واکسن‌ها (بخش اول)

توسط فاطمه آقاجانی دانشجوی دکتری میکرب‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه شاهد ورودی ۹۲

فهرست مطالب

مقدمه ۱
اجزای واکسن ۲
واکسن های فعال ۳
واکسن زنده ٤
Classic Virus ٤
تضعیف در محیط های کشت سلولی ۴
واریانتهایی از سایر گونه‌ها ۵
موتانتهای حساس به دما ۵
ویروسهای نوترکیب ۵
DNA و RNA ویروسها ٦
واکسنهای غیر فعال و subunit ٦
واکسنهای پروتئینی ۷
نوکلئیک اسید واکسنها ۸
DNA برهنه ۸
DNA تسهیل شده ۸
فرمولاسیون ۸
ترکیب ۹
وکتورهای ویروسی ۹
منابع ۹

مقدمه

واکسن‌ها ابزارهای ضروری برای جلوگیری و کنترل گسترش بیماری‌ها محسوب می‌شوند. پذیرش جهانی واکسن‌ها بر اساس شناخت اثرگذاری بالا و درجه ایمنی آنها می‌باشد. واکسن‌ها بطور قابل توجهی در کاهش مداوم مرگ و میر ناشی از بیماری-های عفونی کمک می‌کنند. عوامل مختلفی در کارامدی واکسن‌ها نقش دارند (Rashid, Rasheed et al. 2009). واکسن-های موجود بیش از درمان افراد بیمار، در جهت پیشگیری[1] از بیماری‌های عفونی حائز اهمیت می‌باشند. با این وجود، تکنولوژی‌های نوین جهت تولید واکسن‌هایی برای بیماری‌های غیر عفونی (مانند بیماری‌های خود ایمنی، سرطان، آلرژی،

[1] prophylaxis

اعتیاد) و واکسن‌های درمانی بیماری‌های عفونی و غیر عفونی خاص در حال گسترش است. این امر سبب تغییر مفهوم واکسن می‌شود.

دو گروه بزرگ از واکسن‌ها وجود دارند:

- واکسن‌های فعال[۲]: این واکسن‌ها سبب تحریک سیستم ایمنی جهت تولید آنتی بادی‌های اختصاصی یا تحریک پاسخ ایمنی سلولی و یا هر دو شده، بنابراین سبب پیشگیری یا حفاظت، بهبود یا رفع بیماری می‌گردند.
- واکسن‌های غیر فعال[۳]: این واکسن‌ها حاوی آنتی بادی‌های آماده هستند که قادر به خنثی سازی پاتوژن یا اتصال به آنتی‌ژن سلولی انسانی می‌باشند و قبل یا زمانی که در معرض یک پاتوژن شناخته شده یا بالقوه یا یک مورد عفونی یا فرد بیمار قرار می‌گیرد تجویز می‌شود.

واژه واکسن عموما به واکسن‌های فعال بر می‌گردد. با این حال، واکسیناسیون غیر فعال نیز در موارد خاص بخصوص اگر واکسن فعال و مناسب وجود نداشته باشد، در افراد دارای نقص سیستم ایمنی، درمان انواع سرطان‌ها و ایمنی درمانی سریع و کارامد در مواقع حاد (زمانیکه پاسخ ایمنی به واکسیناسیون فعال برای پیشگیری از یک بیماری جدید به اندازه کافی سریع نیست) ضروری می‌باشد (Ellis 2004).

واکسن‌ها در محلول (مایع یا فریز شده) یا در فریزدرایر (لیوفیلیز شده) بسته به پایداری و خصوصیات فیزیکی نگهداری می‌شوند. واکسن‌های لیوفیلیز، زمان تجویز در رقیق‌کننده[۴] بصورت سوسپانسیون در می‌آید. محلول واکسن و رقیق‌کننده‌ها ممکن است حاوی مواد اضافی نیز باشد:

- نگهدارنده‌ها یا آنتی بیوتیک‌ها جهت جلوگیری از رشد باکتریایی در multidose containers
- پایدارکننده‌ها شامل پروتئین‌ها یا ترکیبات آلی دیگر برای افزایش طول عمر محصول
- آدجوانت‌ها برای افزایش پاسخ‌های ایمنی
- سیستم‌های تحویل[۵] جهت عرضه آنتی‌ژن‌های واکسنی به سلول های مناسب سیستم ایمنی یا حفظ یا پایداری کانفورمیشن آنتی‌ژن‌ها در شرایط طبیعی بدن[۶]

مولکول های واکسن و ترکیبات اضافه شده مربوطه فرمولاسیون واکسن را تشکیل می دهند (Ellis 2004).

اجزای واکسن

- ترکیبات فعال واکسن: با نام آنتی ژن شناخته می شوند که فرم تغییر یافته یا بخشی از ویروس، باکتری یا توکسین است که عامل بیماری است. این بخش از واکسن سبب القای پاسخ ایمنی می شوند.
- آدجوانت ها: این ترکیبات به منظور افزایش پاسخ ایمنی به واکسن استفاده می شوند. یکی از روش هایی که آدجوانت بواسطه آن سبب افزایش پاسخ ایمنی می گردد آن است که آنتی ژن ها را در نزدیکی جایگاه تزریق نگاه داشته و بنابراین براحتی می توانند در دسترس سلول های سیستم ایمنی قرار گیرند.
- رقیق کننده: مایعی است که بطور جداگانه تهیه شده و به منظور رقیق سازی واکسن برای رسیدن به غلظتی مناسب پیش از تزریق مورد استفاده قرار می گیرد. عموما سالین یا آب استریل در این مورد استفاده می شود.
- تثبیت کننده ها: مکمل ها به عنوان تثبیت کننده مورد استفاده قرار می گیرند و از طریق پایداری ترکیبات واکسنی و آنتی ژن های آن در طول نگهداری کمک به پایداری و حفظ کارایی واکسن می کنند. این ترکیبات مانع از اتصال اجزای واکسن به جداره ویال واکسن می شوند. از جمله این ترکیبات می توان لاکتوز، سوکروز، گلایسین و مونو

---

[2] Active
[3] Passive
[4] diluent
[5] Delivery system
[6] in vivo

سدیم گلوتامات، آلبومین سرم انسانی یا گاوی را نام برد. در برخی از واکسن ها نیز از ژلاتین، کلاژن که بطور جزئی هیدرولیز شده است نیز مورد استفاده قرار می گیرد.

- نگهدارنده ها: این ترکیبات به منظور جلوگیری از آلودگی های قارچی یا باکتریایی افزوده می شوند و در تمامی واکسن ها عمومیت ندارند. از جمله این ترکیبات تیومرسال، فنل و فنوکسی اتانول را می توان نام برد.
- ترکیبات جزئی: این اجزا در مقادیر اندک در مراحل ابتدایی تولید استفاده می شوند. بر اساس فرایند های تولید این مواد می توانند شامل مقدیر جزئی از پروتئین های تخم مرغ، مخمر، آنتی بیوتیک ها یا عوامل غیرفعال کننده باشند. معمولا میزان بسیار کمی از این مواد در واکسن نهایی باقی می ماند. آنتی بیوتیک های مورد استفاده نئومایسین و/یا پلی میکسین B است. عوامل غیر فعال کننده مانند فرمالدهید یا گلوتارآلدهید نیز در واکسن های توکسوئیدی و کشته شده استفاده می شوند. برخی واکسن ها مانند واکسن های آنفلوانزا شاید حاوی مقادیر کمی از پروتئین های تخم مرغ باشندکه به دلیل کشت ویروس پیش از غیر فعالسازی در تخم مرغ است (Eldred, Dean et al. 2006).

واکسن های فعال[7]

ایمنی محافظتی بدست آمده از واکسن‌های فعال پس از یک یا چند دوز با حداقل اثرات جانبی[8] مادام العمر و قوی است. عموما واکسن‌های فعال را در سه گروه طبقه‌بندی می‌کنند که در جدول ۱ به آنها اشاره شده است.

جدول ۱: ویژگی های مقایسه ای واکسن های فعال (Ellis 2004).

Characteristics	Advantages	Challenges
Live vaccines		
• Able to replicate in the host • Attenuated in pathogenicity • Elicit antibodies and cell-mediated immunity	• May elicit broader immune responses • May require fewer doses • Generally longer lasting protection	• Uncertain window for attenuation • Uncertain safety before large-scale use • Stability • Ability to analyze the final product
Subunit, inactivated vaccines		
• Unable to replicate in the host • Elicit mostly antibodies	• Cannot multiply or revert to pathogenicity • Nontransmissable to another person • Generally less reactogenic • Usually more feasible technically	• May require adjuvant • May require delivery system • Immunogenic potency • Variable efficacy
Nucleic acid–based vaccines		
• Stimulate synthesis of antigens only in cells • Elicit mostly cell-mediated immunity	• Standardized method of production and analysis • Potential sustained immunological stimulation	• Establishing proof-of-principle • Immunogenic potency

- واکسن‌های زنده[9] عموما حاوی میکروارگانیسمی است که در میزبان یا سلول های‌عفونی تکثیر می‌یابد و بدون اینکه سبب ایجاد بیماری شود، به عنوان یک ایمونوژن عمل می‌کند.
- واکسن غیرفعال[10]، ایمونوژنی است که قادر به تکثیر در میزبان نیست.

[7] Active Vaccine
[8] reactogenicity
[9] Live vaccine
[10] Inactivated vaccine (subunit vaccine)

- DNA واکسن‌ها[11] نمی‌توانند در انسان تکثیر یابند، اما توسط سلول‌ها دریافت شده و سنتز آنتی‌ژن‌های واکسنی را هدایت می‌کنند.

استراتژی انتخابی برای توسعه هر یک از واکسن‌های فعال نام برده شده باید با در نظرگیری بیماریزایی، اپیدمیولوژی و ایمونوبیولوژی بیماری یا عفونت مورد نظر و امکان سنجی واکسن‌های طراحی شده جایگزین صورت گیرد. اپیدمیولوژی، جمعیت هدف جهت واکسیناسیون را تعیین می‌کند. سن و وضعیت سلامتی این جمعیت در ایجاد ایمنی محافظت‌کننده مناسب می‌تواند مورد توجه باشد. در مورد واکسیناسیون کودکان سالم، حداقل اثرات جانبی بسیار حائز اهمیت است. از سوی دیگر، درجه این اثرات جانبی برای واکسن‌هایی که در درمان سرطان‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند از اهمیت کمتری برخوردار است.

واکسن زنده

برخی از واکسن‌های زنده موجود در قابلیت ایجاد ایمنی مادام العمر طی یک یا دو دوز با حداقل اثرات جانبی، نزدیک به شرایط ایده آل می‌باشند. واکسن‌های زنده (بجز واکسن‌های سلول‌های دندریتیکی) حاوی ویروس‌ها و باکتری‌هایی هستند که مشابه میکروارگانیسم طبیعی به میزان محدودی در میزبان تکثیر می‌یابند. بنابراین ایمنی بدست آمده مشابه ایمنی‌ای است که طی عفونت طبیعی ایجاد می‌شود. واکسن زنده، تخفیف حدت یافته شده است. به طور مثال توانایی در ایجاد بیماری در آن بواسطه دستکاری های تکنیکی یا بیولوژیکی حذف شده است. واکسن فعال نیاز به تعادل overattenuated (نه عفونت طولانی تر برای عمل به عنوان یک واکسن) یا underattenuated (حفظ بیماریزایی حتی به میزان کم) ندارد. این واکسن ها عموما سبب فعال شدن ایمنی هومورال (آنتی‌بادی) و ایمنی سلولی (لنفوسیت T سایتوتوکسیک) می‌شوند.

تهیه واکسن زنده در بسیاری از موارد واکسن‌های در حال توسعه امکان پذیر نیست. تعادل میان تضعیف غیرکامل (و بدنبال آن توانایی ایجاد بیماری) و تضعیف کامل (ایمونوژنی ناکافی) حساس است و در حال حاظر برای برخی ویروس‌ها یا باکتری‌ها قابل انجام نمی‌باشد. از آنجا که واکسن زنده قادر به تکثیر است، بنابراین ممکن است به فرم بیماریزای طبیعی خود برگردد. مگر آنکه چندین موتاسیون تضعیفی وجود داشته باشد. علاوه بر این، برخی از واکسن‌های تضعیف شده می‌توانند از فرد واکسینه شده به افراد ایمن نشده سرایت کنند که در این صورت، اگر فرد گیرنده دارای نقص در سیستم ایمنی (مانند AIDS یا نقص بواسطه شیمی درمانی سرطان) باشد، بسیار خطرناک و جدی خواهد بود. در مواردی که عفونت با ویروس طبیعی نمی‌تواند سبب القای پاسخ ایمنی محافظت کننده شود، یک ویروس تخفیف حدت یافته نیز نمی‌تواند محافظت کننده باشد (Ellis 2004).

Classic Virus

اصطلاح Classic به استراتژی های تکنیکی برمی گردد که از DNA نوترکیب در آن استفاده نمی گردد.

تضعیف در محیط های کشت سلولی

تولید واکسن‌های ویروسی زنده بستگی به تکثیر کارامد ویروس در محیط کشت سلول دارد. این روش تجربی است و در آن ویروس‌های وحشی جدا شده از عفونت طبیعی انسان در شرایط آزمایشگاهی، در یک یا چند نوع خط سلولی با هدف تضعیف پاتوژنیتیسیته آن پاساژ داده می‌شوند. مکانیسم ایجاد موتاسیون طی دوره تضعیف تجربی شناخته شده نیست. در برخی موارد (مانند poliovirus) امکان ایجاد واکسن تخفیف حدت یافته در سویه‌های پریمات وجود دارد، درحالیکه در بسیاری از موارد تضعیف تنها با آزمایشات کلینیکی گسترده ایجاد می‌شود. تعداد قابل توجه واکسن‌های مجاز موجود، نشان دهنده موفقیت این روش تجربی است که در واکسن‌های خوراکی (مانند واکسن خوراکی Poliovirus[12]) و تزریقی (مانند سرخک، اوریون، آبله-مرغان) مورد استفاده قرار می‌گیرند. اثرات جانبی این واکسن‌ها به اندازه‌ای کم است که برخی از آنها (سرخک، پولیو) بطور گسترده برای استفاده معمول جهت واکسیناسیون کودکان در سراسر جهان پذیرفته شده می‌باشند. واکسن های سرخک-

[11] Nucleic acid-based vaccine
[12] OPV (oral poliovirus vaccine)

اوریون-سرخچه[۱۳] واکسنی است که بصورت سه ظرفیتی مورد استفاده قرار می‌گیرد. اخیرا به دنبال تلاش‌های گسترده جهت دستیابی به یک فرمولاسیون ایمونوژن و پایدار، واکسن‌های MMR و آبله مرغان بصورت واکسن MMRV ترکیب شده‌اند. در زمینه چالش اثبات تضعیف، به عنوان مثال پس از مشاهده ایمنی[۱۴] مناسب در آزمایشات کلینیکی، سویه Urab ویروس اوریون تایید گردید. پس از چندین سال استفاده از این سویه در واکسیناسیون میلیون ها کودک، مشاهده شد که Urab می-تواند با فراوانی ۱:۱۰۰۰۰ مننژیت آسپتیک ایجاد کند. با دستیابی به واکسن جایگزین بدون اثرات جدی، این سویه در بسیاری از کشورها مورد استفاده قرار نگرفت (Ellis 2004).

واریانت‌هایی از سایر گونه‌ها

یک ویروس حیوانی که سبب ایجاد بیماری مشابه به بیماری انسان در دام می‌شود را می‌توان جداسازی کرده و کشت داد. به نظر می‌رسد ویروس حیوانی در انسان بصورت تضعیف شده عمل کرده و باعث ایجاد حفاظت در برابر ویروس انسانی می‌گردد. واکسن علیه ویروس آبله نمونه بارز از این واکسن‌ها است. بیش از ۲۰۰ سال پیش، جنر[۱۵] مشاهده کرد افرادی که در معرض ویروس آبله گاوی بودند نسبت به آبله انسانی[۱۶] مقاوم هستند. بنابراین او عامل آبله گاوی (vaccinia virus) را برای واکسیناسیون علیه ویروس آبله انسانی (vaiola virus) استفاده نمود. بر این اساس، اولین واکسن‌ها علیه rotavirus حاوی ویروس‌های حیوانی (فاقد نوترتیبی[۱۷]) جدا شده از میمون‌های rhesus و گاوها بدست آمد (Ellis 2004).

یک ویروس دارای نوترتیبی که حاوی ژن‌هایی از دو ویروس والدی است از عفونت توامان یک سلول با دو ویروس دارای ژنوم قطعه قطعه بدست می‌آید. به منظور افزایش کارامدی rotavirus های حیوانی، ویروس‌های دارای نوترتیبی حاوی اکثر ژن-های rotavirus حیوانی (فنوتیپ ضعیف برای انسان‌ها) و ژن‌های پروتئین‌های سطحی rotavirus انسانی (ایجاد آنتی بادی خنثی کننده اختصاصی سروتیپ انسانی) جداسازی شدند. این rotavirus ها نسبت به سویه‌های حیوانی فاقد نوترتیبی کارایی به مراتب بالاتری دارند (Ellis 2004).

روشی مشابه جهت تهیه واکسن آنفلوانزا مورد استفاده قرار گرفته است که در آن از ژن‌های کدکننده گلیکوپروتئین‌های ایمونوژن سطحی (هماگلوتینین و نورآمینیداز) ویروس بیماریزای آنفلوانزای انسانی استفاده می‌گردد. سایر ژن‌ها نیز از یک ویروس تضعیف شده تامین شده و بدین ترتیب یک فنوتیپ تخفیف حدت یافته بدست می‌آید (Ellis 2004).

موتانت‌های حساس به دما

موتانت‌های ویروسی بر اساس خصوصیات رشدشان در دماهای مختلف قابل جداسازی می‌باشند. به این ویروس‌ها، حساس به دما (ts)[۱۸] (عدم قابلیت رشد در دماهای بالا) یا سازگار با سرما (ca)[۱۹] (قابلیت رشد در دماهای پایین‌تر از دمای فیزیولوژیک ۳۷ C̊ در شرایط آزمایشگاهی) گفته می‌شود. ویروس‌های ts یا ca نسبت به ویروس‌های وحشی با شدت کمتری در بدن تکثیر یافته و بنابراین بیماریزایی کمتر و فنوتیپ ضعیف شده‌ای دارند (Ellis 2004).

برای مثال واکسن سرخچه حاوی ویروس ca بطور گسترده در واکسن سه‌گانه MMR استفاده می‌شود. واکسن ca آنفلوانزا بر پایه ویروس‌های دارای نوترتیبی، اولین واکسن زنده‌ای بود که برای تجویز درون بینی تایید گردید (Ellis 2004).

ویروس‌های نوترکیب

حذف یا تغییرات خاص در ژن‌های ویروسی سبب ایجاد ویروس‌های تخفیف حدت یافته پایدارتر می‌شود که قادر به بازگشت به حالت بیماریزای خود نمی‌باشند. ویروس‌های تخفیف حدت یافته که به روش‌های کلاسیک بدست می‌آیند دارای

---

[13] Measles-Mumps-Rubella (MMR)
[14] Safety
[15] Jenner
[16] Smallpox
[17] Nonreassortant
[18] Temperature sensitive
[19] Cold adapted

موتاسیون‌های نقطه‌ای هستند و بنابراین قابلیت برگشت به حالت وحشی خود را دارند. بطور مثال در HSV[20] ژن کد کننده گلیکوپروتئین خاصی حذف گردید که باعث ایجاد ویروس نوترکیب بدون قابلیت تکثیر گردید. این سویه نوترکیب در شرایط آزمایشگاهی در خط سلولی که حاوی ژن حذف شده بصورت ترنس بود تولید شد. بنابراین ویروس حاصل قادر به ایجاد عفونت، بدون تکثیر در بدن می‌باشد (Ellis 2004).

یک روش مولکولی برای تضعیف شدت بیماریزایی، ساخت کدون‌های deoptimized با هدف کاهش تکثیر ویروس است. استفاده از این روش در ناحیه کپسید poliovirus سبب تولید ویروسی با عفونت‌زایی کمتر شد که همچنان توانایی تحریک تواید آنتی‌بادی‌های خنثی کننده که در مدل موشی محافظت‌کننده است را دارد (Ellis 2004).

وکتور ویروسی نوترکیب (rDNA) نیز در تولید واکسن‌های زنده کاربرد دارد که در آن از آنتی‌ژن‌های پلی‌پپتیدی سایر پاتوژن‌ها در وکتور استفاده می‌شود. در این واکسن‌ها آنتی‌ژن خارجی طی یک عفونت ویروس زنده، جهت تحریک سیستم ایمنی و بدنبال آن پاسخ به آنتی‌ژن عرضه می‌شود. پلی‌پپتید خارجی در سلول‌های عفونی بیان شده و جهت تحریک تولید آنتی‌بادی به سطح سلول منتقل یا با شکست به پپتیدهای سازنده و انتقال به سطح سلول پاسخ CTL را سبب می‌شوند (Ellis 2004).

DNA و RNA ویروس‌ها

پروتوتیپ وکتور ویروسی، ویروس vaccinia است که در آن ۱۲ پلی‌پپتید مختلف بیان شده است. ویروس vaccinia نوترکیب حاوی ژن gp160 ویروس HIV-1 انسانی به منظور کاربردهای درماانی و پیشگیری بطور کلینیکی مورد آزمون قرار گرفته است. با توجه به عوارض شناخته شده طی ایمنی‌زایی علیه آبله (که در افراد دارای نقص سیستم ایمنی جدی‌تر است) که در برنامه ریشه کن سازی مشاهده شده است، به منظور کاهش بیماری‌زایی ویروس vaccinia، بدون ایجاد اختلال در کارایی آن به عنوان یک وکتور ویروسی زنده مورد مهندسی قرار گرفته است. با چند صد بار پاساژ این ویروس در فیبروبلاست-های جنین جوجه، ویروس vaccinia تضعیف شده بدست می‌آید که در شرایط مهار سیستم ایمنی در مطالعات حیوانی ایمن بوده و در نتیجه در آزمایشات کلینیکی واکسن‌های نوترکیب HIV مورد استفاده قرار گرفته‌اند. دو ویروس دیگر خانواده Poxviridae، fowlpox و canarypox، به عنوان وکتورهای ویروسی زنده که بطور طبیعی تخفیف حدت یافته‌اند مورد استفاده قرار می‌گیرند که قادر به آلوده سازی سلول‌های انسانی می‌باشند اما ذره ویروسی عفونی تولید نمی‌کنند. این امر سبب می‌شود که این دو ویروس در DNA واکسن‌ها طبقه بندی شوند. ویروس‌های دیگر که بیماریزای پستانداران هستند جهت استفاده به عنوان وکتورهای زنده دستکاری شده‌اند. Adenovirus ها که بطور گسترده جهت واکسیناسیون بخش‌های نظامی برای پیشگیری بیماری‌های تنفسی حاد استفاده می‌شوند به منظور بیان پلی‌پپتیدهای خارجی، بخصوص واکسن HIV مهندسی شده اند که در مدل‌های حیوانی ایمنی محافظت کننده را بدنبال داشته است (Ellis 2004).

RNA ویروس‌ها نیز می‌توانند به عنوان وکتورهای ویروسی برای بیان پلی‌پپتیدهای خارجی مهندسی شوند. Sindbis و سایر آلفاویروس‌ها به دلیل طیف وسیع میزبانی، توانایی آلوده سازی سلول‌های غیر تکثیری و سطح بیان بالا بسیار مورد توجه هستند (Ellis 2004).

واکسن‌های غیر فعال[21] و subunit

با توجه به رویکردهای مختلف موجود، عموما تولید این نوع واکسن‌ها نسبت به واکسن‌های زنده عملی‌تر است. ایمنی‌زایی این واکسن‌ها در حضور آدجوانت یا سیستم دریافت افزایش می‌یابد. با این وجود این واکسن‌ها برای ایجاد ایمنی محافظت‌کننده طولانی مدت نیاز به دوزهای یادآور دارند (Ellis 2004).

عموما ویروس‌ها به محیط کشت سلولی آزاد می‌شوند. بنابراین، محیط فاقد سلول بدست آمده از محیط کشت عفونی حاوی مقادیر زیادی ذرات ویروسی است که به راحتی با استفاده از تکنیک‌های جداسازی قابل تخلیص می‌باشد. این امر در واکسن-

[20] Herpes Simplex Virus
[21] Inactivated vaccine

های پولیوویروس، ویروس آنفلوانزا، ویروس هاری و ویروس انسفالیت ژاپنی انجام شده است. در مورد واکسن هپاتیت A، سلول‌های عفونی لیز شده و ذرات ویروسی خالص می‌شوند. ذرات ویروسی به طریق شیمیایی (عموما تیمار با فرمالین) غیر فعال شده و سپس بر روی نمک آلومینیوم (به عنوان آدجوانت) جذب می‌گردد.

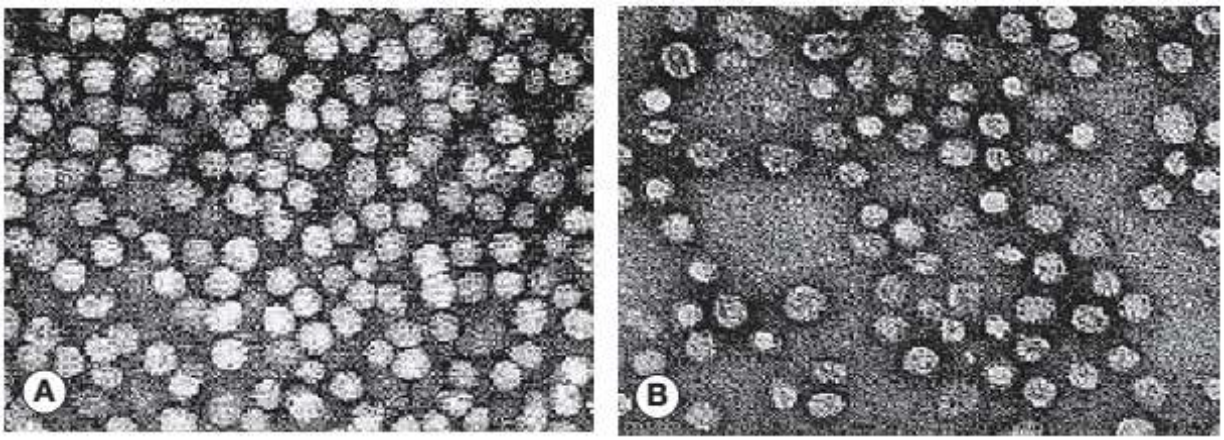
اپیتوپ‌های اصلی سطح بسیاری از ویروس‌های کوچک فاقد پوشش که سبب ایجاد پاسخ ایمنی محافظت کننده می‌شوند، اغلب کانفورمیشنال (ساختاری) هستند که از طریق گردهمایی دسته‌ای پروتئین‌های ویروسی در ساختار صحیح شکل می‌گیرند. در بسیاری از ویروس‌ها که از آنها واکسن غیر فعال تهیه شده است تولید این اپیتوپ‌ها با کانفورمیشن مشابه از طریق روش‌های دیگر مانند پلی‌پپتیدهای نوترکیب امکان پذیر نیست (Ellis 2004).

واکسن‌های پروتئینی

اولین واکسن‌های ویروسی بر پایه منابع طبیعی آنتی‌ژن تولید شدند. اولین واکسن هپاتیت B در استفاده از یک منبع انسانی (پلاسما) جهت تهیه آنتی‌ژن واکسنی منحصر به فرد است. سلول‌های کبد افراد مبتلا به هپاتیت مزمن B، پروتئین‌های سطحی اضافی ویروس را (HBsAg) به بیرون می‌ریزد. این پروتئین سطحی بصورت ذرات لیپوپروتئین ۲۲ nm همراه با اپیتوپ‌های محافظت‌کننده شناخته شده است. جهت تهیه واکسن، پلاسمای ناقلین مزمن هپاتیت B را گرفته و پس از خالص‌سازی HBsAg جهت آماده سازی نهایی به منظور کشتن HBV و سایر عوامل انسانی خارجی موجود در پلاسما تحت روش‌های غیر فعال‌سازی قرار می‌گیرد. این واکسن کارایی بالایی دارد (Ellis 2004).

ذرات ۲۲ nm HBsAg با بیان ژن مربوطه در مخمر نانوایی *Saccharomyces cerevisiae* نیز بدست می‌آیند. اما بیان این ژن در *E. coli* سبب ایجاد ذرات ویروسی نمی‌شود و تنها پلی‌پپتیدهای HBsAg تولید می‌شوند. در واقع ذرات HBsAg، ذرات شبه ویروسی (VLP)[۲۲] هستند که از نظر ساختارهای سطحی بسیار مشابه ویریون‌های HBV می‌باشند. HBsAg های بدست آمده از مخمر پس از تخلیص بر روی نمک‌های آلومینیوم قرار داده شده و به عنوان واکسنی مورد استفاده قرار می‌گیرند که از نظر کارایی و مقاومت مشابه واکسن‌های بدست آمده از پلاسما هستند (Ellis 2004).

ذرات عموما ایمونوژنیتیسیته بالاتری نسبت به پلی‌پپتیدها دارند (شکل ۱). علاوه بر این VLP سبب تولید آنتی‌بادی علیه اپیتوپ‌های کانفورمیشنال سطح ذرات (و نیز ویروس مربوطه) می‌شوند، درحالیکه پلی‌پپتیدهای سطحی استخراج شده قادر به تولید چنین آنتی‌بادی‌هایی نمی‌باشند. نمونه‌هایی از استفاده این VLP ها در تهیه واکسن HAV و نیز HPV را می‌توان اشاره نمود. پروتئین سطحی اصلی HPV، L1 است که بیان آن در *E. coli* ایجاد ذرات ویروسی نمی‌کند اما استفاده از سلول‌های یوکاریوتی در بیان این پروتئین ویروسی سبب ایجاد VLP هایی می‌شود که آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده علیه HPV تولید می‌نماید. این واکسن ایمنی محافظت‌کننده ایجاد کرده و تایید شده است (Ellis 2004).



شکل ۱: A- ذرات شبه ویروسی هپاتیت B نوترکیب. B- ذرات شبه ویروسی پاپیلوماویروس انسانی نوترکیب (Ellis 2004).

[22] Virus like particle

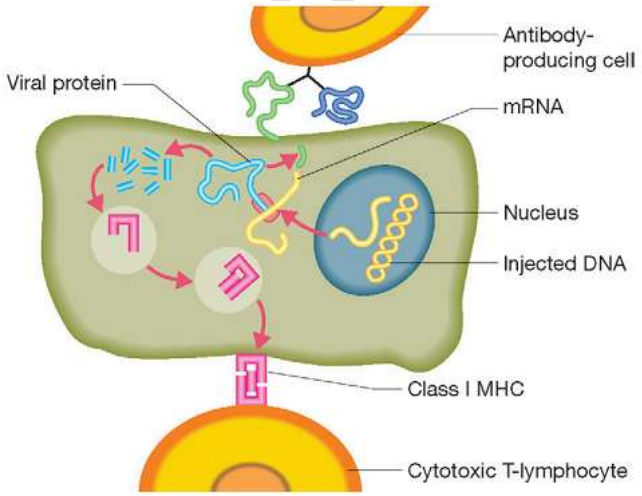
ایمونژنیتیسیته اپیتوپ‌های پپتیدی را می‌توان با الحاق ژنتیکی آنها به ذره پروتئینی حامل افزایش داد. پروتئین الحاقی به انتهای آمین، کربوکسیل یا در توالی داخلی پروتئین ناقل وارد می‌شود. بالاترین حالت ایمونژنتیسیته در حین حفظ پایداری ذره تعیین کننده ناحیه ورود اپیتوپ به ناقل است. به عنوان مثال الحاق پپتید circumsporozoite به HBsAg موقیت-هایی را در زمینه واکسن مالاریا نشان داده است که یکی از موارد کم واکسن‌های ایمونوژن مالاریای تولید شده طی دهه‌ها تلاش می‌باشد (Ellis 2004).

نوکلئیک اسید واکسن‌ها

این تکنولوژی که در آن از DNA کد کننده آنتی‌ژن واکسنی استفاده می‌گردد، از سال ۱۹۹۰ کاربرد دارد. مدل آزمایشگاهی این روش بر پایه ترنسفورماسیون سلول‌های محیط کشت با پلازمید کد کننده یک آنتی‌ژن واکسنی است. پس از دریافت DNA توسط سلول، آنتی‌ژن‌ها ترشح شده یا به سطح سلول منتقل می‌شوند که سبب تحریک پاسخ ایمنی سلولی یا هومورال می‌گردند. جذب DNA با روش‌هایی مانند فرمولاسیون شیمیایی یا تحویل با یک ویروس یا باکتری غیر تکثیری تسهیل پیدا می‌کند (Ellis 2004).

DNA برهنه

اولین استراتژی، تزریق درون عضلانی محلولی از DNA برهنه و فاقد پوشش است که آنتی‌ژن مورد نظر را کد می‌کند. سلول‌ها DNA را جذب کرده و آن را بیان می‌کنند. بدنبال فراوری آنتی‌ژن سنتز شده، پاسخ ایمنی سلولی یا هومورال ایجاد می‌گردد (شکل ۲). مزایای استفاده از DNA واکسن‌ها، تولید آسان و توانایی سنتز مستقیم کپی‌های متعددی از mRNA است. بنابراین سبب افزایش سنتز آنتی‌ژن و پاسخ‌های ایمنی می‌گردد. مطالعات پیش کلینیکی نیز نشان داده اند که این واکسن‌ها سبب القای آنتی بادی‌های ضد DNA نمی‌شوند. علاوه بر این فراوانی الحاق DNA به درون کروموزوم قابل شناسایی نبوده و کمتر از سرعت الحاق خودبخودی تخمین زده شد (Ellis 2004).



شکل ۲: تزریق DNA کد کننده پروتئین خارجی که قادر به تولید آنتی‌بادی و لنفوسیت‌های T سایتوتوکسیک می‌باشند (Ellis 2004).

DNA تسهیل شده

فرمولاسیون

تسهیل‌سازی می‌تواند در سطح جذب سلولی DNA، بیان mRNA یا فعال‌سازی ایمونولوژیکی باشد. DNA بر روی ریز پرتابه-هایی[۲۳] قرار داده شده و به درون سلول تزریق می‌شوند. DNA را می‌توان بر روی ریز ذرات طلا قرار داده و بصورت پودر خشک با استفاده از یک دستگاه فاقد سوزن به پوست وارد کرد. مانند واکسن هپاتیت B که ایمونوژن بودن آن نشان داده شده

[23] Microprojectile

است. استفاده از DNA پوشیده شده با لیپیدهای کاتیونی، لیپواسپرمین‌ها یا سایر مولکول‌هایی که بار آن را خنثی کرده و علاوه بر این به دلیل وجود گروه‌های لیپیدی سبب تسهیل انتقال از عرض غشا می‌شوند در افزایش جذب DNA موثر خواهد بود (Ellis 2004).

ترکیب

ترکیب پایه DNA می‌تواند توانایی آن را تحت تاثیر قرار دهد. نشان داده شده است که دی‌نوکلئوتیدهای CpG سبب القای تکثیر سلول‌های B و ترشح ایمونوگلوبولین‌ها می‌گردند (Ellis 2004).

وکتورهای ویروسی

یکی از روش‌های طراحی پلازمید بیانی، استفاده از یک سیستم بیان ویروسی است که قادر به افزایش سطح RNA و بیان پروتئین مانند عفونت ویروس زنده می‌باشد. مشابه این فرایند بر پایه DNA وکتورهای ویروس Sindbis توسعه یافته است. علاوه بر این می‌توان از یک RNA خود تکثیر کدکننده آنتی‌ژن توموری به عنوان نوکلئیک اسید واکسن نیز استفاده نمود. بنابراین هم RNA ویروس‌ها و هم DNA ویروس‌ها در واکسن‌هایی بر پایه نوکلئیک اسید به عنوان وکتور ویروسی کاربرد دارند (Ellis 2004).

منابع

Eldred, B. E., A. J. Dean, et al. (2006). "Vaccine components and constituents: responding to consumer concerns." Medical Journal of Australia **184**(4): 170.

Ellis, R. (2004). "Technologies for making new vaccines." Vaccines. 4th ed. Philadelphia, Pa: Elsevier Saunders: 1177-1197.

Francis, J., L. Wilcock, et al. (2004). Adjuvants in allergy immunotherapy; comparison of in vitro responses to old and new adjuvants. CLINICAL AND EXPERIMENTAL ALLERGY, BLACKWELL PUBLISHING LTD 9600 GARSINGTON RD, OXFORD OX42 DG, OXON, ENGLAND.

Mastelic, B., S. Ahmed, et al. (2010). "Mode of action of adjuvants: implications for vaccine safety and design." Biologicals **38**(5): 594-601.

Mbow, M. L., E. De Gregorio, et al. (2010). "New adjuvants for human vaccines." Current opinion in immunology **22**(3): 411-416.

Plotkin, O., W. A. Orenstein, et al. (2008). Offit. Vaccines, Saunders Elsevier.

Rashid, A., K. Rasheed, et al. (2009). "Factors influencing vaccine efficacy-A general review." J. Anim. Pl. Sci **19**(1): 22-25.

Siegrist, C.-A. (2008). "Vaccine immunology." Vaccines. Saunders.

Ulevitch, R. J. (2004). "Therapeutics targeting the innate immune system." Nat Rev Immunol **4**(7): 512-520.