabul Tarihi / Accepted: 18-10-2023

Yayın Tarihi / Online Published: 25-10-2023

Atf Gösterimi/How to Cite: Kahraman Kılbaş EP, Altındış M. Mevcut ve Gelişmekte Olan Aşı Teknolojileri; Kısa Derleme, J Biotechnol and Strategic Health Res. 2023;7(3):148-156

Öz

Aşı teknolojileri, daha etkili ve çok yönlü aşılama stratejilerine duyulan ihtiyaç nedeniyle önemli ölçüde gelişti. Geleneksel aşilar öncelikle bağışıklık sistemini uyarmak için zayıflatılmış veya etkisiz hale getirilmiş patojenleri kullanıyordu. Ancak moleküler biyoloji ve immünolojideki son gelişmeler yeni aşı platformlarının geliştirilmesine yol açtı. Dikkate değer ilerlemelerden biri, COVID-19 aşilarından biri olan mRNA aşilarının geliştirilmesidir. Bu aşilar, hücrelere patojenin zararsız bir kısmını üretme talimatı vermek için sentetik mRNA'yı kullanarak güçlü bir bağışıklık tepkisi ortaya çıkarır. Umut verici başka bir yaklaşım, patojenik antijenleri kodlayan genetik materyali konakçı hücrelere iletmek için değiştirilmiş bir virüs kullanan viral vektör aşilarını içerir. Bu teknoloji, Ebola ve COVID-19 gibi hastalıklara karşı güçlü bir bağışıklık tepkisi sağlayarak umut vaat etmektedir. Protein alt birim aşilarındaki yenilikler, bir bağışıklık tepkisini tetiklemek için patojenin proteinler veya peptidler gibi zararsız parçalarının kullanılmasını içerir. Bu aşilar, genellikle adjuvanlar veya nanopartikül dağıtım sistemleri yoluyla geliştirilmiş güvenlik ve etkinlik sunar. Ayrıca, DNA aşiları gibi nükleik asit bazlı aşilardaki ilerlemeler, aşılama için potansiyel olarak güçlü ve esnek bir platform sunmaktadır. Ek olarak, günümüzde nanoteknoloji sayesinde bağışıklık tepkileri güçlendirerek aşı gelişimine katkı sağlanmıştır. Nanopartiküller, antijenleri veya adjuvanları kapsülleyerek aşı etkinliğini optimize edebilmektedir. Sonuç olarak, mevcut aşı teknolojileri, mRNA ve viral vektör aşiları, protein alt birim aşiları, nükleik asit bazlı aşilar ve nanoteknoloji dahil olmak üzere yenilikçi ve çeşitli yaklaşımlara doğru bir geçiş sergilemektedir. Bu ilerlemeler, ortaya çıkan bulaşıcı hastalıkların ele alınması ve aşının erişilebilirliğinin, güvenliğinin ve etkinliğinin iyileştirilmesi konusunda umut vaat etmektedir.

Anahtar Kelimeler Aşı Teknolojileri, enfeksiyonlar, immunizasyon, mRNA aşiları, nanoaşilar.

Abstract

Vaccine technologies have evolved significantly due to the need for more effective and versatile vaccination strategies. Traditional vaccines primarily used weakened or inactivated pathogens to stimulate the immune system. However, recent advances in molecular biology and immunology have led to the development of new vaccine platforms. One notable advance is the development of mRNA vaccines, one of the COVID-19 vaccines. These vaccines elicit a strong immune response by using synthetic mRNA to instruct cells to produce a harmless portion of the pathogen. Another promising approach involves viral vector vaccines, which use a modified virus to deliver genetic material encoding pathogenic antigens into host cells. This technology shows promise by providing a strong immune response against diseases such as Ebola and COVID-19. Innovations in protein subunit vaccines involve using harmless parts of the pathogen, such as proteins or peptides, to trigger an immune response. These vaccines often offer improved safety and efficacy through adjuvants or nanoparticle delivery systems. Additionally, advances in nucleic acid-based vaccines, such as DNA vaccines, offer a potentially powerful and flexible platform for vaccination. In addition, nanotechnology has contributed to vaccine development by strengthening immune responses. Nanoparticles can optimize vaccine efficacy by encapsulating antigens or adjuvants. As a result, current vaccine technologies are shifting towards innovative and diverse approaches, including mRNA and viral vector vaccines, protein subunit vaccines, nucleic acid-based vaccines, and nanotechnology. These advances hold promise for addressing emerging infectious diseases and improving vaccine availability, safety, and effectiveness. In this review, the epidemiology of Monkeypox and the general characteristics of the causative agent of Monkeypox is reviewed, with current information and data.

Keywords Vaccine Technologies, infections, immunization, mRNA vaccines, nanovaccines.

GİRİŞ

Aşılar, hayat boyu enfeksiyonlardan, hastalıklardan ve biyolojik terör ajanlarından korunmak için etkili bir önleyici müdahale yöntemidir.¹ 1796 yılında geliştirilen ilk aşıdan bu yana, potansiyel enfeksiyonları önlemek için binlerce aşı adayı geliştirildi. Başarılı aşılama programları sayesinde, çoğu ülkede geçmişte milyonlarca insanın hayatına mal olan tehlikeli salgın enfeksiyonların önüne geçilmiştir.² Aşılarla önlenemeyen bulaşıcı hastalıkların çoğu, özellikle gelişmekte olan ve az gelişmiş ülkelerde hâlâ yaşamı tehdit etmeye devam etmektedir.³

Profilaktik aşılar, bir patojene karşı etkili tepki ve hafıza için bağışıklık sistemini uyaran bir veya daha fazla spesifik antijen içerir. Aşılama sonrası uzun süreli bağışıklamanın sağlanması zorlayıcı olmuştur.⁴ Bu durum da mevcut aşılar da biyoteknolojik gelişmeleri gerektirir. Mevcut aşılar da immünolojik gelişmelere ek olarak, COVID-19 gibi yeni ortaya çıkan bulaşıcı hastalıklara ve laboratuvar da tasarlanmış patojenlere veya biyoterörizm uygulamasına yönelik potansiyel enfeksiyonlara karşı aşıların güvenilir ve hızlı geliştirilmesi için yeni teknolojik gelişmelere ihtiyaç vardır.^{5,6} Canlı zayıflatılmış ve alt birim aşıları içeren geleneksel aşı platformlarının aksine, üçüncü nesil aşı teknolojileri, acil uygulamalar için hızlı tasarlanıp büyük dozların üretilmesine olanak sağlamaktadır. Bu derlemede, çeşitli etkenlere karşı geliştirilen yeni aşı teknolojilerine yönelik bilgiler sunulacaktır.

Bağışıklama

Aşıların İndüklediği Antikorlar

Rutin kullanımdaki neredeyse tüm aşıların esas olarak antikorların indüksiyonu yoluyla koruma sağladığı düşünülmektedir. Aşı kaynaklı korumada çeşitli fonksiyonel antikor türlerinin önemli olduğuna dair destekleyici kanıtlar vardır. Bu kanıtlar, immün yetmezlik durumları, pasif koruma çalışmaları ve immünolojik veriler olarak sınıflandırılabilir.

Antikorlarda veya diğer bağışıklık hücrelerinde immüno-

lojik kusurları olan kişiler, belirli patojenlerle enfeksiyona karşı özellikle hassastır. Örneğin, kompleman sisteminde eksiklikleri olan kişiler, Neisseria meningitidis enfeksiyonunun neden olduğu meningokok hastalığına özellikle duyarlıdır çünkü bu enfeksiyonun kontrolü, kompleman aracılı bağışıklığa bağlıdır.⁷ Antikor ve kompleman ile opsonize edilen *Streptococcus pneumoniae* bakterileri normal olarak dalaktaki fagositler tarafından kandan uzaklaştırılır. Bu nedenle pnömokok hastalığı özellikle dalak fonksiyonu azalmış bireylerde yaygındır.⁸

Ekzojen antikorların intramüsküler veya intravenöz infüzyonunun bazı enfeksiyonlara karşı koruma sağlayabildiği pasif korumaya verilebilecek en iyi örneklerdendir. Örneğin; anneye ait antikorlar plasenta üzerinden bebeğe pasif olarak transfer olur. Bu da yeni doğan bebeklere, doğumdan sonraki birkaç ay boyunca çok çeşitli patojenlere karşı koruma sağlamaktadır. Annenin boğmaca, tetanoz ve grip aşılarıyla aşılanması sayesinde, bebek doğumdan sonra bu önemli koruyucu adaptasyondan yararlanır.^{9,10} Kalıtsal antikor eksikliği olan kişiler ciddi viral ve bakteriyel enfeksiyonlara karşı savunmasızdır, ancak bağışıklık sistemi sağlıklı bir donörden serum antikorlarının düzenli olarak uygulanması, antikor eksikliği olan kişiler için de neredeyse tamamen sağlıklı bir bağışıklık koruması sağlayabilmektedir.¹¹

İmmünoloji alanında artan bilgiler, aşıların aracılık ettiği diğer koruma mekanizmalarına dair ufkumuzun genişlemesini sağlamaya devam etmektedir. Meningokok ve pnömokok gibi istilacı bakterilerin yüzey polisakaritlerinden yapılan polisakkarit aşılar, bu hastalıklara karşı önemli ölçüde koruma sağlamaktadır.^{12,13} Polisakkaritler T hücrelerinden bağımsız antijenler olduğundan bu aşıların T hücreleri yanıtını tetiklemediği ve bu nedenle bunların korunmasına antikora bağımlı mekanizmalar aracılığıyla aracılık ettiği bilinmektedir. Protein-polisakarit konjuge aşılar tarafından uyarılan T hücreleri, protein taşıyıcıyı tanıır ve bu T hücreleri, polisakkariti tanıyan B hücrelerine yardım eder. Ancak polisakkariti tanıyan hiçbir T hücreleri

uyarılmaz ve dolayısıyla bu aşuların sağladığı mükemmel korumada yalnızca antikorlar rol oynar.¹⁴

T Hücre Aracılı Bağışıklama

T hücrelerinin aşı ile bağışıklamadaki rolleri, lenf düğümlerinde B hücresi gelişimi ve antikor üretimine yardım sağlama rolleri dışında yeterince tanımlanmamıştır. Kalıtsal veya edinilmiş immün yetmezliği olan bireylerde, T hücresi eksikliğinin enfeksiyondan sonra patojenlerin üremesi kontrol edilememektedir. T hücresi eksikliği, kontrolsüz ve ölümcül varicella zoster virüsü enfeksiyonu ile sonuçlanabilmektedir.¹⁵ T hücrelerinin aşı kaynaklı korumada rol oynadığına dair kanıtların sınırlı olmasının nedeni muhtemelen, birçok T hücresinin lenf düğümleri gibi dokularda yerleşik olması nedeniyle T hücrelerine erişimdeki zorluklardan kaynaklanmaktadır. Ayrıca hangi tip T hücresinin ölçülmesi gerektiği henüz tam olarak anlaşılmamıştır. T yardımcı 1 (TH1) hücreleri ve TH2 hücreleri, sırasıyla hücre bağışıklık ve humoral bağışıklık oluşturmak için önemlidir, ancak TH1 hücreleri aynı zamanda IgG antikor alt sınıfları IgG1 ve IgG3'ün üretilmesiyle de ilişkilidir. Diğer TH hücre alt tipleri arasında TH17 hücreleri (bağırsak ve akciğer gibi mukozal yüzeylerde) ve T foliküler yardımcı hücreler (yüksek afiniteli antikorların üretimi için önemli olan ikincil lenfoid organlarda) bulunmaktadır.¹⁴ Araştırmalar, farelerde *S. pneumoniae*'nin taşıyıcılığına karşı bağışıklığın, *S. pneumoniae*'ye maruz bırakılan donör farelerden T hücrelerinin transferi yoluyla elde edilebileceğini göstermektedir. Bu da T hücresi aracılı bağışıklığın doğasını daha iyi anlamak için daha fazla araştırma yapılmasının gerekli olduğunu göstermektedir. Bu kanıtlar, enfeksiyonun önlenmesinde antikorların ana role sahip olduğunu, sitotoksik T hücrelerinin ise yerleşik enfeksiyonları kontrol etmek ve temizlemek için etkili olduğunu göstermektedir.¹⁶

Aşuların Tarihçesi

Aşuların varoluşuna dair ilk bulgular yedinci yüzyılda Hintli Budistlerin bağışıklık kazanmak için yılan zehrini yemeleriyle ortaya çıkmıştır. Aşıyla ilgili ilk yazılar, 11.

yüzyıldan kalma olup, Çin edebiyatındaki "Çiçek hastalığının doğru tedavisi" adlı metinlerdir. Bu kitap, Jen Tsung'un hükümdarlığı sırasında (1022-1063) yaşayan ve çiçek hastalığından muzdarip hastalara çiçek aşısı yapma sanatını uygulayan Budist bir rahibeye atfedilmiştir. Başka bir Çin tıp kitabı olan "Tıbbın Altın Aynası" çiçek hastalığı aşısının dört formunun tanımlanmıştır.¹⁷ Çiçek hastalığı aşısı ilk olarak Çin ve Hindistan'da uygulanmıştır. Bu yöntem, Küçük Asya ve Yakın Doğu'ya yayılmış ve 18. yüzyılın başında buradan Batı dünyasına geçmiş, böylece hastalığa karşı korumada yeni bir tedavi aracı olmuştur.¹⁷

17. yüzyılda Çinliler, hasta kişilerden alınan cerahatle ısılatılmış bir parça pamuğu burun deliklerine uygulayarak aşılama yapmışlardır. Diğer bir yöntem, bir yıl önce topladıkları yara kabuklarını kurutup küçük bambu kamışlarla burun deliklerine sürerek uygulama şeklindeydi. Üçüncü bir yöntem ise sağlıklı bir çocuğa çiçek hastalığı geçiren hastanın kullanılmış kıyafetlerini giydirmektir.¹⁸

1798 yılının Haziran ayında Edward Jenner (1749-1823) tarafından yazılan ve o zamana kadar sonuçları insanlık açısından korkunç olan çiçek hastalığına karşı mücadelede devrim yaratacak bir aşı çalışması yayımlandı. Bu keşfin başlangıcı, 14 Mayıs 1796'da Jenner'in, inek sağan bir kadındaki inek çiçeği yarısından alınan materyali James Phipps adlı sekiz yaşındaki bir çocuğun kolundaki iki yüzeysel kesikten enjekte etmesiyle gerçekleşmişti.¹⁹ Jennerian yöntemine "aşı" adı verilmiştir. 1885 yılında Louis Pasteur, zayıflatılmış mikroplar kullanılarak hastalıkların önlenebileceğini göstermiştir. Bunu, kuduz bir köpek tarafından ısırılan Joseph Meister adlı bir çocukta kuduzu başarılı bir şekilde önlemek için bir aşı kullanarak yapmıştır.²⁰ Aynı yıl İspanyol bakteriyolog Jaime Ferrán, Alicante salgınında test edilen bir anti-kolera aşısı keşfetmiştir.²¹ 1890 yılında, immünoloji alanında öncü, tetanoz ve difteriye karşı aşuların kaşifi olan Emil Von Behring, ilk Nobel Fizyoloji ve Tıp Ödülü'ne layık görülmüş ve "askerlerin ve çocukların kurtarıcısı" olarak adlandırılmıştır.²²

Aşılamadaki bir diğer ilerleme, 1922 yılında adını Albert Calmette ve Camile Guerin'den alan tüberküloz aşısı Bacillus Calmette Guerin (BCG)'in keşfi olmuştur.²³ Bu aşıyla birlikte, aşı güvenliği tarihindeki en büyük felaketlerden biri yaşanmıştır. 1930 yılında Almanya'nın Lübeck şehrinde Mycobacterium tuberculosis'in bir türünü içeren BCG ile aşılanan 75 bebek ölmüştür.²⁴ İlk tam hücre aşısı, 1926 yılında Danimarka'da Thorvald Madsen tarafından Bordetella pertussis süspansiyonundan üretilmiştir.²⁵

1993 yılında çiçek, BCG, difteri-boğmaca-tetanoz (DPT), çocuk felci ve kızamık aşılara ek olarak, hastalığın endemik olduğu ülkelerde hepatit B ve sarı hummaya karşı aşılama da bu programa dahil edilmiştir. 1998'de Haemophilus influenza tip b'ye (Hib) karşı aşı tanıtılmıştır²⁶. Kitlesel aşı kampanyaları sayesinde yılda 5 milyon çiçek, 2,7 milyon kızamık, 2 milyon yenidoğan tetanoz ve 1 milyon boğmacadan ölümün önlendiğinin tahmin edildiği bildirilmiştir²⁶. National Institutes of Health (NIH), 2006 yılında, İnsan Papilloma Virüsü (HPV) enfeksiyonuna karşı koruma sağlayan aşının ortaya çıktığını bildirmiştir.²⁷

Geleneksel Aşılar

Genel olarak bağışıklama, bağışıklık sisteminin bir antijenle karşılaşması veya eksojen humoral bağışıklık sonucu oluşan bağışıklıktır. Bağışıklama, doğal enfeksiyonlarla veya bulaşıcı hastalıkların önlenmesi veya maligniteler gibi bazı hastalıkların tedavisi için aşılar kullanılarak sağlanabilir.²⁸ Birincil bir enfeksiyon için tam adaptif bağışıklık, B lenfositler tarafından humoral bağışıklığın ve T lenfositler

tarafından hücresel bağışıklığın indüklenmesi ile meydana gelmektedir. Bu bağlamda, eş zamanlı humoral ve hücresel bağışıklık, gelecekteki olası antijenlerle maruziyet durumunda aynı enfeksiyon için daha yüksek koruyuculuk sağlayacaktır.²⁹ Bağışıklama için farklı aşı platformları bulunmakta olup, bu yöntemler başarıyla test edilmiştir. Günümüzde kullanılan aşı türleri; canlı zayıflatılmış aşular (oral polio, suçiçeği ve kızamık aşuları vb.), inaktive aşular (polio, boğmaca, kuduz, tifo aşuları vb.), toksoidler (difteri ve tetanoz vb.), alt ünite aşular (Haemophilus influenza tip b, Salmonella Typhi ve hepatit B), viral vektör ve mRNA aşılarını içeren yeni nesil aşılardır.³⁰⁻³³

Genel aşı uygulamaları; subkutan, intradermal, intramüsküler, oral ve nazal yollarla gerçekleştirilmektedir. Ancak bu uygulama yollarının tümünde aşının etkililiğini azaltan bazı bariyerler bulunmaktadır. Bağışıklamanın etkinliğini artırmaya yönelik yeni yaklaşımlar arasında, aşı enjeksiyonunun şekli ve rotası için yeni teknolojiler ve dermal, oral ve mukozal olarak geliştirilmektedir. Bu amaçla lipozomlar veya nanokapsüller gibi partikül taşıma sistemlerini kullanan nazal ve pulmoner immünizasyon, hidrojeller gibi modern sistemleri kullanan oral bağışıklama, mikropartikül sistemleri kullanılarak oral bağışıklama, polimer nanopartiküller kullanılarak tek dozlu aşılama, emülsiyon ve mikroakışkan sistemler kullanılarak aşı kapsülleme gibi yöntemler geliştirilmiştir.^{34,35} (Tablo 1).

Tablo 1. Aşı etkinliğinin önündeki bariyerleri aşmaya yönelik geliştirilen yeni aşı teknolojileri.

Aşı uygulama yolları	Bariyerler	Kullanılan partiküller	Aşı teknolojileri
Nazal ve pulmoner immünizasyon	Mukus, enzimler, hücreler arası sıkı bağlantılar	Polimerik NP'ler, lipozomları gümüş NO'ler, miseller, nanosfer, karbon nanotüpler Hücre iskeleleri, mikroigneler, hidrojeller, partiküller	Mikropartiküller, polimerik NP'ler, mikroakışkan sistemler yoluyla tek doz immünizasyon, aşı enkapsülasyonu ve mikroakışkan sistemlerin üretimi
Kütanöz immünizasyon	pH, enzimler, deri katmanları, keratinositler, korneum	Hücre iskeleleri, mikroigneler, hidrojeller, partiküller	
Oral immünizasyon	pH, mukus, enzimler, epitel tabaka, peristaltizm, mikrobiyota	Hücre iskeleleri, partiküller, hidrojeller	

Yeni Aşı Teknolojileri

Dünya çapında morbidite ve mortaliteyi azaltmak için yeni aşılar ihtiyacı duyulan birçok önemli hastalık bulunmaktadır. Grup B Streptokok aşıları, plasentayı geçen ve yenidoğamı pasif olarak koruyan anne antikorlarını tetiklemek amacıyla şu anda geliştirilme aşamasındadır.³⁶ Solunum Sinsityal Virüsü (RSV), gelişmiş ülkelerde bebeklik döneminde alt solunum yolu enfeksiyonlarına bağlı hastaneye yatışının en yaygın nedenlerindedir ve küresel olarak 12 aydan küçük çocuklarda önde gelen ölüm nedenlerinden biridir. RSV'ye özgü monoklonal antikorlarla aşılamaı içeren 60 kadar yeni RSV aşı adayı geliştirilme aşamasındadır. Lisanslı bir RSV aşısının bebek sağlığı ve pediatrik hastaneye yatışlar üzerinde büyük etkisi olacaktır.¹¹

Yeni aşıların geliştirilmesindeki diğer bir ana hat, özellikle yara enfeksiyonları ve intravenöz kateterlerle ilişkili antibiyotige dirençli Gram pozitif bakteriler (*Staphylococcus aureus* vb.) ve çeşitli Gram negatif mikroorganizmalar (*Klebsiella* spp. ve *Pseudomonas aeruginosa*) olmak üzere hastane kaynaklı enfeksiyonlarla mücadele etmektir. Bu alanda ilerleme yavaş olmuştur. Aşı geliştirmede en büyük gelişmeler yaşlı yetişkinlere yöneliktir. Yaşlı yetişkin popülasyonunun önemli ölçüde artacağı düşünüldüğünde, bu popülasyonda enfeksiyonların önlenmesi bir halk sağlığı önceliğidir.¹¹

Virüs Benzeri Partiküller (VLP)

Yeni aşı teknolojilerinden olan VLP'ler, aşılar da yalnızca nükleik asitlerin bulunması ve patojenin tamamından ziyade sentetik peptit veya polisakkarit antijenlerle geliştirilen konjuge aşılar, zayıflatılmış veya inaktif aşılar a seçenecek olabilecek aşı tasarımlarıdır. Ek olarak, kanser tedavisinde kullanılmakta olan hücresel aşılar da kullanımdadır.³⁷

VLP'ler, virüsün nükleik asidi bulunmadan, viral kapsid proteinlerinin kendiliğinden birleşmesi ile meydana getirilen çoklu proteinlerden oluşmaktadır. Viral genom içermediklerinden replikasyon yeteneği yoktur.³⁸ İçerdiği yüksek dansiteli kapsid proteinleri sayesinde, bağışıklık

yanıtın yüksek olmasını sağlayan bol miktarda viral epitop bulundurmaktadırlar.³⁹ Günümüzde HPV, HBV ve Plasmodium için lisanslı VLP aşılar yer almaktadır.⁴⁰

Nükleik asit aşıları

HIV, HPV, Influenza, Ebola, Batı Nil virüsü, HBV, HCV, Sitomegalovirüs için geliştirilen DNA aşıları klinik çalışma aşamasındadır.⁴¹ DNA aşılarının kısıtlılıkları, araştırmaların RNA bazlı aşılar a yönelmesine neden olmuştur. Hücre çekirdeğine ulaşmaya gerek duyulmaması, hücreye girişinin yeterli olması RNA aşılarının avantajlarından bazılarıdır.⁴² Ancak, RNA'nın molekül kararsızlığı ve in-vivo ortamda düşük verimde çalışması bu aşıların dezavantajlarını oluşturmaktadır. RNA bazlı aşı çalışmaları, genellikle kanserler üzerinde yoğunlaşmıştır.⁴³ Mikroorganizmalar için replike olmayan ve kendiliğinden çoğalan RNA aşıları olarak iki tür RNA aşısı üretilmiştir.⁴⁴ HIV, Rabies ve Zika virüs gibi virüsler için RNA bazlı aşıların çeşitli klinik çalışmaları yer almaktadır.⁴⁵

Nükleik asit aşıları, genomun plazmid içerisinde aktarımı ya da mRNA'nın doğrudan uygulaması temeline dayanmaktadır. Endojen protein senteziyle doğal enfeksiyon sürecini taklit etmektedirler. Bu sayede T hücre yanıtına ek olarak antikor yanıtı da oluşmaktadır.⁴⁶ Veterinerlikte lisanslı DNA aşıları kullanılmaktadır.⁴⁷ COVID-19 pandemisi döneminde insanlar üzerinde yeni geliştirilen mRNA aşıları hücre kültüründe çoğaltma ihtiyacı olmadan sentetik biyolojik metotlarla hızlı bir biçimde üretilebilmektedir. Alman (Biontech-Pfizer) ve Amerikan (Moderna) menşeli COVID-19 aşıları bu aşıların örneğidir.⁴⁸

Nanoaşılar

Nanoaşılar hem hızlı hem de uzun süreli humoral ve hücresele bağışıklığı indüklemeye potansiyeline sahiptir. Çoğunlukla oral, intravenöz, intranazal ve transdermal olmak üzere birkaç yöntem kullanılarak uygulanmaktadır.⁴⁹⁻⁵¹ Nanoaşıların temel çalışma prensibi, bağışıklık hücresi tarafından tanınmayı kolaylaştırmak için nanopartikülleri virüslerin boyutuna ve şekline benzettirir.⁴⁹ Nanoaşı-

lar, bağışıklık sistemini uyarmak için bileşenlere bağlanan veya bu bileşenlerle özel olarak hazırlanan nano ölçekli parçacıklardan oluşmaktadır. Bu aşılar, hastalıklarla mücadele etmek için vücudun bağışıklık tepkisini uyarma kapasitesini kanıtlamıştır. Grip, salmonelloz, leishmaniasis, kuduz ve bruselloz gibi çeşitli zoonotik hastalıkları tedavi ve tespit etmek için nano bazlı formülasyonların oluşturulmasında büyük ilerleme kaydedilmiştir. Bu formülasyonlar arasında adjuvanlanmış pDNA hidrojel, arginin bazlı nanotaşıyıcılar, kuantum noktaları ve poli-konjuge nanomiseller, mannosillenmiş tiyolatlı kitosan yer almaktadır.⁵² Lipozom, VLP, polimerik nanopartikül, nanojel, lipid nanopartikül, eksozom ve emülsiyonlar enfeksiyon hastalıklarının profilaksisi için kullanılan nanoaşı türleridir.⁵³

SARS-CoV-2 mRNA bazlı nanopartikül aşıları, Moderna tarafından Ulusal Alerji ve Bulaşıcı Hastalıklar Enstitüsü (NIAID) ile iş birliği içinde geliştirilmiştir.⁵⁴ Lipid nanopartikülleri içerisine kapsüllenmiş mRNA, spike proteinini kodlamaktadır.^{55,56} Pfizer ve BioNTech tarafından geliştirilen BNT162 (b1, b2) aşısı, reseptör bağlama alanının bir trimerini kodlayan mRNA içermektedir.⁵³

İnorganik partiküller

İnorganik partiküller, immün cevabın güçlendirilmesi için adjuvan ve antijen taşıyıcı bir araç olarak kullanılmaktadır. Altın, alüminyum, kalsiyum fosfat ve silika aşı geliştirme yöntemlerinde en fazla kullanılan inorganik partiküllerdir.⁵⁷ Altın parçacıkları kararlı bir yapıya sahiptir, farklı biçim ve büyüklüklerle rahatlıkla sentezlenebilmektedirler.⁵⁸ Yüzeyleri kolaylıkla değiştirilebildiğinden, uygulamada antijen konjugasyonunu kolaylaştırmaktadır.⁵⁹ Melanom, İnfluenza ve HBV gibi hastalıklar için farklı aşı çalışmalarında taşıyıcı olarak kullanılmıştır.^{60,61} Altına ek olarak, alüminyum parçacıklarının da immün sistemi indüklemek için taşıyıcı ve adjuvan görevi gördüğü bildirilmiştir.^{62,63}

İmmün cevabı uyaran kompleksler

Fosfolipidler, kolesterol, saponin ve protein antijenlerin kombine edilmesiyle kendi kendine meydana gelen kafes

benzeri parçacıklardan oluşmaktadır.⁶⁴ İmmün cevabı uyaran kompleksin meydana gelmesi için amfipatik proteinler kullanılması gerekmektedir. Bu kompleksin alternatif bir formu olan "ISCOMATRIX" antijenler bulunmadan formülasyonu yapılan bir adjuvandır.⁶⁵ Hemen hemen bütün antijenler potansiyel olarak ISCOMATRIX adjuvanıyla birleşebileceğinden, bu metot kolaylık sağlamaktadır. Bu kompleks profilaktik ve terapötik aşuların klinik çalışmaları için kullanılmaktadır.⁶⁶

Bitki benzeri parçacıklar

Kullanımı kolay, hızlı ve bol miktarlarda üretilebilmesi, maliyetinin düşük olması, kitle aşılama çalışmalarında kolaylıkla kullanılabilmesi gibi avantajlarından dolayı oral yolla uygulama için kullanışlı bir aşı yöntemidir.⁶⁷ Bitkilerdeki hücre duvarının, hücre içerisindeki maddeleri midenin asitli ortamından koruyabilmesi bu parçacıkların avantajlarından bir tanesidir. Aşılarla kullanılmak üzere antijen parçacıkları üretmek için transgenik bitki hücrelerinin üremesi sağlanmaktadır.⁶⁸ Patates, domates, muz, marul, havuç, tütün vb. bitkilerle İnfluenza, HBV ve Bacillus anthracis gibi farklı mikroorganizmalar için bitki hücresi bazlı aşı yöntemleri keşfedilmiştir.⁶⁷ Ayrıca alg bazlı aşular da içerdiği hücre duvarı nedeniyle bu yöntemlerin içerisinde yer almaktadır. Bu aşuların bitki bazlı aşılara göre, genetik açıdan kolay değiştirilebilmeleri, biyoreaktörler aracılığıyla yetiştirilebilmeleri ve büyümeleri için geniş alanlar, iklim şartlarına da uzun bir zaman gerektirmemeleri gibi bazı avantajları bulunmaktadır.⁶⁹ HPV, HBV vb. etkenlerin, el ayak ağız hastalığı ve diabetes mellitus gibi farklı hastalıkların profilaksisi için alg bazlı aşı araştırmaları yer almaktadır.⁶⁷

Gelecek Çalışmalar

Son yıllarda aşı geliştirme çalışmalarında kayda değer ilerlemeler olmasına rağmen, tüm aşular konakçıda bir bağışıklık tepkisi oluşturamamakta ve ömür boyu koruma sağlayamamaktadır. Günümüzde kullanımda olan mevcut aşular geliştirmek için, özellikle antijenik değişkenliğe sahip veya *S. pneumoniae* gibi çoklu serotiplere sahip pato-

jenler ve patojenik ekzotoksinler için aşı ihtiyaçlarını ele alacak yeni stratejilere ihtiyaç bulunmaktadır.⁷⁰ Rekombinant DNA teknolojilerindeki ilerlemeler, konak patogenezinde yer alan alt birimleri veya toksin reseptörlerini hedef alarak çok sayıda yeni aşı stratejisinin geliştirilmesini sağlayabilir. Ancak geliştirilen aşuların başarısı, aşı güvenliği, aşı geliştirmedeki zorluklar, maliyet, fayda ve riskler konusundaki dengenin sağlanmasıyla mümkün olmaktadır. Geliştirilecek olan aşuların başarısı, her patojen veya toksin için hangi teknolojinin tek başına veya kombinasyon halinde optimal olduğunun belirlenmesine ve konak yanıtına bağlıdır.⁷¹

Botulinum ve tetanoz toksini aşuları için yapılan son araştırmalarda, toksin proteininin tamamının en güçlü bağışıklık tepkisi sağladığını, genel yapı ve antijenik epitoplari korurken toksinin biyolojik aktivitesini sınırlamak için az sayıda amino asit ikamesinin uygulanmasının mümkün olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca, biyolojik olarak boş bir rekombinant proteinden oluşan bir aşı oluşturmak için tek amino asit kalıntılarını seçici olarak mutasyona uğratmaya yönelik bir fikir, rekombinant alt birim aşuların güvenlik profilini geliştirmek için de gelecekte kullanılabilir. Bu yaklaşım, mRNA kodunun biyolojik olarak aktif olmayan ancak oldukça immünojenik bir protein üretecek şekilde kolayca değiştirilen mRNA aşularına da kolaylıkla uygulanabilir. Gelecekteki umut veren fikirlerden bir tanesi de rekombinant toksinleri ve alt birim proteinlerinin kullanıldığı toksisite araştırmaları ile mRNA teknolojisinin birleşimidir. Sonuç olarak, aşı teknolojisindeki son gelişmeler ve patogenezde yer alan moleküler mekanizmalara ilişkin anlayışlar, yeni aşı çalışmaları için umut verici bir gelecek sunmaktadır.

SONUÇ

Yeni aşı teknolojileri geliştirilirken, mikroorganizmaların önceden var olan varyasyonlarının yanı sıra mutasyona uğrama, bağışıklık sisteminin etkisinden ve aşuların sağladığı korumadan kaçma gibi yetenekleri de dikkate alınmalıdır. Konağın bağışıklık sistemi ile patojenler ara-

sındaki etkileşimin daha iyi anlaşılması aşuların geliştirilebilmesine büyük katkılar sağlayacaktır. Günümüzde, aşısı olmayan çok sayıda enfeksiyon hastalığı bulunmakta olup, muhtemel pandemiler göz önünde bulundurulduğunda yeni aşı teknolojilerine olan ihtiyaç giderek artmaktadır. Patojen ve konak arasındaki ilişkilerin yeterince anlaşılması, bir aşının etkili ve evrensel olabilmesini sağlayacak ve aşuların daha iyi tasarlanmasına yardımcı olacaktır.⁷²

Kaynaklar

1. Jefferson T. Bioterrorism and compulsory vaccination. *BMJ*. 2004;329(7465):524-525. doi:10.1136/bmj.329.746.5.524
2. Saleh A, Qamar S, Tekin A, Singh R, Kashyap R. Vaccine Development Throughout History. *Cureus*. 2021;13(7). doi:10.7759/cureus.16635
3. Hardt K, Bonanni P, King S, et al. Vaccine strategies: Optimising outcomes. *Vaccine*. 2016;34(52):6691-9. doi:10.1016/j.vaccine.2016.10.078
4. Shaker R, Fayad D, Dbaibo G. Challenges and opportunities for meningococcal vaccination in the developing world. *Hum Vaccin Immunother*. 2018;14(5): 1084-97. doi:10.1080/21645515.2018.1434463
5. Muraskin W. The global alliance for vaccines and immunization: Is it a new model for effective public-private cooperation in international public health? *Am J Public Health*. 2004;94(11):1922-5. doi:10.2105/AJPH.94.11.1922
6. Vetter V, Denizer G, Friedland LR, Krishnan J, Shapiro M. Understanding modern-day vaccines: what you need to know. *Ann Med*. 2018;50(2):110-20. doi:10.1080/0785390.2017.1407035
7. Fijen CA, Kuijper EJ, te Bulte MT, Daha MR, Dankert J. Assessment of complement deficiency in patients with meningococcal disease in The Netherlands. *Clin Infect Dis*. 1999;28(1):98-105. doi: 10.1086/515075. PMID: 10028078.
8. Wara DW. Host defense against *Streptococcus pneumoniae*: the role of the spleen. *Rev Infect Dis*. 1981;3(2):299-309. doi: 10.1093/clinids/3.2.299. PMID: 7256088.
9. Demicheli V, Barale A, Rivetti A. Vaccines for women for preventing neonatal tetanus. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015(7):CD002959. doi: 10.1002/14651858.CD002959.pub4.
10. Madhi SA, Cutland CL, Kuwanda L, et al. Influenza vaccination of pregnant women and protection of their infants. *N Engl J Med*. 2014;371(10):918-31. doi: 10.1056/NEJ-Moa1401480.
11. Pollard AJ, Bijker EM. A guide to vaccinology: from basic principles to new developments. *Nat Rev Immunol*. 2021;21(83)-100. doi.org/10.1038/s41577-020-00479-7
12. Patel M, Lee CK. Polysaccharide vaccines for preventing serogroup A meningococcal meningitis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2005;25(1):CD001093. doi: 10.1002/14651858.CD001093.pub2.
13. Moberley S, Holden J, Tatham DP, Andrews RM. Vaccines for preventing pneumococcal infection in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013;2013(1):CD000422. doi: 10.1002/14651858.CD000422.pub3.
14. Pollard AJ, Perrett KP, Beverley PC. Maintaining protection against invasive bacteria with protein-polysaccharide conjugate vaccines. *Nat Rev Immunol*. 2009;9(3):213-20. doi: 10.1038/nri2494.
15. Kouritis AP, Read JS, Jamieson DJ. Pregnancy and infection. *N Engl J Med*. 2014;370(23):2211-8. doi: 10.1056/NEJMra1213566.
16. Malley R, Trzcinski K, Srivastava A, Thompson CM, Anderson PW, Lipsitch M. CD4+ T cells mediate antibody-independent acquired immunity to pneumococcal colonization. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(13):4848-53. doi: 10.1073/pnas.0501254102.
17. San Miguel A, Ramos MC. Historia de las vacunas y sueroterapia. *Gaceta Médica de Bilbao*. 2013; 10(3):74-80. 10.
18. Asociación Española de Vacunología. Alicante: Generalitat Valenciana; 2006 [consultado el 6 de febrero de 2020]. Tuells J. La introducción de la variolización en Europa. En: Tuells J y Ramírez SM. Balmis et Variola.
19. Tuells J. La decisiva contribución de Edward Jenner (1749-1823) a la defensa contra la viruela. *Vacunas*. 2007; 8(1):53-60. doi.org/10.1016/S1576-9887(07)73972-9
20. Kelley T. Immunizations & Infectious Diseases: An Informed Parent's Guide. *Archives of Pediatrics Adolescent Medicine*. 2006; 160:986-987.
21. Parish J. History of immunization. 1ª ed. Edinburgh and London: Cambridge University Press. 1965.
22. Lain P. Historia de la Medicina. 1ª ed. Barcelona: Salvat. 1978.
23. Sakula A. BCG: who were Calmette and Guérin? *Thorax*. 1983;38(11):806- 12. doi: 10.1136/thx.38.11.806.
24. Galindo Santana BM, Galindo Sardiña MA, Pérez Rodríguez A. Sistema de vigilancia de eventos adversos consecutivos a la vacunación en la República de Cuba [Adverse reaction surveillance system for vaccination in the Republic of Cuba]. *Rev Cubana Med Trop*. 1999;51(3):194-200
25. Parnas J. Thorvald Madsen 1870-1957. Leader in international public health. *Dan Med Bull*. 1981;28(2):82-86.
26. Asociación Española de Vacunología. Alicante: Generalitat Valenciana; 2006 [consultado el 6 de febrero de 2020]. Tuells J. La introducción de la variolización en Europa. En: Tuells J y Ramírez SM. Balmis et Variola.
27. Instituto Nacional del Cáncer. Vacunas contra el virus del papiloma humano (VPH). 2020. <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo/germenes-infecciosos/hoja-informativa-vacuna-vph> Accessed:05 October 2023
28. Sell S. How vaccines work: immune effector mechanisms and designer vaccines. *Expert Rev Vaccines*. 2019;18(10):993-1015. doi:10.1080/14760584.2019.1674144
29. Boehm T, Swann JB. Origin and evolution of adaptive immunity. *Annu Rev Anim Biosci*. 2014;2(1):259-83. doi:10.1146/annurev-animal-022513-114201
30. Mok DZ, Chan KR. The effects of pre-existing antibodies on live-attenuated viral vaccines. *Viruses*. 2020;12(5): 520. doi:10.3390/v12050520
31. Bandyopadhyay AS, Garon J, Seib K, Orenstein WA. Polio vaccination: past, present and future. *Future Microbiol*. 2015;10(5):791-808. doi: 10.2217/fmb.15.19.
32. Haber P, Moro PL, Ng C, et al. Safety review of tetanus toxoid, diphtheria toxoid, acellular pertussis vaccines (Tdap) in adults aged ≥ 65 years, Vaccine Adverse Event Reporting System (VAERS), United States, September 2010–December 2018. *Vaccine*. 2020;38(6):1476-80. doi: 10.1016/j.vaccine.2019.
33. Moyle PM, Toth I. Modern subunit vaccines: development, components, and research opportunities. *ChemMed Chem*. 2013;8(3):360-76. doi:10.1002/cmdc.201200487
34. Lemoine C, Thakur A, Krajišnik D, et al. Technological approaches for improving vaccination compliance and coverage. *Vaccines*. 2020 ;8(2):304. doi: 10.3390/vaccines8020304.
35. Farzanehpour M, Shahriary A, Dorostkar R, et al. New Vaccine Technologies for Rapid Response against Emerging, Reemerging Infections and Biological Threats: Lessons from COVID-19 for Future. *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 2023; 10(1): 876-887. doi:10.30491/JABR.2022.324720.1486
36. Kobayashi M, Schrag SJ, Alderson MR, et al. WHO consultation on group B *Streptococcus* vaccine development: Report from a meeting held on 27-28 April 2016. *Vaccine*. 2019;37(50):7307-7314. doi: 10.1016/j.vaccine.2016.12.029.
37. Kilic SG, Dolapci I. Asilarin Tarihçesi ve Yeni Ası Stratejileri. *Journal of Ankara University Faculty of Medicine*. 74(1) 2021, 1-10. 10.4274/atfm.galenos.2020.14227
38. Roldão A, Mellado MC, Castilho LR, Carrondo MJ, Alves PM. Virus-like particles in vaccine development. *Expert Rev Vaccines*. 2010;9(10):1149-76. doi: 10.1586/erv.10.115.
39. Akahata W, Yang ZY, Andersen H, et al. A virus-like particle vaccine for epidemic Chikungunya virus protects nonhuman primates against infection. *Nat Med*. 2010;16(3):334-8. doi: 10.1038/nm.2105.
40. Mohsen MO, Zha L, Cabral-Miranda G, Bachmann MF. Major findings and recent advances in virus-like particle (VLP)-based vaccines. *Semin Immunol*. 2017;34:123-132. doi: 10.1016/j.smim.2017.08.014.
41. Stanberry LR, Strugnell R. Vaccines of the future. *Perspectives in Vaccinology*. 2011;1(1):151-99. doi: 10.1016/j.pervac.2011.05.006.
42. Bettinger T, Carlisle RC, Read ML, Ogris M, Seymour LW. Peptide-mediated RNA delivery: a novel approach for enhanced transfection of primary and post-mitotic cells. *Nucleic Acids Res*. 2001;29(18):3882-91. doi: 10.1093/nar/29.18.3882.
43. Grunwitz C, Kranz LM. mRNA Cancer Vaccines—Messages that Prevail. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2017;405:145-164. doi: 10.1007/82_2017_509.
44. Wallis J, Shenton DP, Carlisle RC. Novel approaches for the design, delivery and administration of vaccine technologies. *Clin Exp Immunol*. 2019;196(2):189-204. doi: 10.1111/cei.13287.
45. Jacobson JM, Routy JP, Welles S, et al. Dendritic Cell Immunotherapy for HIV-1 Infection Using Autologous HIV-1 RNA: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Trial. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2016;72(1):31-8. doi: 10.1097/QAI.0000000000000926.
46. Francis MJ. Recent Advances in Vaccine Technologies. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 2018;48(2):231-241. doi: 10.1016/j.cvsm.2017.10.002.
47. Redding L, Weiner DB. DNA vaccines in veterinary use. *Expert Rev Vaccines*. 2009;8(9):1251-76. doi: 10.1586/erv.09.77.
48. CDC. What Clinicians Need to Know About the Pfizer-BioNTech COVID-19 Vaccine. 13 Aralık 2020. <https://www.cdc.gov/vaccines/covid-19/downloads/pfizer-biotech-vaccine-what-clinicians-need-to-know.pdf> (accessed, 05 Oct, 2023)
49. Mittal A, Manjunath K, Ranjan RK, Kaushik S, Kumar S, Verma V. COVID-19 pandemic: Insights into structure, function, and hACE2 receptor recognition by SARS-CoV-2. *PLoS Pathog*. 2020;16(8):e1008762. doi: 10.1371/journal.ppat.1008762.
50. Karch CP, Matyas GR. The current and future role of nanovaccines in HIV-1 vaccine development. *Expert Rev Vaccines*. 2021;20(8):935-944. doi: 10.1080/14760584.2021.
51. Xin X, Liu Y, Guo L, et al. Improvement of B Cell Responses by an HIV-1 Amphiphilic Polymer Nanovaccine. *Nano Lett*. 2023;23(9):4090-4094. doi: 10.1021/acs.nanolett.3c01241.

1. Arshad R, Sargazi S, Fatima I, et al. Nanotechnology for therapy of zoonotic diseases: a comprehensive overview, *Chemistry Select*. 2022;7 (21): e202201271 doi.org/10.1002/slct.202201271
2. Priyanka Abusalah MAH, Chopra H, Sharma A, et al. Nanovaccines: A game changing approach in the fight against infectious diseases. *Biomed Pharmacother*. 2023;167:115597. doi: 10.1016/j.biopha.2023.115597.
3. OMS COVID-19 Vaccine Tracker and Landscape. Available Online: <https://www.who.int/Publications/m/Item/Draft-Landscape-of-Covid-19-Candidate-Vaccines> (Accessed on 08 October 2023).
4. World Health Organization Emergency Use Designation of COVID-19 Candidate Vaccines: Ethical Considerations for Current and Future Covid-19 PlaceboControlled Vaccine Trials and Trial Unblinding. Available Online: https://www.who.int/Publications/i/Item/WHO-2019-nCoV-Policy_Brief-EUD_placebo-Contr olled_vaccine_trials-2020.1 (Accessed on 08 October 2023).
5. Shin MD, Shukla S, Chung YH, et al. COVID-19 vaccine development and a potential nanomaterial path forward. *Nat Nanotechnol*. 2020;15(8):646-655. doi: 10.1038/s41565-020-0737-y.
6. Smith JD, Morton LD, Ulery BD. Nanoparticles as synthetic vaccines. *Curr Opin Biotechnol*. 2015;217-24. doi: 10.1016/j.copbio.2015.03.014.
7. Niikura K, Matsunaga T, Suzuki T, et al. Gold nanoparticles as a vaccine platform: influence of size and shape on immunological responses in vitro and in vivo. *ACS Nano*. 2013;7(5):3926-38. doi: 10.1021/nn3057005.
8. Gregory AE, Judy BM, Qazi O, et al. A gold nanoparticle-linked glycoconjugate vaccine against *Burkholderia mallei*. *Nanomedicine*. 2015;11(2):447-56. doi: 10.1016/j.nano.2014.08.005.
9. Ginsberg BA, Gallardo HF, Rasalan TS, et al. Immunologic response to xenogeneic gp100 DNA in melanoma patients: comparison of particle-mediated epidermal delivery with intramuscular injection. *Clin Cancer Res*. 2010;16(15):4057-65. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-10-1093.
10. Roy MJ, Wu MS, Barr LJ, et al. Induction of antigen-specific CD8+ T cells, T helper cells, and protective levels of antibody in humans by particle-mediated administration of a hepatitis B virus DNA vaccine. *Vaccine*. 2000;19(7-8):764-78. doi: 10.1016/s0264-410x(00)00302-9.
11. Maquieira Á, Brun EM, Garcés-García M, Puchades R. Aluminum oxide nanoparticles as carriers and adjuvants for eliciting antibodies from non-immunogenic haptens. *Anal Chem*. 2012;84(21):9340-8. doi: 10.1021/ac3020998.
12. Fox CB, Kramer RM, Barnes V L, Dowling QM, Vedrick TS. Working together: interactions between vaccine antigens and adjuvants. *Ther Adv Vaccines*. 2013;1(1):7-20. doi: 10.1177/2051013613480144.
13. Morein B, Sundquist B, Höglund S, Dalsgaard K, Osterhaus A. Iscom, a novel structure for antigenic presentation of membrane proteins from enveloped viruses. *Nature*. 1984;308(5958):457-60. doi: 10.1038/308457a0.
14. Drane D, Gittleson C, Boyle J, Maraskovsky E. ISCOMATRIX adjuvant for prophylactic and therapeutic vaccines. *Expert Rev Vaccines*. 2007;6(5):761-72. doi: 10.1586/14760584.6.5.761.
15. Cebon JS, Gore M, Thompson JF, et al. Results of a randomized, double-blind phase II clinical trial of NY-ESO-1 vaccine with ISCOMATRIX adjuvant versus ISCOMATRIX alone in participants with high-risk resected melanoma. *J Immunother Cancer*. 2020;8(1):e000410. doi: 10.1136/jitc-2019-000410.
16. Concha C, Cañas R, Macuer J, et al. Disease Prevention: An Opportunity to Expand Edible Plant-Based Vaccines? *Vaccines (Basel)*. 2017;5(2):14. doi: 10.3390/vaccines5020014.
17. Sala F, Manuela Rigano M, et al. Vaccine antigen production in transgenic plants: strategies, gene constructs and perspectives. *Vaccine*. 2003;21(7-8):803-8. doi: 10.1016/s0264-410x(02)00603-5.
18. Specht EA, Mayfield SP. Algae-based oral recombinant vaccines. *Front Microbiol*. 2014;5:60. doi: 10.3389/fmicb.2014.00060.
19. Nascimento IP, Leite LC. Recombinant vaccines and the development of new vaccine strategies. *Braz J Med Biol Res*. 2012;45(12):1102-11. doi: 10.1590/s0100-879x2012007500142.
20. Gupta S, Pellett S. Recent Developments in Vaccine Design: From Live Vaccines to Recombinant Toxin Vaccines. *Toxins (Basel)*. 2023;15(9):563. doi: 10.3390/toxins15090563.
21. Santos Onate Tenorio MDL, Eslava MP, Tenorio AO. Vaccines: Origin and evolution throughout history. *J Vaccines Immunol*. 2022; 8(1): 004-013.