



Enfeksiyon Hastalıklarında mRNA Temelli Aşı Çalışmaları ve Güncel Gelişmeler mRNA Based Vaccine Studies in Infectious Diseases and Current Developments

Ümit SAVAŞÇI¹ [ID], Hanefi Cem GÜL¹ [ID]

¹Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye [Department of Infectious Disease, Gulhane Training and Research Hospital, University of Health Sciences, Ankara, Turkey].

Makale geçmişi [Article Info]: Geliş Tarihi (Received): 30.12.2020. Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 21.01.2021.

İletişim [Correspondence]: Ümit Savaşçı; Doç.Dr., Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye. E-posta: drumitsavasci@gmail.com [Ümit Savaşçı; Assoc.Prof., Department of Infectious Disease, Gulhane Training and Research Hospital, University of Health Sciences, Ankara, Turkey. E-mail: drumitsavasci@gmail.com]

Özet

Başlangıçta genetik hastalıkların tedavisinde in-vivo protein ekspresyonu için geliştirilen mRNA teknolojisi, terapötik kanser aşuları yönüne doğru gelişirken, bu aşuların tolere edilebilirliği ve immünojenisitesi ile ilgili ilk veriler bu yeni platformun geleneksel aşı yaklaşımlarının yetersiz kaldığı enfeksiyonlar için koruyucu bağışıklık geliştirilmesinde yeni bir alternatif sistem olabileceği fikrini ortaya çıkarmıştır. mRNA teknolojisi influenza virus, RSV (Respiratory syncytial virus), HIV (Human immunodeficiency virus), CMV (human cytomegalovirus), kuduz, MMLV (moloney murine leukaemia virus), Ebolavirus, insan papilloma virus (HPV), Zika virus, hepatit C virusu (HCV) ve Kırım Kongo Kanamalı Ateş Virusü (KKKAV) gibi farklı virüsler yanında, *Streptococcus* türü bakteriler ve *Toxoplasma gondii* gibi parazitler enfeksiyonlara yönelik koruyucu aşı geliştirme çalışmalarında son yıllarda denenen umut verici yeni bir yaklaşım olmuştur. mRNA aşularının neredeyse standartlaştırılabilir bir platform üzerinde hızlı aşı tasarımına imkan vermesi yanında, ölçeklenebilir üretim kapasitesi bu aşuları yeni ortaya çıkan salgınların kontrol altına alınması ve önlenmesi için bir umut haline getirmiştir. SARS-CoV-2 (Severe acute respiratory syndrome coronavirus-2) pandemisinde bu özelliği ile öne çıkan mRNA aşuları birçok gelişmiş ülkeden milyarlarca doz aşı talebi almış ve 2020 yılı sonlarından itibaren acil kullanım onayları ile milyonlarca kişiye uygulanmıştır. Replikasyon olabilmeyen mRNA aşı formatlarının çok daha düşük aşı dozlarında bağışık yanıtı uyandırabilmesi, dolayısıyla düşük maliyetli erişim imkanı sunması ve mRNA aşularının konak genomuna entegre olma riski taşımayıp geçici ve kontrol edilebilir bir antijenik uyarı yapması bu yeni aşuların diğer avantajlarıdır. Aşuların zayıf stabilitesi, immünojenisitesinin dengelenmesi, bazı aşılarda soğuk zincir koşullarında dağıtım gereksinimi, bazı enfeksiyöz etkenler için istenilen düzeyde koruyuculuk elde edilememesi ve uzun dönem yan etkileri ile ilgili verilerin sınırlı olması gibi halen çözüm bekleyen veya geliştirilmesi gereken bazı zorluklar da bulunmaktadır. Kapsamlı klinik çalışmaların sonuçları ile elde edilecek güvenlik kanıtlarından sonra yeni teknik gelişmelerin de katkısı ile mRNA temelli aşuların gelecekte daha yaygın olarak kullanılması beklenmektedir. Bu makalede enfeksiyon hastalıklarına yönelik geliştirilen profilaktik mRNA aşı çalışmalarından elde edilen sonuçların kısa bir özeti sunulmuştur.

Anahtar Kelimeler: mRNA aşısı, SARS-CoV-2, Dendritik hücre, Zika virus, Ebolavirus, Kuduz.

Abstract

While mRNA technology, which was originally developed for in-vivo protein expression in the treatment of genetic diseases, is developing towards therapeutic cancer vaccines, initial data on the tolerability and immunogenicity of these vaccines led to the idea that this new platform could be a new alternative system for

developing protective immunity for infections where conventional vaccine approaches fall short. mRNA technology has been a promising new approach that has been tried in recent years in preventive vaccine development researches for different viruses such as influenza virus, RSV (Respiratory syncytial virus), HIV (Human immunodeficiency virus), CMV (human cytomegalovirus), rabies virus, MMLV (moloney murine leukemia virus), Ebolavirus, human papilloma virus (HPV), Zika virus, hepatitis C virus (HCV) and Crimean Congo Hemorrhagic Fever Virus (CCHFV), as well as bacterial and parasitic infections such as *Streptococcus* spp. and *Toxoplasma gondii*. mRNA vaccines allow rapid vaccine design on a practically standardizable platform, in addition, scalable production capacity has become these vaccines a hope for containment and prevention of emerging epidemics. In the SARS-CoV-2 (Severe acute respiratory syndrome coronavirus-2) pandemic, mRNA vaccines, which stand out with this feature, have received billions of doses of vaccine requests from many developed countries and have been applied with emergency use approvals since the end of 2020 to millions of people. Other advantages of these new vaccines are that replicable mRNA vaccine formats can induce an immune response at much lower vaccine doses, thus offering low-cost access, and that mRNA vaccines do not have the risk of integrating into the host genome and provide a temporary and controllable antigenic stimulation. There are also some challenges that still need to be resolved or need to be developed, such as the weak stability of vaccines, balancing their immunogenicity, the need for distribution in cold chain conditions for some vaccines, the inability to achieve the desired protection levels for some infectious agents and limited data on long-term side effects. After the safety evidence to be obtained with the results of extensive clinical studies, it is expected that mRNA-based vaccines will be used more widely in the future with the contribution of new technical developments. A summary of the results of the prophylactic mRNA vaccine studies that are being developed for infectious diseases is provided in this article.

Keywords: mRNA vaccine, SARS-CoV-2, Dendritic cell, Zika virus, Ebolavirus, Rabies.

Giriş

Geleneksel aşı yaklaşımları, HIV (human immunodeficiency virus), herpes simpleks virus (HSV) ve solunum sinsityal virus (RSV) gibi kronik veya tekrarlayan enfeksiyonlara neden olan zorlu virüslere karşı etkili aşılarda üretmede büyük ölçüde başarısız olmuştur. Ek olarak Ebolavirus-2014 ve Zika virus-2016 salgınlarında görüldüğü üzere ticari aşı geliştirme ve onay süreçlerinin zaman alıcı olması akut viral hastalıkların hızla ortaya çıkışına yanıt vermedeki yetersizliğin önemli bir nedeni olmuştur. Bu nedenle, yeni ortaya çıkan ve salgın ve pandemi potansiyeli taşıyan enfeksiyöz patojenlere daha güçlü, hızlı ve çok yönlü yanıt oluşturabilen aşı platformlarının geliştirilmesi önemli bir gereksinim haline gelmiştir [1,2].

Klinik öncesi çalışmalar, mRNA aşılarının ideal bir klinik aşının birçok yönünü yerine getireceğine dair umut oluşturmuştur. Hayvan çalışmalarında olumlu bir güvenlik profili göstermiş olmaları, çok yönlülüğü ve yeni ortaya çıkan bulaşıcı hastalıklar için hızlı tasarıma uygun bir esnekliğin olması ve ölçeklenebilir (yüksek kapasitede) düzeyde iyi üretim uygulamaları (GMP) ile üretilebiliyor olmaları bu aşılarda en önemli avantajları olarak dikkat çekmektedir. Protein temelli aşılardan farklı

olarak, mRNA aşılarının çeşitli formatları, güçlü CD4⁺ T hücre yanıtına ek olarak MHC sınıf I molekülleri üzerinden endojen olarak üretilen antijenlerin verimli sunumuna bağlı olarak güçlü CD8⁺ T hücre yanıtını da indükler. Ek olarak, mRNA aşıları, DNA aşılardan farklı olarak, hayvanlarda yalnızca bir veya iki düşük doz aşılamaya ile güçlü nötralize edici antikor tepkileri oluşturmuştur [1].

Erken bir çalışmada (1993) [3], influenza virus nükleoproteinlerini kodlayan lipozom-kompleksli mRNA ile bağışıklamanın farelerde CTL (*cytotoxic T lymphocyte*) tepkileri ortaya çıkardığı gösterilmiş, ancak mRNA aşılarının enfeksiyöz patojenlere karşı koruyucu bağışıklık yanıtı oluşturduğuna dair güçlü kanıtların elde edildiği ilk çalışma 2012 yılında yayımlanmıştır [4]. Yeni fikirlere kapı açan bu çalışmada, birkaç influenza virus antijenini kodlayan bir mRNA aşısı ve protamin-kompleksli bir RNA adjuvanı kombine edilmiştir. İntradermal olarak uygulanan bu mRNA aşısının çoklu hayvan modellerinde immünojenik olduğu gösterilmiş ve fareleri ölümcül viral tehditten koruduğu bildirilmiştir [1].

Sonuç olarak, mRNA aşılarının çok sayıda hayvan modelinde çeşitli enfeksiyöz ajanlara karşı

koruyucu immünite sağladığı gösterilmiş ve bu durum mRNA aşılı için önemli bir iyimserlik oluşturmuştur [1]. Bununla birlikte, bazı bulaşıcı hastalıklar için elde edilen klinik çalışma sonuçları biraz mütevazı olup, bu veriler klinik öncesi başarının kliniğe yansımada konusunda daha ihtiyatlı beklentilere yol açmıştır [5,6].

mRNA Temelli Aşı Modelleri

Enfeksiyöz patojenlere karşı iki tip mRNA aşısı kullanılmıştır. Bunlardan biri amplifiye olabilen (replikon mRNA) mRNA aşılı, diğeri ise hücre içerisine verildiğinde replikasyon özelliği olmayan mRNA aşılıdır. Replike olmayan mRNA aşılı dendritik hücrelere (DH) ex-vivo yükleme sonrası bu hücrelerin vücuda verilmesi şeklinde veya çeşitli anatomik bölgelere doğrudan in-vivo enjeksiyon şeklinde uygulanabilmektedir [1]. Günümüzde kullanılan amplifiye olabilen mRNA (self-amplifying mRNA, SAM) aşılılarının çoğu, RNA replikasyon mekanizmasını kodlayan viral genleri içeren ancak virüsün yapısal proteinlerini kodlayan genlerin üretilmek istenilen ilgili aşı antijeni ile değiştirildiği bir alfavirus genomu (rekombinan Semliki Forest virus, rSFV) üzerinde tasarlanmaktadır [1,7]. SAM platformu, antijen kodlayan mRNA'nın hücre içi replikasyonu nedeniyle son derece küçük bir aşı dozundan (0.1-10 µg) büyük miktarda antijen üretimini mümkün kılmaktadır [8]. Doğrudan enjekte edilebilen replike olmayan mRNA aşılı, özellikle kaynak sınırlı ortamlarda basit ve ekonomik uygulamaları nedeniyle ilgi çekici bir aşı formatıdır [1].

Ex-vivo DH yüklemesi, kanserlere karşı hücre aracılı bağışıklık oluşturulması amacıyla sık başvurulan ve yoğun bir şekilde araştırılan bir yöntemdir, ancak bu yaklaşım enfeksiyon hastalıklarına yönelik koruyucu aşılıların geliştirilmesinde daha az ilgi görmüştür. Enfeksiyon hastalıkları alanında DH temelli mRNA aşılı esas olarak HIV-1 enfeksiyonlarına odaklanmıştır [1,9].

Enfeksiyöz hastalıklar için geliştirilen çeşitli aşılarda lipid veya polimer aracılı mRNA temelli aşı sistemleri başarıyla kullanılmıştır [1]. Bu aşı platformu, influenza virus, insan sitomegalovirus (CMV), farelerde hepatit C virusu (HCV) ve kuduz virusu, tavşanlarda HIV-1 ve resus makaklarında

HIV-1 ve CMV dahil olmak üzere birçok virüse karşı immünojenisite göstermiştir [1,10].

İnfluenza virus mRNA Aşı Çalışmaları

İnfluenza viruslar, profilaktik mRNA aşılılarının üzerinde en çok çalışıldığı virüslerden biridir. Erken bir çalışmada (2001), RSV füzyon proteinini (F), influenza virus hemagglutinin (HA) proteinini ve tickborne encephalitis virus (*louping ill virus*) pre-membrane ve zarf (prM-E) proteinlerini kodlayan üç ayrı aşı modelinde 10 µg çıplak SAM aşılı ile aşılamanın farelerde antikor yanıtlarını uyardığı ve ölümcül hastalığa karşı kısmi koruma sağladığı bildirilmiştir [7]. Nanopartikül taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesi mRNA aşılı için yeni seçenekler sunmuştur. Kitosan içeren lipid nanopartiküller (LNP) (2014) veya polietilenimin (PEI) ile kompleks haline getirilmiş influenza virus antijenlerini kodlayan replikon RNA'nın (2016) subkutan uygulamadan sonra farelerde T ve B hücre immün yanıtlarını ortaya çıkardığı gösterilmiştir [11,12]. Başka bir çalışmada ise (2016) kimyasal olarak modifiye edilmiş, iyonlaşabilir bir dendrimerden oluşan ve LNP'lerle komplekslenmiş bir iletim platformu geliştirilerek, influenza virus antijenlerini kodlayan RNA replikonlarının intramusküler verilmesinin fareleri ölümcül enfeksiyona karşı koruduğu gösterilmiştir [13]. Aynı dönemde (2016) yapılan farklı bir çalışmada ise influenza virus HA proteinini kodlayan lipid kompleksli mRNA kullanılarak farelerde intravenöz immünizasyonlar ile tek bir dozdan sonra bile T hücrelerin aktive edilebildiği gösterilmiştir [14].

İnfluenza virus antijenlerini kodlayan LNP ile verilen SAM aşılı (HA proteini 2013; NP ve M1 proteinleri 2016) veya su içinde yağ (*oil-in-water*) katyonik nanoemülsiyon sistemleri (2016) ile aşılanan gelinciklerde güçlü bağışıklık tepkileri uyarılmış ve farelerde homolog ve heterolog viral yüklemeye (*challenge*) karşı koruma sağlamıştır [2,15,16]. Bu çalışmalardan biri mRNA aşılılarının salgınlara cevap verme hızı ile ilgili önemli bir veri sunmuştur, şöyle ki araştırmacılar Çin'deki H7N9 influenza salgınında virüsün HA ve nöraminidaz (NA) proteinlerini kodlayan gen dizileri web tabanlı bir paylaşım sisteminde yayımlandıktan sonra 8 gün içerisinde hızlı hücresiz gen sentezi ile

SAM aşısı teknolojisini kombine ederek bir aşısı adayı üretebildiklerini bildirmişlerdir [2].

Bir başka yeni raporda (2017), farelerde, gelinciklerde, insan-dışı primatlarda ve ilk kez insanlarda influenza H10N8 ve H7N9 influenza viruslarına karşı LNP kompleksli nükleozit modifiye mRNA aşısının immünojenitesi değerlendirilmiştir [5]. Bu çalışmada influenza virus HA antijenini kodlayan LNP-kompleksli mRNA'nın düşük dozları (0.4–10 µg) ile tek bir intradermal veya intramusküler immünizasyonla farelerde homolog influenza virus yüklemesine karşı koruyucu immün yanıt geliştiği gösterilmiştir. Bir veya iki doz 50-400 µg aşısı ile aşılandıktan sonra gelincik ve sinomolgus maymunlarında da benzer sonuçlar elde edilmiştir [5]. Klinik öncesi çalışmaların sunduğu bu cesaret verici verilere dayanarak, nükleozit modifiye mRNA-LNP aşısının insanlarda ilk kez immünojenikliğini ve güvenliğini değerlendirmek için yakın zamanda faz I klinik çalışmalar başlatılmıştır. H10N8 HA antijenini kodlayan mRNA aşısı klinik testlere tabi tutulmuş

(NCT03076385) ve ilk olarak aşılanan 23 kişi için ara bulgular bildirilmiştir (2017) [5]. Katılımcılara az miktarda (100 µg) intramusküler aşısı uygulanmış ve aşılamadan 43 gün sonra immünojenite ölçülmüştür. Aşının etkinliği mikro nötralizasyon antikör testleri ve hemaglutinasyon inhibisyonu yöntemi ile ölçülmüş ve aşının tüm deneklerde immünojenik olduğu kanıtlanmıştır. Antikör titrelerinin beklenen koruyucu eşik üzerinde olması umut verici olarak değerlendirilmiş, ancak bu titreler hayvan modellerinde bulunan sonuçlardan orta derecede daha düşük bulunmuştur. Deneklerin çoğunda hafif ila orta düzeyde yan etkiler (enjeksiyon bölgesi ağrısı, miyalji, baş ağrısı, yorgunluk ve üşüme) rapor edilmiş ve üç denekte şiddetli enjeksiyon bölgesi reaksiyonları veya sistemik soğuk algınlığı benzeri bir tepki ortaya çıktığı bildirilmiştir. Bu yan etki seviyesi, geleneksel aşısı formatlarınıninkine benzer görünmektedir. Çalışma tamamlanarak (NCT03076385 ve NCT03345043) elde edilen umut verici sonuçlar 2019 yılında yayımlanmıştır (Tablo 1) [17].

Tablo 1. İnfluenza virus enfeksiyonlarına yönelik mRNA temelli klinik aşısı çalışmaları.

Aşısı ve üreticisi	Klinik çalışma	Antijen	Verilme yolu	Güvenlik	Etkinlik
Moderna İnfluenza [17] LNP ve nükleozit modifiye mRNA 2019	NCT03076385 Faz 1 (142 kişi)	HA antijen (H10N8)	İntramusküler 25-400 µg (1-2x)	<ul style="list-style-type: none"> • 100 µg grubunda 3 kişide (%13) ikinci dozdan sonra şiddetli lokal olumsuz yan etki. • İntradermal uygulama ile ilişkili yüksek oranda istenilen-beklenen yan etkiler. • Derece I / II: yerel ve sistemik yan etkiler. 	100 µg mRNA dozunun iki intramusküler enjeksiyondan sonra immünojenite: <ul style="list-style-type: none"> • Deneklerin %100'ünde HAI titreleri ≥ 40 (başlangıca göre dört kat daha fazla). • MN ≥ 20, 87%.
	VAL-506440		İntradermal 25-50 µg (1-2x)		
	NCT03345043 Faz 1 (126 kişi)	HA antijen (H7N9)	10, 25 ve 50 µg (1-2x)	<ul style="list-style-type: none"> • 50 µg doz grubundaki katılımcıların %10'unda ikinci aşılamadan sonra enjeksiyon bölgesinde şiddetli ağrı. 	<ul style="list-style-type: none"> • Katılımcıların sırasıyla %36.0, %96.3 ve % 89.7'sinde 10, 25 veya 50 µg'lık 2x mRNA dozlarından sonra ≥ 40 HAI titreleri. • 10 ve 25 µg gruplarında (2x sonra) %100 ve 50 µg grubunda %96.6'sında ≥ 20 MN titreleri.
	VAL-339851				

HAI: Hemaglutinasyon inhibisyon. MN: Mikronötralizasyon.

HIV-1 mRNA Aşısı Çalışmaları

Yüksek etkili antiretroviral tedavi (HAART) gören HIV-1 ile enfekte kişilerde çeşitli HIV-1 antijenlerini kodlayan mRNA ile elektropore edilmiş otolog DH'ler aşısı platformu olarak kullanılmış ve farklı çalışmalarda bu uygulamanın hücresel bağışıklığı uyarma dereceleri değerlendirilmiştir [1,18,19]. Kişiselleştirilmiş

AGS-004 aşısı (CD40L'yi ve ART öncesi her bir deneğin plazmasından türetilen HIV antijenlerini - Gag, Vpr, Rev ve Nef- kodlayan mRNA ile elektropore edilmiş otolog monosit türevli DH'ler) ile 9 deneğin 7'sinde tam veya kısmi HIV-spesifik proliferatif immün yanıt oluştuğu gösterildi (2010) [19]. Başka bir çalışmada (2012) Gag proteini kodlayan mRNA ve bir kimerik Tat-Rev-Nef

proteini ile elektropore edilmiş otolog monositlerden türetilmiş DH'ler uygulanmış ve sadece hafif yan etkilerin izlendiği hastalarda HIV-1-spesifik interferon (IFN) - γ tepkisinin uyarıldığı gösterilmiştir [18]. Bu müdahalenin güvenli olduğu ve antijene özgü CD4⁺ ve CD8⁺ T hücre yanıtları ortaya çıkardığı kanıtlanmış, ancak istenilen düzeyde klinik fayda gözlenememiştir [1]. İlk çalışmaların birinde (2013) ise yeni bir yaklaşım olarak katyonik "1,2-dioleoiloksi 3-trimetil amonyum propan" ve "dioleoil fosfatidil etanolamin (DOTAP/DOPE)" ile kombine edilmiş HIV-1 gag proteinini kodlayan lipid kompleksli mRNA aşısının farelerde subkutan uygulamadan sonra antijene özgü CD4⁺ ve CD8⁺ T hücre yanıtları oluşturduğu gösterilmiştir [20]. PEI-kompleksli mRNA'ların, HIV-1'e özgü bağışıklık tepkilerini indüklemek için farelere verimli bir şekilde verilebileceğini gösteren farklı çalışmalar da bulunmaktadır (2016) [21,22].

On beş katılımcının 0, 2, 6 ve 10. haftalarda HIV-1 Gag ve Nef proteinleri ile transfekte DH'ler (mRNA aşısı) ve transfekte edilmemiş DH'ler (plasebo) ile intradermal yolla immünize (2:1 randomize) edildiği bir faz 1 çalışmasında (NCT00833781) aşılama sonrası immünizasyon grubunda istenilen düzeyde spesifik IFN-gama üretimi indüklenememiştir [9]. Bu çalışmada HIV-1 antijenlerine ve bir neo-antijen olan KLH'ye (*keyhole limpet hemocyanin*) karşı proliferatif yanıtlarda artışlar olsa da, bu etkilerin geçici olduğu gösterilmiştir [9]. Dendritik hücre aşılması stratejisinin bir HIV-1 terapötik aşı olarak etkili olması için daha güçlü ve uzun süreli bağışıklık tepkileri ortaya çıkarmak üzere optimize edilmesi gerekmektedir. Faz 1 çalışma sonuçları 2019 yılında yayımlanan bir çalışmada ise modifiye edilmemiş çıplak mRNA ve TriMix kombinasyonu denenmiş ve intra-nodal aşılama (100-1200 μ g, 3x) sonrası en yüksek dozda orta dereceli HIV-spesifik T hücresi tepkileri elde edilmiştir [23].

Persistan ve latent HIV enfeksiyonlarını azaltmayı hedefleyen vorinostat (*latency reversing agent*) ve otolog dendritik hücre immünoterapötik aşısı olan AGS-004'ün kombine kullanımının HIV rezervuarı üzerindeki etkinliği araştırılmış ve uygulamanın güvenli olmasına

rağmen istenilen düzeyde klinik etkinlik elde edilememiştir [24].

Tüm çalışma verilerine genel olarak bakıldığında HIV enfeksiyonlarının tedavisi için umut verici bir yaklaşım olan mRNA temelli aşı stratejilerinin ve aşılarla kombine edilecek yaklaşımların optimizasyonu ve geliştirilmesine gereksinim olduğu anlaşılmaktadır.

CMV mRNA Aşı Çalışmaları

CMV yaşam boyu latent enfeksiyonlara neden olan küresel olarak yaygın bir patojendir ve solid organ nakli yapılan kişiler ve hematopöietik kök hücre nakli (HKHN) alıcılarında ve konjenital enfeksiyonlarda önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir [25]. Etkili bir CMV aşısının geliştirilmesi transplant alıcılarında viral reaktivasyon riskini veya enfeksiyonun yenidoğanlar üzerindeki zararlı etkilerini azaltmak için bağışıklık kontrolü temelli fayda sağlayabilir [26,27]. Bununla beraber, geleneksel aşı teknikleri ile üretilen birkaç aşı bulunmasına rağmen bu aşılarda beklenen etkinliği gösteremediği için henüz onay almış bir aşı bulunmamaktadır.

Protein yüklenmiş DH temelli tedavilerin sunduğu umut vadeden verilerden sonra [28,29], mRNA yüklenen DH'lerin kullanıldığı aşı çalışmaları da denenmiştir. CMV-seronegatif dört sağlıklı gönüllünün ve üç allojenik HKHN alıcısının dahil edildiği dar kapsamlı bir çalışmada CMV pp65 mRNA yüklü DH aşılması denenmiş [30], CMV'ye özgü T hücre yanıtlarının de-novo indüksiyonu, ciddi yan etkiler olmaksızın dört sağlıklı gönüllüden üçünde tespit edilirken, HKHN alıcılarının hiçbirinde CMV hastalığı gelişmediği ve iki hastadan birinde DH CMV pp65'e özgü T hücrelerinde üç katlık dikkat çekici artış gözlemlendiği bildirilmiştir.

CMV ile ilişkili mortalite ve morbiditeyi azaltmak adına mRNA temelli aşılarda ve farklı aşı formatları üzerinde klinik çalışmalar devam etmesine rağmen henüz istenilen düzeyde bir başarıya ulaşılamamıştır [26]. Devam eden aşı geliştirme çalışmalarından Moderna'nın mRNA-1647 ve mRNA-1443 aşılarda faz 1 çalışmaları (NCT03382405) tamamlanmış ve mRNA-1647 aşısı için faz 2 (NCT04232280) çalışma aşamasına geçilmiştir [31].

Kuduz Virusu mRNA Aşı Çalışmaları

Kuduz dünya genelinde hem insanları hem de hayvanları etkileyen ve aşılamanın kritik öneme sahip olduğu zoonotik bir enfeksiyon etkenidir. Kuduzla yönelik etkili aşuların uzun süredir varlığına rağmen, aşı mevcudiyeti çoğunlukla gelişmekte olan ülkelerde yüksek sayıda ölümcül enfeksiyonlar nedeni ile yetersiz kalmaktadır. mRNA temelli aşular belirli avantajları ile yeni ortaya çıkan patojenlere ve aşuların bulunmadığı hastalıklara umut sunması yanında, hızlı ve düşük maliyetli bir aşı geliştirme teknolojisi olması nedeni ile halihazırda mevcut olan aşuların yerini alması da beklenmektedir [32]. Bu noktadan hareketle klinik öncesi ve klinik çalışmaların yoğunlaştığı etkenlerden biri de kuduz virusudur [1,33]. Kuduz virusu glikoproteini kodlayan protamin bazlı RNActive platformuyla bağışıklamanın (2016), farelerde ölümcül intraserebral virüs tehdidinde karşı koruyucu bağışıklığı uyardığı ve domuzlarda güçlü nötralize edici antikor yanıtlarını indüklediği gösterilmiştir [32]. Yakın zamanda (2017) yayımlanan ve 101

sağlıklı gönüllünün dahil edildiği bir klinik çalışmada, kuduz virusu glikoproteini kodlayan profilaktik mRNA temelli bir aşuların (CV7201) güvenilirliği ve immünojenikliği değerlendirilmiştir [6]. Bu çalışmada deneklere, intradermal veya intramusküler olarak iğneli şırınga veya iğnesiz cihazlarla üç kez 80–640 µg mRNA aşısı uygulanmıştır. Şaşırtıcı bir şekilde, iğne şırınga enjeksiyonları, alıcıların %98'inde saptanabilir nötralize edici antikorlar üretmemiştir. Aksine, iğnesiz uygulama, değişken seviyelerde nötralize edici antikorların üretimini indüklemiştir. Aşılama kişilerin çoğunda beklenen koruyucu eşğin üzerinde antikor titrelerine ulaşılmasına rağmen, daha sonraki dönemde takip edilen deneklerde antikor titreleri 1 yıl sonra büyük ölçüde azalmıştır. Bu aşuların uygulandığı hayvanlar ve insanlar ve aşuların verilme yolları arasındaki farklı immünojenisitenin açıklanması için yeni çalışmalara gereksinim olduğu belirtilmiştir [6]. CureVac AG tarafından yürütülen ve halen devam etmekte olan bir çalışmanın umut verici ara sonuçları ilan edilmiştir (Tablo 2) [34].

Tablo 2. Kuduz virusu enfeksiyonlarına yönelik mRNA temelli klinik aşı çalışmaları.

Aşı ve üreticisi	Klinik çalışma	Antijen	Verilme yolu	Güvenlik	Etkinlik
CureVac AG Kuduz [6] protamin mRNA 2017	NCT02241135 Faz 1 (101 kişi) CV7201 mRNA	Rabies virus glikoprotein	İntradermal veya intramusküler (iğneli şırınga ve iğnesiz cihazlar) 80-640 µg (3x)	<ul style="list-style-type: none"> • III. derece yan etkiler dahil olmak üzere sistemik yan etkiler. • Bir kişide geçici, orta derecede yüz felci (<i>Bell's palsy</i>) vakası 	<ul style="list-style-type: none"> • İğnesiz cihazla aşılama kişilerde 3 enjeksiyondan sonra %71 (intradermal aşılama) ve %46'sında (intramusküler aşılama) koruyucu antikor titreleri elde edildi.
CureVac AG Kuduz [34] 2020	NCT03713086 Faz 1 (53 kişi) Rabipur® CV7202 mRNA	Rabies virus glikoprotein	İntramusküler Üç farklı doz (test edilen en düşük doz 1 µg) (3x)	Ara sonuçlar: Aşılama programı iyi tolere edildi.	Ara sonuçlar: Test edilen en düşük dozu alan tüm deneklerde WHO tarafından önerilen eşğin üzerinde koruyucu virüs nötralize edici antikor titreleri ile güçlü bir adaptif bağışıklık tepkisi elde edildi.

Zika virus mRNA Aşı Çalışmaları

Yetmiş yıllık bir sessizlikten sonra 2016 yılında uluslararası acil durum ilan edilmesi ile sonuçlanan bir salgına neden olan Zika virus, SARS-CoV-2 (Severe acute respiratory syndrome coronavirus-2) pandemisinden önceki dönemde aşı çalışmalarının küresel bir yarışa dönüştüğü ilk etken olmuştur [35]. Aday aşular arasında mRNA aşuları da denenmiştir; Zika virus prM-E'yi kodlayan bir RNA replikonu ile aşılamanın (2017),

farelerde antijene özgü antikor ve CD8⁺ T hücresi yanıtlarını ortaya çıkardığını gösterilmiştir [36].

Nükleozit modifiye mRNA aşı platformunun kullanıldığı ilk raporların birinde (2017) [37], 1-metil psödouridin ile modifiye edilmiş ve FPLC (*fast protein liquid chromatography*) ile saflaştırılmış Zika virus prM-E'yi kodlayan LNP ile formüle edilmiş mRNA'nın tek bir intradermal enjeksiyonunun, farelerde ve resus makaklarında koruyucu immün yanıt geliştirdiği gösterilmiştir.

Farklı bir araştırmacı grubu tarafından benzer şekilde tasarlanmış ancak FPLC saflaştırması yapılmayan sonraki bir çalışmada ise (2017), bu sistemin farelerde Zika virusa karşı etkinliği test edilmiş ve tek bir intramusküler aşılanmanın orta düzeyde bağışıklık tepkileri sağladığı ve bir güçlendirici doz ile aşılanmanın güçlü ve koruyucu bağışıklık tepkileri ile sonuçlandığı gösterilmiştir [38]. Yakın zamanda (2017) yapılan bir takip çalışmasında ise aynı aşı bir maternal aşılama ve fetal enfeksiyon modelinde incelenmiştir [39]. İki doz aşılama ile, fetal farelerde Zika virus enfeksiyonunun şiddeti bir derece azaltılmış ve ölümlerle sonuçlanan enfeksiyonlar tamamen önlenmiştir. Bu aşı platformlarından Moderna tarafından geliştirilen bazı aşı adayları faz 1 (mRNA-1893; NCT04064905 ve mRNA-1325; NCT03014089) aşamalarına geçmiştir [31]. Bu aşı adaylarından biri (mRNA-1893) Ağustos 2019'da FDA (U.S. Food and Drug Administration) Fast Track Ataması almıştır [40].

Koronavirus mRNA aşıları

Bazı koronavirus türlerinin ciddi solunum yolu hastalıklarına neden olması ve küresel halk sağlığı tehdidi oluşturabilmeleri nedeniyle bu virüslere karşı güvenli ve etkili aşıların geliştirilmesi kritik önem taşımaktadır [41]. mRNA temelli aşıların dünya genelinde kabul görmesinde, SARS-CoV-2 aşılarının uluslararası referans kuruluşlardan aldıkları ilk onaylar ve yaygın aşılama sonrası elde edilen sonuçların önemli rol oynadığı söylenebilir.

SARS-CoV-2 pandemisi öncesi dönemde yürütülen bir çalışmada, SARS-CoV-2003 için denenen mRNA temelli bir aşı modelinde S proteininin mRNA temelli profilaktik aşı tasarımı için iyi bir hedef olabileceği değerlendirilmiştir [42]. SARS-CoV-2 için acil kullanım onayı alan ilk aşılar olan Moderna mRNA-1273 ve BioNTech SE BNT162b2 aşılarının her ikisi de S proteinini hedeflemektedir [43,44]. Bu iki aşı faz 3 çalışma sonuçlarını ilan ederken, bu aşılar dışında Dünya Sağlık Örgütü tarafından izlenen aşı adayları arasında 2 mRNA aşısı (NCT04566276 ve ChiCTR2000034112 - ChiCTR2000039212) daha klinik çalışma aşamalarına (faz 1) geçmiştir [45]. Bu iki aşı dışında 20'den fazla farklı aşı adayı klinik öncesi deneylerle test edilmektedir [45]. Bu

aşılarından biri de Türkiye'de Selçuk Üniversitesi tarafından geliştirilmektedir [46].

Moderna mRNA-1273 aşısının toplam 30.420 gönüllünün dahil edildiği faz 3 çalışma sonuçlarına göre 2 aylık koruyucu etkinliği %94.1 (%89.3-96.8) olarak bildirildi [44]. Benzer şekilde BioNTech SE BNT162b2 aşısının faz 2-3 çalışma sonuçlarına göre farklı ülkelerden 16 yaş ve üzeri 43.448 kişinin (21.720 aşı ve 21.728 plasebo) test edildiği ve iki aylık bir izlem sonunda aşının koruyucu etkinliğinin %95 olduğu (%90.3-97.6) bildirilmiştir [43]. Her iki aşı da birçok ülkede acil kullanım onayları aldı ve halen devam etmekte olan salgında farklı ülkelerden milyonlarca kişiye uygulandı ve aşılama devam etmektedir [47-50]. Bu aşıların her ikisi için de tolere edilebilir yan etkiler bildirilirken, her iki aşı için de çok az sayıda katılımcıda geçici yüz felci gözlemlenmesi (Moderna aşısı için 3'ü aşı grubunda ve bir plasebo grubunda, BioNTech aşısı için 4'ü de aşı grubunda olmak üzere) dikkat çekici olup, aşıların uzun dönem olumsuz etkilerinin olup olmadığı ilerleyen süreçteki izlem sonuçlarının yayımlanması ile daha sağlıklı olarak değerlendirilebilecektir [51,52].

Diğer Viral Enfeksiyonlarda mRNA Aşıları

Artan kanıtlar, mRNA aşılarının birçok farklı patojen türüne karşı etkili ve jenerik üretim süreçlerini kullanan bir platform teknolojisi oluşturduğunu göstermektedir [10]. Yukarıdaki başlıklarda değinilen viral etkenler dışında Kırım Kongo Kanamalı Ateş Virüsü (KKKAV), Dengue virus, RSV, HIV-1, CMV MMLV (moloney murine leukaemia virus), Ebolavirus, insan papilloma virus (HPV), hepatit C virüsü (HCV) ve Enterovirus-71 gibi virüsler için de mRNA temelli aşı çalışmaları yapılmıştır [10,53]. Bir araştırmada kimyasal olarak modifiye dendrimerlerden oluşan ve LNP'lere komplekslenmiş bir dağıtım platformu ile Ebolavirus antijenlerini kodlayan RNA replikonlarının intramusküler verilmesinin fareleri ölümcül enfeksiyona karşı koruduğu gösterilmiştir [13]. RSV F'yi kodlayan bir RNA replikon aşısının (2012) LNP ile kompleks oluşturmuş 100 ng kadar az bir kısmı farelerde güçlü T ve B hücre bağışıklık tepkilerine yol açmış ve bir pamuk ratına burun içi 1 µg uygulama ile RSV enfeksiyonuna karşı

koruyucu bağışıklık tepkileri ortaya çıkarmıştır [54].

mRNA temelli antiviral aşılarından biri de KKKAV için Türkiye’de tasarlanan ve geliştirilen bir aşı adaydır. Bu aşının klinik öncesi çalışma sonuçları çok yakın bir zamanda (2019) yayımlanmıştır [53]. KKKAV Ank-2 suşunun S proteinini eksprese eden geleneksel çıplak bir mRNA aşısı fare modelinde destek doz uygulaması sonrası güçlü ve koruyucu bir immün yanıt sunmuştur [53].

Bakteri ve Parazitlerde mRNA Aşı Çalışmaları

Yeni bir teknolojik platform olan mRNA temelli aşılarda viral etkenler dışında bakteriyel ve parazit enfeksiyon etkenleri için de denenmektedir. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada SAM aşılarının bakteriyel patojenlere, yani *Streptococcus spp.*'ye karşı (grup A ve B) immünojenik olduğu ve orta derecede koruyucu etkinlik gösterdiği bildirilmiş ve platformun çok yönlülüğü ortaya konmuştur [55].

Parazit yaşam döngülerinin karmaşıklığı ve parazitlerin insan bağışıklık sisteminden kaçma kabiliyeti nedeniyle bazı parazitik hastalıklar için geleneksel aşı platformları pek uygun değildir [56]. Dendrimer yapılı ve LNP komplekslenmiş bir dağıtım platformu ile *Toxoplasma gondii*

antijenlerini kodlayan RNA replikonlarının intramusküler verilmesinin fareleri ölümcül enfeksiyona karşı koruduğu gösterilmiştir [13]. Toksoplazma için farklı aşı modelleri de denenmiştir [57]. Bunun dışında, *Leishmania donovani* için farelerin RNA replikonları ile immünizasyonu [58] ve sıtma enfeksiyonlarına karşı bir mRNA replikon sisteminin denendiği çalışmalar da bulunmaktadır [59]. Bu etkenler dışında yakın gelecekte *Trypanosoma cruzi* de dahil olmak üzere çok sayıda yeni mRNA aşısı araştırmasının yapılacağı öngörülmektedir [56].

Sonuç

Geçmiş 30 yıl öncesine dayanan mRNA aşılarının son 10 yılda dikkat çekici bir sürece girdiği görülmektedir. Başlangıçta genetik hastalıklar ve kanser immünoterapisi için geliştirilen bu teknoloji özellikle de SARS-CoV-2 pandemisi ile farklı bir yöne odaklanmaya başlamıştır. Yakın gelecekte daha fazla çeşitlilikte antijenlerin çalışıldığı ve farklı tekniklerin uygulandığı yeni çalışmalarla bu stratejinin mevcut bulaşıcı hastalık aşılarının yerini alabileceği düşünülmektedir. Bununla beraber, uzun dönem güvenlik verilerinin daha açık bir şekilde ortaya konmasına gereksinim olduğu değerlendirilmektedir.

Çıkar beyanı: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemiştir. Makalenin içeriğinden ve yazılmasından tek başına yazarlar sorumludur. **Finansal destek:** Bu çalışmaya finansal destek verilmemiştir.

Kaynaklar

1. Pardi N, Hogan MJ, Porter FW, Weissman D. mRNA vaccines - a new era in vaccinology. Nat Rev Drug Discov 2018; 17(4): 261-79. [Crossref]
2. Hekele A, Bertholet S, Archer J, Gibson DG, Palladino G, Brito LA, et al. Rapidly produced SAM(®) vaccine against H7N9 influenza is immunogenic in mice. Emerg Microbes Infect 2013; 2(8): e52. [Crossref]
3. Martinon F, Krishnan S, Lenzen G, Magné R, Gomard E, Guillet JG, et al. Induction of virus-specific cytotoxic T lymphocytes in vivo by liposome-entrapped mRNA. Eur J Immunol 1993; 23(7): 1719-22. [Crossref]
4. Petsch B, Schnee M, Vogel AB, Lange E, Hoffmann B, Voss D, et al. Protective efficacy of in vitro synthesized, specific mRNA vaccines against influenza A virus infection. Nat Biotechnol 2012; 30(12): 1210-6. [Crossref]
5. Bahl K, Senn JJ, Yuzhakov O, Bulychev A, Brito LA, Hassett KJ, et al. Preclinical and Clinical Demonstration

- of Immunogenicity by mRNA Vaccines against H10N8 and H7N9 Influenza Viruses. Mol Ther 2017; 25(6): 1316-27. [Crossref]
6. Alberer M, Gnad-Vogt U, Hong HS, Mehr KT, Backert L, Finak G, et al. Safety and immunogenicity of a mRNA rabies vaccine in healthy adults: an open-label, non-randomised, prospective, first-in-human phase 1 clinical trial. Lancet 2017; 390(10101): 1511-20. [Crossref]
7. Fleeton MN, Chen M, Berglund P, Rhodes G, Parker SE, Murphy M, et al. Self-replicative RNA vaccines elicit protection against influenza A virus, respiratory syncytial virus, and a tickborne encephalitis virus. J Infect Dis 2001; 183(9): 1395-8. [Crossref]
8. Kis Z, Kontoravdi C, Shattock R, Shah N. Resources, Production Scales and Time Required for Producing RNA Vaccines for the Global Pandemic Demand. Vaccines (Basel) 2020; 9(1): E3. [Crossref]

- 9.** Gandhi RT, Kwon DS, Macklin EA, Shopis JR, McLean AP, McBriane N, et al. Immunization of HIV-1-Infected Persons With Autologous Dendritic Cells Transfected With mRNA Encoding HIV-1 Gag and Nef: Results of a Randomized, Placebo-Controlled Clinical Trial. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2016; 71(3): 246-53. [[Crossref](#)]
- 10.** Ulmer JB, Geall AJ. Recent innovations in mRNA vaccines. *Curr Opin Immunol* 2016; 41: 18-22. [[Crossref](#)]
- 11.** Démouilins T, Milona P, Englezou PC, Ebensen T, Schulze K, Suter R, et al. Polyethylenimine-based polyplex delivery of self-replicating RNA vaccines. *Nanomedicine* 2016; 12(3): 711-22. [[Crossref](#)]
- 12.** McCullough KC, Bassi I, Milona P, Suter R, Thomann-Harwood L, Englezou P, et al. Self-replicating Replicon-RNA Delivery to Dendritic Cells by Chitosan-nanoparticles for Translation In Vitro and In Vivo. *Mol Ther Nucleic Acids* 2014; 3(7): e173. [[Crossref](#)]
- 13.** Chahal JS, Khan OF, Cooper CL, McPartlan JS, Tsosie JK, Tilley LD, et al. Dendrimer-RNA nanoparticles generate protective immunity against lethal Ebola, H1N1 influenza, and *Toxoplasma gondii* challenges with a single dose. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016; 113(29): E4133-42. [[Crossref](#)]
- 14.** Kranz LM, Diken M, Haas H, Kreiter S, Loquai C, Reuter KC, et al. Systemic RNA delivery to dendritic cells exploits antiviral defence for cancer immunotherapy. *Nature* 2016; 534(7607): 396-401. [[Crossref](#)]
- 15.** Magini D, Giovani C, Mangiavacchi S, Maccari S, Cecchi R, Ulmer JB, et al. Self-Amplifying mRNA Vaccines Expressing Multiple Conserved Influenza Antigens Confer Protection against Homologous and Heterosubtypic Viral Challenge. *PLoS One* 2016; 11(8): e0161193. [[Crossref](#)]
- 16.** Brazzoli M, Magini D, Bonci A, Buccato S, Giovani C, Kratzer R, et al. Induction of Broad-Based Immunity and Protective Efficacy by Self-amplifying mRNA Vaccines Encoding Influenza Virus Hemagglutinin. *J Virol* 2015; 90(1): 332-44. [[Crossref](#)]
- 17.** Feldman RA, Fuhr R, Smolenov I, Mick Ribeiro A, Panther L, Watson M, et al. mRNA vaccines against H10N8 and H7N9 influenza viruses of pandemic potential are immunogenic and well tolerated in healthy adults in phase 1 randomized clinical trials. *Vaccine* 2019; 37(25): 3326-34. [[Crossref](#)]
- 18.** Van Gulck E, Vlieghe E, Vekemans M, Van Tendeloo VF, Van De Velde A, Smits E, et al. mRNA-based dendritic cell vaccination induces potent antiviral T-cell responses in HIV-1-infected patients. *AIDS* 2012; 26(4): F1-12. [[Crossref](#)]
- 19.** Routy JP, Boulassel MR, Yassine-Diab B, Nicolette C, Healey D, Jain R, et al. Immunologic activity and safety of autologous HIV RNA-electroporated dendritic cells in HIV-1 infected patients receiving antiretroviral therapy. *Clin Immunol* 2010; 134(2): 140-7. [[Crossref](#)]
- 20.** Pollard C, Rejman J, De Haes W, Verrier B, Van Gulck E, Naessens T, et al. Type I IFN counteracts the induction of antigen-specific immune responses by lipid-based delivery of mRNA vaccines. *Mol Ther* 2013; 21(1): 251-9. [[Crossref](#)]
- 21.** Zhao M, Li M, Zhang Z, Gong T, Sun X. Induction of HIV-1 gag specific immune responses by cationic micelles mediated delivery of gag mRNA. *Drug Deliv* 2016; 23(7): 2596-607. [[Crossref](#)]
- 22.** Li M, Zhao M, Fu Y, Li Y, Gong T, Zhang Z, et al. Enhanced intranasal delivery of mRNA vaccine by overcoming the nasal epithelial barrier via intra- and paracellular pathways. *J Control Release* 2016; 228: 9-19. [[Crossref](#)]
- 23.** Leal L, Guardo AC, Morón-López S, Salgado M, Mothe B, Heirman C, et al; iHIVARNA consortium. Phase I clinical trial of an intranodally administered mRNA-based therapeutic vaccine against HIV-1 infection. *AIDS* 2018; 32(17): 2533-45. [[Crossref](#)]
- 24.** Gay CL, Kuruc JD, Falcinelli SD, Warren JA, Reifeis SA, Kirchherr JL, et al. Assessing the impact of AGS-004, a dendritic cell-based immunotherapy, and vorinostat on persistent HIV-1 Infection. *Sci Rep* 2020; 10(1): 5134. [[Crossref](#)]
- 25.** Şahiner F. Konjenital Sitomegalovirüs Enfeksiyonlarının Tanı ve Yönetiminde Güncel Yaklaşımlar ve Türkiye'deki Durum. *Mikrobiyol Bul* 2020; 54(1): 171-90. [[Crossref](#)]
- 26.** Koenig J, Theobald SJ, Stripecke R. Modeling Human Cytomegalovirus in Humanized Mice for Vaccine Testing. *Vaccines (Basel)* 2020; 8(1): 89. [[Crossref](#)]
- 27.** John S, Yuzhakov O, Woods A, Deterling J, Hassett K, Shaw CA, Ciaramella G. Multi-antigenic human cytomegalovirus mRNA vaccines that elicit potent humoral and cell-mediated immunity. *Vaccine* 2018; 36(12): 1689-99. [[Crossref](#)]
- 28.** Peggs KS, Verfuert S, Pizzey A, Khan N, Guiver M, Moss PA, et al. Adoptive cellular therapy for early cytomegalovirus infection after allogeneic stem-cell transplantation with virus-specific T-cell lines. *Lancet* 2003; 362(9393): 1375-7. [[Crossref](#)]
- 29.** Feuchtinger T, Opher K, Bicanic O, Schumm M, Grigoleit GU, Hamprecht K, et al. Dendritic cell vaccination in an allogeneic stem cell recipient receiving a transplant from a human cytomegalovirus (HCMV)-seronegative donor: induction of a HCMV-specific T(helper) cell response. *Cytotherapy* 2010; 12(7): 945-50. [[Crossref](#)]
- 30.** Van Craenenbroeck AH, Smits EL, Anguille S, Van de Velde A, Stein B, Braeckman T, et al. Induction of cytomegalovirus-specific T cell responses in healthy volunteers and allogeneic stem cell recipients using vaccination with messenger RNA-transfected dendritic cells. *Transplantation* 2015; 99(1): 120-7. [[Crossref](#)]
- 31.** National Institutes of Health (NIH), New York, USA. National Library of Medicine (NLM); ClinicalTrials.gov. Available at: <https://www.clinicaltrials.gov/> [Accessed December 27, 2020].
- 32.** Schnee M, Vogel AB, Voss D, Petsch B, Baumhof P, Kramps T, et al. An mRNA Vaccine Encoding Rabies

Virus Glycoprotein Induces Protection against Lethal Infection in Mice and Correlates of Protection in Adult and Newborn Pigs. *PLoS Negl Trop Dis* 2016; 10(6): e0004746. [[Crossref](#)]

33. Verbeke R, Lentacker I, De Smedt SC, Dewitte H. Three decades of messenger RNA vaccine development. *Nano Today* 2019; 28: 100766. [[Crossref](#)]

34. CureVac N.V., Tübingen, Germany. CureVac Announces Positive Results in Low Dose – 1 µg – Rabies Vaccine Clinical Phase 1 Study. Available at: <https://www.curevac.com/en/2020/01/07/curevac-announces-positive-results-in-low-dose-1-%C2%B5g-rabies-vaccine-clinical-phase-1-study/> [Accessed December 29, 2020].

35. Şahiner F, Tekin K, Gümrül R. Zika Virus: Current Status, Protective Vaccination Studies, and Antiviral Treatment Alternatives. *Türk Mikrobiyoloji Cemiy Derg* 2017; 47(3): 97-105. [[Crossref](#)]

36. Chahal JS, Fang T, Woodham AW, Khan OF, Ling J, Anderson DG, et al. An RNA nanoparticle vaccine against Zika virus elicits antibody and CD8+ T cell responses in a mouse model. *Sci Rep* 2017; 7(1): 252. [[Crossref](#)]

37. Pardi N, Hogan MJ, Pelc RS, Muramatsu H, Andersen H, DeMaso CR, et al. Zika virus protection by a single low-dose nucleoside-modified mRNA vaccination. *Nature* 2017; 543(7644): 248-51. [[Crossref](#)]

38. Richner JM, Himansu S, Dowd KA, Butler SL, Salazar V, Fox JM, et al. Modified mRNA Vaccines Protect against Zika Virus Infection. *Cell* 2017; 168(6): 1114-25.e10. [[Crossref](#)]

39. Richner JM, Jagger BW, Shan C, Fontes CR, Dowd KA, Cao B, et al. Vaccine Mediated Protection Against Zika Virus-Induced Congenital Disease. *Cell* 2017; 170(2): 273-83.e12. [[Crossref](#)]

40. Martin C, Lowery D. mRNA vaccines: intellectual property landscape. *Nat Rev Drug Discov* 2020; 19(9): 578. [[Crossref](#)]

41. Zhou P, Li Z, Xie L, An D, Fan Y, Wang X, et al. Research progress and challenges to coronavirus vaccine development. *J Med Virol* 2021; 93(2): 741-4. [[Crossref](#)]

42. He Y, Li J, Heck S, Lustigman S, Jiang S. Antigenic and immunogenic characterization of recombinant baculovirus-expressed severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein: implication for vaccine design. *J Virol* 2006; 80(12): 5757-67. [[Crossref](#)]

43. Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, Lockhart S, et al.; C4591001 Clinical Trial Group. Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *N Engl J Med* 2020; NEJMoa2034577. [[Crossref](#)]

44. Baden LR, El Sahly HM, Essink B, Kotloff K, Frey S, Novak R, et al.; COVE Study Group. Efficacy and Safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine. *N Engl J Med* 2020; [Online ahead of print]. [[Crossref](#)]

45. World Health Organization (WHO), Geneva, Switzerland. Draft landscape of COVID-19 candidate vaccines. Available at: <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines> [Accessed December 28, 2020].

46. Anadolu Ajansı, Ankara, Türkiye. Selçuk Üniversitesi'nde geliştirilen Türkiye'nin ilk mRNA aşısının yazın kullanıma sunulması planlanıyor. Available at: <https://www.aa.com.tr/tr/koronavirus/selcuk-universitesinde-gelistirilen-turkiyenin-ilk-mrna-asisinin-yazin-kullanima-sunulmasi-planlaniyor/2105643> [Accessed December 28, 2020].

47. US Food and Drug Administration (FDA), Silver Spring, Maryland, USA. Moderna COVID-19 Vaccine EUA Letter of Authorization. Available at: <https://www.fda.gov/media/144636/download> [Accessed December 29, 2020].

48. Mahase E. Covid-19: UK approves Pfizer and BioNTech vaccine with rollout due to start next week. *BMJ* 2020; 371: m4714. [[Crossref](#)]

49. European Medicines Agency (EMA), Amsterdam, Netherlands. EMA recommends first COVID-19 vaccine for authorisation in the EU. Available at: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/comirnaty> [Accessed December 29, 2020].

50. US Food and Drug Administration (FDA), Silver Spring, Maryland, USA. Pfizer COVID-19 Vaccine EUA Letter of Authorization. Available at: <https://www.fda.gov/media/144412/download> [Accessed December 29, 2020].

51. US Food and Drug Administration (FDA), Silver Spring, Maryland, USA. Vaccines and Related Biological Products Advisory Committee December 17, 2020 Meeting Presentation - FDA Review of Efficacy and Safety of Moderna COVID-19 Vaccine Emergency Use Authorization Request. Available at: <https://www.fda.gov/media/144585/download> [Accessed December 29, 2020].

52. US Food and Drug Administration (FDA), Silver Spring, Maryland, USA. Vaccines and Related Biological Products Advisory Committee Meeting December 10, 2020 FDA Briefing Document Pfizer-BioNTech COVID-19 Vaccine. Available at: <https://www.fda.gov/media/144245/download> [Accessed December 29, 2020].

53. Aligholipour Farzani T, Földes K, Ergünay K, Gurdal H, Bastug A, Ozkul A. Immunological Analysis of a CCHFV mRNA Vaccine Candidate in Mouse Models. *Vaccines (Basel)* 2019; 7(3): 115. [[Crossref](#)]

54. Geall AJ, Verma A, Otten GR, Shaw CA, Hekele A, Banerjee K, et al. Nonviral delivery of self-amplifying RNA vaccines. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109(36): 14604-9. [[Crossref](#)]

55. Maruggi G, Chiarot E, Giovani C, Buccato S, Bonacci S, Frigimelica E, et al. Immunogenicity and protective efficacy induced by self-amplifying mRNA vaccines

encoding bacterial antigens. *Vaccine* 2017; 35(2): 361-8. [[Crossref](#)]

56. Versteeg L, Almutairi MM, Hotez PJ, Pollet J. Enlisting the mRNA Vaccine Platform to Combat Parasitic Infections. *Vaccines (Basel)* 2019; 7(4): 122. [[Crossref](#)]

57. Luo F, Zheng L, Hu Y, Liu S, Wang Y, Xiong Z, et al. Induction of Protective Immunity against *Toxoplasma gondii* in Mice by Nucleoside Triphosphate Hydrolase-II (NTPase-II) Self-amplifying RNA Vaccine Encapsulated in Lipid Nanoparticle (LNP). *Front Microbiol* 2017; 8: 605. [[Crossref](#)]

58. Duthie MS, Van Hoeven N, MacMillen Z, Picone A, Mohamath R, Erasmus J, et al. Heterologous Immunization With Defined RNA and Subunit Vaccines Enhances T Cell Responses That Protect Against *Leishmania donovani*. *Front Immunol* 2018; 9: 2420. [[Crossref](#)]

59. Baeza Garcia A, Siu E, Sun T, Exler V, Brito L, Hekele A, et al. Neutralization of the Plasmodium-encoded MIF ortholog confers protective immunity against malaria infection. *Nat Commun* 2018; 9(1): 2714. [[Crossref](#)]