

## VAKCINAGYÁRTÁS

A fertőző betegségek (bakteriális vagy vírusos) elleni immunvédekezésben részt vevő fehérjék előállítás.

Passzív immunizálás	Aktív immunizálás
antitest (antitoxin) bevitele	antigén bevitele
idegen sejtek termelik az antitesteket	a szervezet maga termeli az antitesteket
terápia/gyógykezelés – fennálló betegség esetén	profilaxis/megelőzés – jövőbeli betegség ellen



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

1

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## PASSZÍV IMMUNIZÁLÁS

Az antitesteket régebben csak vérből lehetett kivonni. A kórokozóval (lehet vírus, attenuált, csak antigén) állatokat fertőztek meg. Egy-két hét múlva a vérben megjelennek az antitestek. A vért levéve izolálható belőle az immunglobulin frakció. Kapacitása korlátozott, emberben kóros immunválaszt válthat ki, és állatvédelem miatt csak laborban.

Emberi donorvérből is kinyerhető az antitest frakció (anti-Rh+D, tetanusz, Covid plazmaterápia, Id. Vérkészítmények).



Fig. 4. A kórokozóval fertőzött állatból a vérben megjelenő antitestek izolálása. A képen látható a kórokozóval fertőzött állatból a vérben megjelenő antitestek izolálása.

2



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## VAKCINAGYÁRTÁS

Év	Esemény
1796	vakcinázás tehénhimlő oltással feketehimlő ellen (Jenner)
1879	Élő attenuált bakteriális vakcina (csirke kolera ellen)
1884	Agyszövetben tenyésztett élő attenuált vírus vakcina (veszettség ellen)
1897	Lószérumból készült vakcina (bubópestis ellen)
1918	Teljes sejtet inaktivált bakteriális vakcina (szamárköhögés/pertussis ellen)
1923	Inaktivált bakteriális toxin (=toxoid) vakcina (torokgyilk/diftéria ellen)
1931	Az első jóváhagyott fagyaszta száritott vakcina (himlő ellen)
1949	Kombinált vakcina (diftéria, tetanusz, teljes sejtet pertussis = DiPerTe)
1949	Enders féle, nem neurális emberi sejtekkel in vitro termelt vírusvakcina (gyermekbénulás/poliomielitis ellen)
1954	Collier javította a himlő vakcina fagyaszta száritását (szállíthatóvá vált)
1955	Inaktivált vírus vakcina előállítás in vitro elsődleges majom vesesejteken (gyermekbénulás ellen)
1962	Emberi diploid sejtvonallal (WI-38) létrehozása (Hayflick)
1977	Az utolsó himlő eset laboratóriumon kívül
1986	Élesztőben előállított rekombináns vírusszerű részecske (VLP) vakcina (hepatitis B)
1987	Konjugált poliszacharid-fehérje vakcina (Haemophilus influenzae b)
1998	Nagy tisztaságú vakcinák előállítása (hepatitis A)
2005	plazmid DNS vakcina (nyugat-nílusi láz)
2020	RNS vakcina (Covid-19)




---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## VAKCINAGYÁRTÁS

Az immunválaszt kiváltó anyag jellege szerint a vakcina lehet:

1. Élő, attenuált (legyengített, már nem virulens) kórokozó
2. Elölt, inaktivált kórokozó. Nem szaporodó, nem fertőzőképes, de fehérjei immunogének maradtak.
3. Alegység- (subunit) vakcina: az egész kórokozó helyett csak egy-két jellegzetes immunogén fehérjét viszünk be.
4. Toxoidok (inaktivált toxinok)
5. Poliszacharid és konjugált vakcinák: (részben) szénhidrátok alkotják az epitópot
6. Nukleinsav vakcinák



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

4

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## Élő, attenuált kórokozó

Attenuált: legyengített, már nem virulens kórokozó

A kórokozó élő, szaporodóképes, de laboratóriumban legyengített, azaz betegséget nem okozó változatát tartalmazzák.

Veszély: reverzió patogénné

Baktérium: pl. BCG = bacille Calmette Guérin, a *Mycobacterium bovis* avirulens, immunogén törzse, 14 éves tenyésztés után

Vírusok: MMR = mumpsz, kanyaró, rubeola kombinált oltás



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

5

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## Elölt, inaktivált kórokozó

A kórokozó tenyészetét vegyi anyagokkal (formaldehid, etilénimin), hővel vagy sugárzással elpusztítják, de az anyag immunogén tulajdonsága megmarad.

A DNS-t kell inaktiválni, úgy, hogy a fehérjék ne változzanak.

Nem szaporodik, nem fertőzőképes, de fehérjei immunogének maradtak.

Veszély: maradhat túlélő patogén a vakcinában.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

6

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Alegység vakcinák

Alegység- (subunit) vakcina: a teljes kórokozó helyett annak csak egy jellegzetes, erőteljes immunreakciót kiváltó fehérjéjét, egy epitópját állítják elő és adják be a megvédendő személynek. Biztonságosabb.

Baktériumoknál: acelluláris (sejtet nem tartalmazó) pertussis (szamárköhögés) vakcinát, amely a *B. pertussis* sejteknek csak egyes izolált és tisztított összetevőit tartalmazta.

Vírusoknál: rekombináns fehérje vakcina, a vírusnak egy tokfehérjéjét termeltetik meg egy ártalmatlan gazdaszervezettel.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

7

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Toxin - Toxoid

Egyes fertőzéseknél nem a baktérium sejtek jelenléte veszélyes, hanem az általuk termelt toxinok.

- Clostridium tetani* – „merevgörcs”
- Clostridium botulinum* – izombénulás
- Corynebacterium diphtheriae* – „torokgyík”



A toxinok (glikozilált) fehérjék, ezek ellen is termel a szervezet antitesteket. Az ellenanyagtermelés kiváltható **inaktívált toxin = toxoid** beadásával – aktív immunizálás.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

8

---

---

---

---

---

---

---

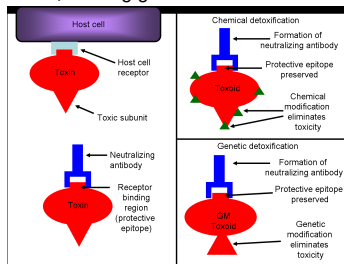
---

---

---

### TOXIN - TOXOID

A toxin inaktiválása kiváltható kémiai reakcióval (formaldehid), vagy hőkezeléssel, esetleg genetikai módosítással.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

9

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Poliszacharid vakcinák

A fertőző baktériumok külső felszínén, a sejtfalhoz kötve található poliszacharidok is lehetnek epitópok – alegység vakcinaként alkalmazhatók.

Önmagukban gyenge immunreakciót váltanak ki, ezért a poliszacharidhoz egy fehérje antigént csatoltak = konjugált vakcinák.

*Haemophilus influenzae* kisgyermekéknél.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

10

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Nukleinsav vakcinák

A nem magát az antigén fehérjét visszük be a megvédendő szervezetbe, hanem az azt kódoló genetikai anyagot. A szervezet saját sejtjei ennek alapján maguk állítják elő az antigént.

A **DNS vakcinák** a természetben megtalálható plazmidok genetikai átalakításával jönnek létre. Ezeket vektorként használjuk. Vakcinaként az immunválaszt kiváltó epitóp fehérje génjét építjük be, és ezt bejuttatva átíródik a testi sejtekben.

**mRNS vakcinák.** Előnye a DNS-hez képest, hogy a fehérje legyártásában a két lépés (transzkripció, transláció) közül csak a másodikat kell végrehajtani. A molekula gyorsan (1-2 nap alatt) elbomlik, nem marad a sejtben.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

11

---

---

---

---

---

---

---

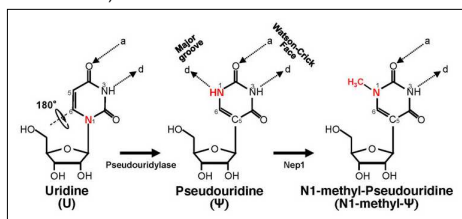
---

---

---

### mRNS vakcinák

A nukleinsavak bevitelének megvan az a hátránya, hogy aktiválják a veleszületett (innate) immunrendszert (gyulladás). Ez elmarad, ha az uridin helyett módosított bázisokat építenek be (Karikó Katalin):



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

12

---

---

---

---

---

---


---

---

---

---

# TECHNOLÓGIÁK



13  
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---

---

---

---


---

## Bakteriális vakcinák gyártása

Baktériumok: attenuált törzsek, vagy utólagos inaktiválásra kerülő patogének szaporítása.

Klasszikus, szakaszos baktérium fermentáció. A feldolgozásnál a sejtömegre van szükség. A fermentációk és a fermentorok gyakorlatilag azonosak az ipar más területein használatosakkal.

Veszély: a virulens törzseknél a teljes zártást (containment) fenn kell tartani a teljes technológiai láncban, térben és időben a fermentáció indításától az inaktiválás hatásosságának bizonyításáig.



14  
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---

---

---

---

---

## Kolera vakcina üzem




15  
Tanszék

---

---

---

---

---

---

---

---

### Vírusvakcinák gyártása

Akár élő attenuált, akár inaktivált vírusokból készítünk vakcinát, mindenképpen szükséges a vírusok szaporítása. A vírusok táptalajon nem szaporíthatók, mivel abszolút paraziták, szükségük van egy gazdaszervezet funkcióira és anyagaira.

Szaporíthatók:

- Élő állatokban (csak laboratóriumi módszer)
- (Csirke)embrióban = előkeltetett tojásban
- Állati sejttenyészetben



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

16

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Vakcinagyártás tojásban

A vírusok csak élőlényekben, vagy élő szövetekben szaporíthatók. Nagy áttörés volt, amikor felfedezték, hogy számos emberi és állati patogén vírus jól szaporítható csirkeembrióban is.

A szaporításhoz steril (SPF) tojást használnak (~tízszeres ár)

- A tojást előkeltetik (5-10 nap)
  - Megfűrik, beoltják vírussal
  - 2-4 napig marad a keltetőben
  - Leszívják a vírustartalmú levet
- Az influenza oltóanyag előállításához sokat használnak



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

17

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



LIFE

18

---

---

---

---

---

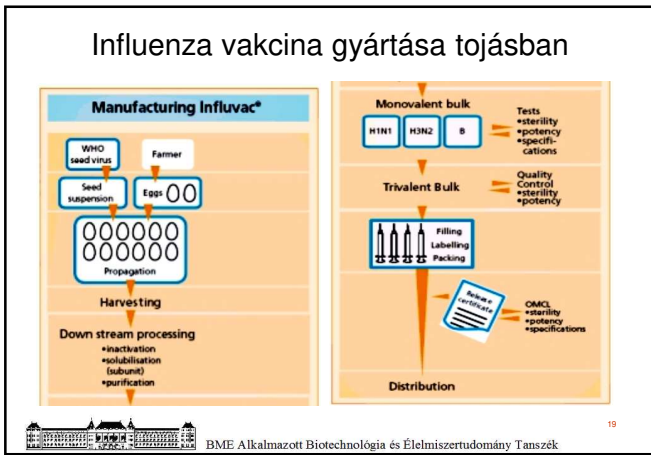
---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Vírusszaporítás állatisejt-tenyészetben

Két szakasz:

1. Sejtszaporítás (korábbi előadásban)
2. Vírus szaporítás. A vírus lehet attenuált, vagy virulens, ez esetben inaktíválásra kerül.  
Az infekció számára optimális körülmények beállítása (nem mindig azonos a sejtszaporítással)  
Vírus ráoltása: ~1-2 vírus/sejt → egy vírus-generációt várunk ki.  
A sejtek nagy része szétesett → sejttörmelék elválasztása, szűrés, centrifugálás (még fertőző! containment!)

Az attenuált vírusoknál maga a vírus a termék.

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 20

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Vírusszaporítás állatisejt-tenyészetben

A több lépésben elszaporított sejtenyészetre (lehet kitapadó vagy szuszpenziós) visszük rá az élő vírustenyészetet.

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 21

---

---

---

---

---

---

---

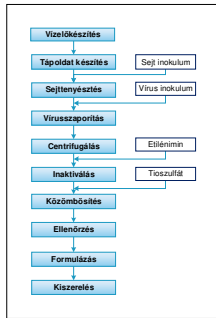
---

---

---

### Inaktivált vírusvakcinák gyártása

A DNS-t kell inaktiválni, a fehérjét megkímélni → alkilezőszerekkel (etilénimin, bis-etilénimin → rákkeltők)  
 Reakcióidő: 2-24 h  
 A felesleget Na-tioszulfáttal elbontják.  
 Ellenőrzik, hogy nem maradt-e benne még élő vírus.  
 Ezalatt +4 °C-on tárolják (1-2 hét).  
 A negatív eredmény után lehet a tételt felszabadítani.




---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Alegység vakcinák

- Rekombináns fehérjeként állítják elő. A K+F lépései:
1. Izolálni, esetleg szintetizálni az antigén fehérjét kódoló gént.
  2. Génmanipulációval bevinni egy jól kezelhető gazdaszervezetbe, expresszálni.
  3. Fermentációval előállítani a fehérjét.
  4. Feldolgozás: extracelluláris ↔ intracelluláris esetben
    - kíméletes sejtválasztás
    - zárványtest esetén: sejtfeltárás, szolubilizálás, folding
    - tisztítási lépések




---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Esettanulmány: hepatitis B vakcina

HBV - hepatitis B vírus - hatására a májsejtek pusztulnak, májgyulladás, elégtelenség, sárgaság, akut vagy krónikus májzsugor, esetleg carcinoma.  
 Világszinten a lakosság 5%-a fertőzött ~ 350 millió ember  
 Fertőzés átvitele: vérrel, tüllel, szexuális úton  
 Lappangási idő: 1,5 – 3 hónap, ezalatt is vírusgazda  
 A vírus egységek a májsejtekben szintetizálódnak, a májsejtek szétesésével a vérbe kerülnek. A betegek véréből kimutatható sőt izolálható – ez volt az első vakcina → korlátozott mennyiség és veszélyes (vírusátvitel: HBV, és HIV is!)




---

---

---

---

---

---

---

---

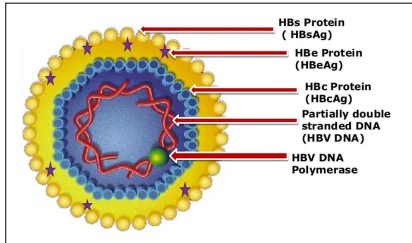
---

---



### HEPATITIS B VAKCINA

HBV – hepatitis B vírus – 42 nm-es, háromféle antigénje van:  
 s – surface (felületi),  
 e – endo (belső),  
 c – core („mag”)  
 + a DNS és a  
 DNS-polimeráz



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

25

---

---

---

---

---

---

---

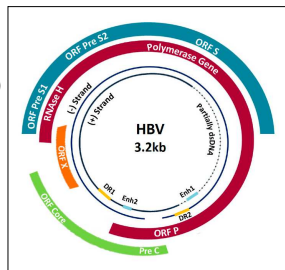
---

---

---

### HEPATITIS B VAKCINA

A HBV DNS két szála nem egyforma hosszú: a - szál (kodogén) ~3200 nukleotid, a + szál ennek csak 55-75%-a.  
 A HBsAg fehérje 226 aminosav, lipoprotein, ezt klónozták.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

26

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### HEPATITIS B VAKCINA

A felületi antigén génjét először *E. coli* plazmidba klónozták, termelte is, de:  
 - nem glikozilált forma  
 - nem alakult ki az aktív folding

Bevitték

- élesztőbe (intracelluláris, glikozilált)
- emlős sejtbe (extracelluláris, glikozilált)

Mindkettő forgalomban van, az élesztős technológia olcsóbb és biztonságosabb (nincsenek onkogének, vírusok)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

27

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## HEPATITIS B VAKCINA

Az élesztőbe bevitt ingázó vektor (kettős plazmid) szerkezete:

**Kétféle marker gén:**  
 - ampicillin rezisztencia  
 - leucin-2 gén (az élesztő Leu<sup>r</sup> mutáns)

**Expressziós kazetta:**  
 - konstitutív promóter  
 - az S fehérje génje  
 - terminátor

**Két replikációs origó:**  
 - egyik a coliban, a másik az élesztőben működik

28

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## HEPATITIS B VAKCINA

**Technológia:** kétszakaszos fermentáció  
**Szaporítás:** Leu-mentes tápoldaton → nagyobb plazmidtartalom  
**Termelés:** komplex tápoldaton

**Feldolgozás:**  
 Centrifugálás vagy mikroszűrés  
 Sejtfeltárás (nagynyomású homogenizátorral)  
 Mikroszűrés (sejttörmelék eltávolítása)  
 Ultraszűrés (koncentráció és a kis molekulák eltávolítása)  
 Adsorpció szilikagélén (Aerosil), elúció borát pufferrel  
 Hidrofób kromatográfia (butil-agaróz tölteten)  
 Diszulfid hidak kialakítása K-tiocianáttal  
 Adjuválás, konzerválás →

29

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## HEPATITIS B VAKCINA

A termék vizsgálata:

- Fehérje tisztaság: max 1-5% HCP (host cell protein),
- Azonosítás: MAB (immunanalitika)
- DNS tartalom: max 10 pikogram/l
- Hatékonyság: állatokban (egér, tengerimalac)
- Pirogének: LAL teszt
- Mikrobiális tisztaság
- Stabilitás: 2-3 év +4 fokon

30

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## Adjuválás

Adjuvat – segíteni (→ adjuváns, adjunktus)

Olyan, önmagukban nem immunogén anyagok, amelyek a felületükön megkötik az oltóanyag fehérjét és ezzel erősebb/ tartósabb immunválaszt váltanak ki (2-3-szoros növekedés!).

Típusaik:

Szilárd: alumínium-hidroxid és -foszfát kolloid szemcsék

Folyadék: ásványi és növényi olajok, + emulzió-stabilizátorok (emulzió képzés: nagynyomású homogenizátorral)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

31

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## Adjuválás

PRODUCT	ACTIVE COMPONENT	HUMAN VETERINARY EXP. IMM.		
<b>MINERAL ADJUVANTS</b>				
Alhydrogel 1.3%	aluminium hydroxide	+	+	+
Alhydrogel 2.0%	aluminium hydroxide	+	+	+
Alhydrogel "85"	aluminium hydroxide	+	+	+
<hr/>				
Adu-Phos 2%	aluminium phosphate	+	+	+
<hr/>				
Calcium phosphate adjuvant	calcium phosphate	+	+	+
<b>SAPONIN ADJUVANTS</b>				
Quil-A saponin adjuvant	triterpenoid glycoside	-	+	+
<b>OIL EMULSION ADJUVANTS</b>				
Freund's incomplete adjuvant	Mineral oil + emulsifier	-	+	+
<hr/>				
Freund's complete adjuvant	Mineral oil + emulsifier + M tuberculosis	-	-	+



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

32

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

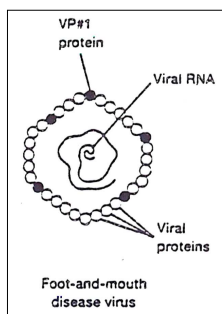
## Rekombináns fehérje vakcina : SZKF

SZKF = száj- és körömfájás vírus, kérődzőkre patogén

RNS vírus (reverz transzkriptáz)

Alegység (subunit) vakcina

Az első rek vakcina az állategészségügyben.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

33

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### SZKF vakcina

Az SZKF burokfehérje gén klónozása *E. coli* plazmidba:

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 34

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### SZKF vakcina

Az SZKF burokfehérje gén klónozása *E. coli*-ba:  
 Kifejeződik, de intracelluláris, és zárványtestet képez →

- Sejteltérés
- Szolubilizálás
- Folding

után jöhet csak a szokásos tisztítás, feldolgozás

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 35

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Konjugált vakcinák gyártása

A konjugált vakcinák két egységét külön állítják elő.

A kapszuláris poliszacharidot a patogén törzs (*Haemophilus influenzae*) fermentációjával állítják elő.

A poliszacharidokat az ionerősség növelésével leválasztják a sejtörmelékről.

A fehérjerészt külön fermentációval termelik, vagy tetanusz toxoid, vagy hasonló rekombináns fehérje (P16) *E. coli*-val. Intracelluláris, sejteltérés kell.

A szénhidrát és fehérje egységeket kémiai reakcióval, pl. karbo-diimmiddel kapcsolják össze.

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 36

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Nukleinsav vakcinák

A DNS- és az RNS-vakcinák sejten belüli útvonala különbözik. Az elején és a végén vannak közös lépések, a sejtbe való belépés és a riboszomális fehérjeszintézis, valamint a termelt antigén bemutatása a sejt felszínén azonos. De a DNS-nek be kell lépnie sejtmag membránon, át kell íródnia a mRNS-re, ennek vissza kell térnie a citoplazmába, és csak ezután megy végbe a transzláció. Eközben a DNS ki van téve a sejt nukleáz enzimeinek. Kockázat: az idegen DNS beépül a gazda genomba, megzavarva annak működését.

Az RNS molekuláknál ezek a gondok nem jelentkeznek, emiatt sok fejlesztés indult meg a profilaxis (vakcinák) és terápia (tumorellenes szerek) területén.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

37

---

---

---

---

---

---

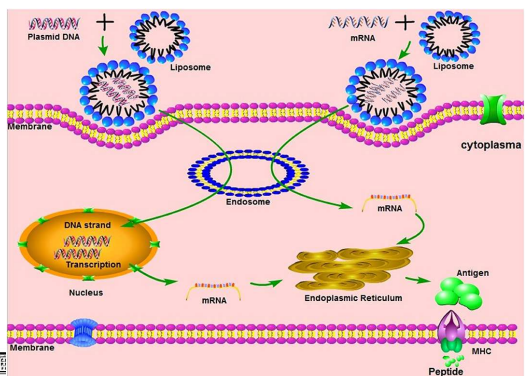
---

---

---

---

### Nukleinsav vakcinák



38

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### DNS vakcinák

A DNS-vakcinák lényegében DNS-alapú ingázó vektorok, amelyek a gazdasejt helyett közvetlenül az emberi szervezetbe viszik be és expresszálják az antigén fehérjét. A vektorba az antigén mellett más immunmodulátorok génjét is be lehet építeni. Ezeket a plazmidokat baktériumokban (pl. *E. coli*-ban) termelik, kinyerik és tisztítják. A kör alakú kettős szálú DNS plazmidok alkalmasak a vakcinázásra.

DNS-vakcinákat is adjuválják. A „csupas” DNS nem működik.

A plazmid DNS stabil, hűtés nélkül is tárolható.

A nukleáz enzimek miatt igen rossz határfokkal jutnak el a sejtmagig (~0,1%)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

39

---

---

---

---

---

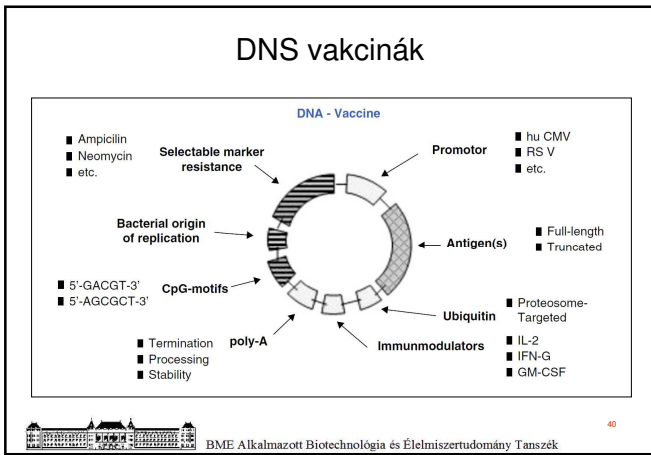
---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### mRNS vakcinák

Az RNS vakcináknak két fő típusa létezik, a (passzív) mRNS és az önmagát amplifikáló RNS (saRNS) vakcinák.

**Passzív mRNS vakcina**  
 A hagyományos vagy passzív mRNS-vakcinák egy genetikai egységet tartalmaznak, a célantigén mRNS-ét. A mRNS egy-két nap alatt elbomlik, így nem marad a szervezetben.

**Önreprodukáló mRNS vakcina**  
 Az RNS reverz transzkriptázzal sokszorozódik, a sok molekuláról sok fehérje szintetizálódik.

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 41

---

---

---

---

---

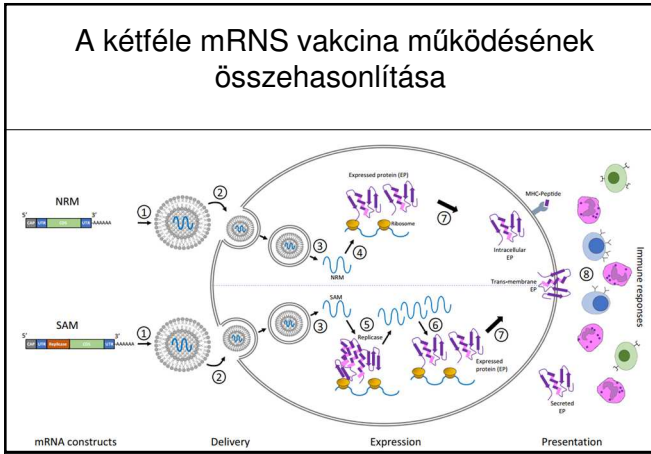
---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## Passzív mRNS vakcina

Az epitóp fehérje mRNS-ét (egyszálú) viszik be a szervezetbe. (COVID: a tüskefehérje mRNS-e)

Gyártás: szintézissel (nincs sejt, fermentáció, csak enzimek)

Lipid nanorészecskékbe csomagolják, ez beoldódik a sejtmembránba és így bejut a citoplazmába.

A kóbor mRNS eljut a riboszómára és beindul a fehérje termelése. Ez kijut a sejtből és beindítja az immunválaszt.

A mRNS max két nap alatt elbomlik, és nem marad a szervezetben. A fehérje termelés is leáll.

Célszerű megismételni, a második immunválasz mindig erősebb, mint az első.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

43

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## Önreprodukáló mRNS vakcina

A mRNS gyors elbomlása miatt alkalmazzák az önreprodukáló RNS vakcinákat. Ehhez RNS vírusokat alakítanak át. A replikáz egységet megtartják (ez tartalmazza a reverz transzkriptáz enzimet is) és a tokfehérjék génjének helyére illesztik be az epitóp génjét.

Az RNS szerelvény sok példányban legyártja önmagát, RNS-t is, és fehérjét is termel. De az epitóp fehérjék nem tudnak tokká összeállni, nem alakul ki új vírus.

A tok nélküli RNS a sejten kívül életképtelen, de az új RNS-ről további fehérjék szintetizálódnak.

A tokfehérjék helyett keletkező epitóp fehérje viszont kiváltja az immunválaszt.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

44

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## Az RNS vakcinák gyártása

Mindkét RNS vakcina típus gyártási technológiája azonos lépésekből áll.

1. A folyamat első lépése az mRNS vakcinát sablonként kódoló linearizált plazmid DNS előállítás. A molekula végére egy természetes vagy analóg szintetikus sapkaszerkezetet kapcsolnak. A lánc másik végére poli(A) terminátort építenek.
2. A szintetizált plazmidot *E. coli* fermentációval szaporítják el. A sejteltérés után a tisztítatlan pDNS tartalmazza a baktérium genom DNS nyomait és a pDNS három formáját (szuper tekercselt, relaxált kör és lineáris) is, ezek szét kell választani.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

45

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Az mRNS vakcinák gyártása

The diagram shows an mRNA molecule with the following components and callouts:

- 1 5' Cap:** The efficiency of capping and the cap structure impact innate sensing and protein production.
- 2 UTR's:** translational efficiency is regulated by their length, structures and regulatory elements.
- 3 CDS (Coding Sequence):** Modification of sequence, such as codon optimization, have contributed to improved expression.
- 4 3' Poly-A-tail:** properties such as length, are important for translation and protection of the mRNA molecule.
- 5 Purity:** removal of impurities reduces innate sensing promoting expression.

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Az mRNS vakcinák gyártása

- A harmadik lépésben a linearizált pDNS-templátot, rekombináns RNS-polimerázt (T7, T3 vagy SP6) és nukleozidtrifoszfátokat tartalmazó oldatban írják át RNS-re (37 °C, 2-4 óra).
- Ezután a szennyező baktérium-DNS-t, és a pDNS-templátot DNáz enzim segítségével eleméztik (37 °C, 0,5 óra).
- A reakcióelegy azonban szennyező RNS fajtákat tartalmaz, rövidebb és hosszabb transzkriptumokat. Ezeket méret szerinti elválasztással, ultraszűréssel és/vagy kromatográfiával különítik el.

47

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Az mRNS vakcinák formulázása

A tiszta RNS trehalózzal liofilizálva 20 °C-on stabil egy évig is. Ez viszont nagyon rossz hatásfokkal jut be a sejtbe. Detergenssel lipid nanorészecskébe formulázva viszont könnyen összeolvad a citoplazmamembránnal, belép a sejtbe. Ez a forma viszont nagyon bomlékony, egyes gyártmányokat -70-75 °C-on kell tárolni.

The diagram illustrates the process: 'Naked mRNA' (represented by a red squiggly line) and a 'Lipid nanoparticle (LNP)' (represented by a blue circular structure) combine to form an 'LNP encapsulated mRNA vaccine'.

48

Tanszék

---

---

---

---

---

---

---




---

---

---



### A SARS-Covid-19 vakcinák összehasonlítása

 mRNA	Pfizer/ BioNTech Moderna	A sejtekbe bejutó mRNS hatására a sejteink termelni kezdik a SARS-CoV-2 vírus tüskefehérjét, ami immunválaszt vált ki
 Viral vector	Oxford/ AstraZeneca Sputnik V Johnson & Johnson	Adenovírus vektor A sejtekbe bejutó, ártalmatlan adenovírus tartalmazza a SARS-CoV-2 vírus tüskefehérjét kódoló gént, ami átíródva elindítja a tüskefehérje termelődését – ez váltja ki az immunválaszt
 Inactivated	Sinopharm	Inaktivált vírus Inaktivált (azaz nem fertőző-képes) SARS-CoV-2 vírus – megbetegedést nem okoz, de kiváltja az immunválaszt

49

---

---

---

---

---

---

---

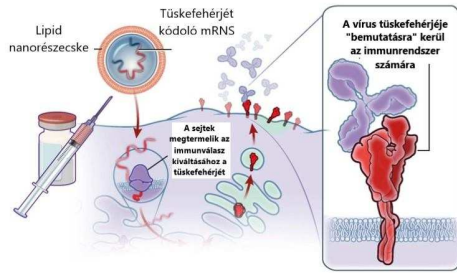
---

---

---

### Az mRNS vakcina működése

A Karikó Katalin és munkatársai által kifejlesztett, a Pfizer-BioNTech által gyártott mRNS vakcina nukleotid analógokat tartalmaz, így nem aktiválja a veleszületett immunrendszert.



50

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---